Réseaux d'interactions, biodiversité et services éco-systémiques en milieu agricole : que nous apprennent les coléoptères carabiques ?

Stefaniya Kamenova

▶ **To cite this version:**

Stefaniya Kamenova. Réseaux d'interactions, biodiversité et services éco-systémiques en milieu agricole : que nous apprennent les coléoptères carabiques ?. Biodiversité et Ecologie. Université de Poitiers, 2013. Français. NNT : . tel-01076147

HAL Id: tel-01076147
https://theses.hal.science/tel-01076147

Submitted on 13 Feb 2020

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

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

THESE

Pour l'obtention du grade de
DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE POITIERS
UFR des Sciences Fondamentales et Appliquées
Centre d'Etudes Biologiques de Chizé – CEBC
Institut de Génétique, Environnement et Protection des Plantes - IGEPP
(Diplôme National - Arrêté du 7 août 2006)

École doctorale : Sciences pour l'Environnement - Gay Lussac
Secteur de recherche : Biologie de l'Environnement, des Populations, Ecologie

Présentée par:
Stefaniya KAMENOVA

Réseaux d'interactions, biodiversité et services éco-systémiques en milieu agricole : que nous apprennent les coléoptères carabiques ?

Directeur de thèse : Vincent Bretagnolle
Co-directeur : Manuel Plantegenest

Soutenue le 13 décembre 2013 devant la Commission d'Examen

François Pompanon	Maître de conférences-Université de Grenoble	Rapporteur
Philippe Tixier	Chercheur-CIRAD	Rapporteur
David Bohan	Directeur de recherche-INRA	Examinateur
Pierre Franck	Chargé de recherche-INRA	Examinateur
Frédéric Grandjean	Professeur-Université de Poitiers	Examinateur
Anne Le Ralec	Professeur-Agrocampus Ouest Rennes	Examinateur
Bertrand Gauffre	Chargé de recherche-INRA	Co-directeur
Manuel Plantegenest	Professeur-Agrocampus Ouest Rennes	Co-Directeur

Table des matières

REMERCIEMENTS

INTRODUCTION ET PROBLÉMATIQUE 1
1) Le contexte général de l'agriculture moderne 1
1.1) Vers un nouveau paradigme de l'agriculture 2
1.2) Biodiversité et services éco-systémiques en milieu agricole 3
1.3) Le contrôle biologique : la biodiversité pour la protection des cultures 7
2) Ecologie des communautés et mécanismes à l'origine de la biodiversité 9
2.1) Concepts théoriques 9
2.2) Des concepts à l'application: les apports de l'écologie des communautés à la gestion des espaces agricoles 10
3) De nouveaux outils pour l'étude de la biodiversité : barcoding et nouvelles technologies de séquençage haut-débit 12
3.1) Barcoding moléculaire ou 15 000 taxonomistes à perpétuité pour décrire la biodiversité? 12
3.2) Extension de la définition de barcoding: métabarcoding 14
4) Modèle d'étude : la communauté des coléoptères carabiques en milieu agricole 17
4.1) Présentation générale et bilan des connaissances 17
4.2) Comportement alimentaire et potentiel de régulation 23
4.3) Coexistence et interactions interspécifiques 23
5) Objectifs de la thèse et démarche générale 25

CHAPITRE 1 : Mise au point méthodologique pour la caractérisation moléculaire du régime alimentaire des coléoptères carabiques par séquençage haut-débit 27
1) Présentation générale des méthodes pour l'étude du régime alimentaire en écologie 27
1.1) Les méthodes classiques 27
1.2) Les méthodes moléculaires 28
2) Problématique générale et démarche méthodologique 33
2.1) Matériel & Méthode 33
2.2) Résultats 40
2.3) Discussion & Perspectives 47
3) ARTICLE: Molecular high-throughput characterization of plant consumption in insect generalist predators 53

4) Annexe Chapitre 1 80

CHAPITRE 2 : Etude des relations trophiques et des mécanismes de coexistence chez les coléoptères carabiques : une approche isotopique 89
1) Les isotopes stables : trente ans au service des écologistes 89
1.1) Présentation et intérêt général de la technique 89
1.2) Principes de base et sources de variations 90
1.3) Mises en gardes méthodologiques 92
2) Questions de recherche et stratégie d'analyse 93
2.1) Problématique de recherche 93
2.2) Problématique méthodologique 94
3) ARTICLE: Resource overlapping and resource partitioning in carabid beetles, a community-scale stable isotope analysis 102
4) Conclusion générale 122
5) Annexe Chapitre 2 123

CHAPITRE 3 : Aspects comportementaux de la différentiation de niche et mécanismes de coexistence chez les coléoptères carabiques 126
1) ARTICLE: Behavioral-driven micro-scale niche differentiation in carabid beetles (Coleoptera: Carabidae) 127
2) Conclusion générale 147

CHAPITRE 4 : Caractérisation moléculaire haut-débit du régime alimentaire des coléoptères carabiques en milieu agricole 148
1) Introduction 148
2) Matériel & Méthode 149
2.1) Evaluation *in silico* des amorces métabarcoding 149
2.2) Echantillonnage 149
2.3) Choix des individus 150
2.4) Constitution de la base de référence 150
2.5) Séquençage haut-débit 151
2.6) Analyses 153
3) Résultats 153
3.1) Evaluation *in silico* des amorces métabarcoding 153
3.2) Echantillonnage et choix des individus 154
3.3) Constitution de la base de référence 155
3.4) Séquençage 158

4) Discussion 165
5) Annexe 1 Chapitre 4: Evaluation par PCR *in* silico des amorces universelles COI et 16S 167
6) Annexe 2 Chapitre 4: Identification taxonomique des spécimens séquencés pour la base de référence barcoding locale. 171

DISCUSSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES 181
1) Bilan des résultats produits dans le cadre de cette thèse 181
2) Discussion: données de la littérature et perspectives..... 184
2.1) Questions de recherche 184
2.2) Méthodologie..... 196
3) Conclusion générale..... 203

ANNEXE 1: Analyse des dynamiques spatio-temporelles des populations de carabes dans un paysage agricole breton..... 246

ANNEXE 2: Analyse de la diversité et de la répartition spatiale des coléoptères carabiques selon le type de culture 267

A Ludo et aux enfants que nous étions.

“ La science est une magie qui réussit. ”

Kurt Vonnegut

“Scientists are responsible for truth, knowledge, wisdom [ ].
Truth is what is-it is the underlying reality of all existence. Knowledge is what we think we know about truth. Knowledge, however, is always an imperfect assessment, and is always subject to revision and improvement. The realization that there are discrepancies and weaknesses in knowledge is wisdom. Wisdom leads to a process, called the philosophy of science, through which knowledge is modified to better fit the truth. Philosophy means the love of wisdom, and doctors of philosophy are supposed, before all else, to be experts in wisdom.”

Robert MacArthur

Remerciements

Durant cette thèse j'ai eu l'énorme privilège de faire partie de deux laboratoires de recherche et d'effectuer des travaux ou collaborer avec cinq autres. J'ai pu ainsi tisser autour de moi un véritable réseau d'interactions avec des collègues sympas et compétents qui ont tous participé de façon directe ou indirecte à l'avancement de ma thèse. Je souhaite dans cette partie leur adresser toute ma gratitude.

Comme de tradition, je remercie d'abord les membres du jury pour avoir accepté d'examiner mon travail de thèse: David Bohan, Pierre Franck, Frédéric Grandjean, Anne Le Ralec et plus particulièrement François Pompanon et Philippe Tixier qui se sont chargés de la lourde responsabilité de rapporteurs.

Je remercie également tous les membres de mon comité de thèse, Pierre Taberlet, Eric Coissac, Eric Petit, Sergine Ponsard, Stéphanie Aviron, Pierre Franck, Jean-Christophe Simon et Jean-Yves Rasplus, pour leur implication active, pour toutes les suggestions pertinentes et pour toute l'indulgence envers mon ignorance naïve.

Ensuite, je tiens à adresser mes plus sincères remerciements à Vincent Bretagnolle qui a fait preuve de beaucoup de générosité en m'accordant un financement de thèse pour étudier les carabes. Ce n'était pas toujours évident mais j'ai pris beaucoup de plaisir aux séjours chizéens et aux discussions que nous avons pu avoir. Merci de m'avoir fait confiance, merci pour le temps consacré, pour tous les conseils et…pour les outardes. J'espère que tu y trouveras un peu ton compte et que ce n'est que le début de nos futurs échanges scientifiques. Et qui sait, un jour peut être, j'aurais moi aussi le privilège d'entendre les outardes pétarder.

Longue vie au vieux affreux troll à la bouche pleine de dents et aux mains pleines de doigts qui n'a eu de cesse de faire de ce séjour un terrible chemin de croix parsemé hmmm…d'éclats de rires, Manu Plantegenest.
« J'ai tout appris de toi… » chantait Ferrat. Et c'est bien vrai. Je pense que cela résume mieux que tout ces trois années d'azur et d'orages. Merci pour tout et pour tout.

Bertrand Gauffre. Je crois que le plus exaspérant de mes encadrants, c'était bien toi. Et pourtant, il sorriso désarmant, la passion sans limites pour ce satané de sport et les sacrés plats italiens ne me laissent que de bons souvenirs. Merci d'avoir rendu

mes séjours chizéens plus agréables encore (aaah King Eric!), merci pour le soutien et pour tous les échanges que nous avons pu avoir au cours de ces trois années.

Mes remerciements les plus chalereux à tous les collègues de l'UP CEBC et de l'UMR IGEPP. Cela fût un véritable plaisir de vous côtoyer durant ces trois années. Merci pour la bonne ambiance, pour les coups de mains et pour toutes les bonnes idées. Merci pour tous les moments de convivialité. Les fêtes chizéennes au coin du feu étaient particulièrement inoubliables.
Merci à Denis Tagu, à Jean-Christophe Simon, à Yannick Outreman et à Vincent Bretagnolle qui ont significativement contribué au cadre et à la bonne ambiance de ces deux laboratoires.

Je suis particulièrement reconnaissante aux collègues qui ont bravé la pluie et le beau temps avec moi dans les champs bretons : Nathalie Leterme, Lucie Mieuzet, Frédérique Mahéo, Solenn Stoeckel, Jean-François Le Gallic, Magda Castel, Bernard Chaubet, Jean-Marc Roussel, Ewen Georgelin, Sarah Polin, Alexia Marie, Cécile Gérardin, Ludmilla Martin, Marie Oudin, Ronan Marrec.
Mention spéciale pour Diab Al Hassan qui a assuré la plus grande partie du terrain en 2010. Merci Diab pout tout ton amitié, pour l'aide et pour le soutien que tu m'as apportés surtout au début de ma thèse. J'espère pouvoir te le rendre un jour, mon ami.
Un très grand merci à Frédéric Hamelin, pour sa charmante compagnie et pour sa contribution essentielle aux deux années de récoltes.
Merci à la CNER team : Nolwenn Génuit, Maël Dugué, Kévin Tougéron, Théo Vantsteenkeste. Merci pour votre enthousiasme et pour votre bonne compagnie!
Merci à tous pour cet aide précieux sur le terrain, je n'aurais jamais pu faire le travail sans vous.

Merci à l'équipe BM du Rheu, pour l'aide, les bons conseils et la réactivité face à mes demandes et commandes, souvent excentriques ou urgentes. Plus particulièrement merci à Stéphanie Morlière, Lucie Mieuzet, Nathalie Leterme, Fred Mahéo et Morgane Boutin. Votre participation a été essentielle à l'avancement et à la réussite de mes travaux.

Merci à toute l'équipe Gestion ! Je n'ose compter le nombre d'ordres de mission, de commandes et de toutes autres demandes que je vous ai adressés ces trois années. Merci pour la patience, pour la compréhension et surtout pour la bonne humeur.

Avec bien évidemment une mention spéciale pour Patricia, Géraldine et Bruno. Vous avez géré tout au top !
Un très grand merci également à Isabelle Baumgarten qui s'est rendue indispensable à l'Agrocampus. Un très grand merci à Delphine, Evelyse et à Martine qui se sont rendues indispensables à Chizé.

Merci aux collègues de l'atelier du Rheu et plus particulièrement à Gérard Riault qui m'ai aidée pour adapter le matériel vidéo aux conditions du terrain.

Merci à Régis Reauté pour tout son aide avec les commandes et la gestion des problèmes informatiques.

Un grand merci à Anne-Sophie Grenier pour tous les articles introuvables qu'elle a réussi à dénicher pour moi et pour son aide dans bien d'autres choses encore ! Un grand merci également à Catherine Cliquet pour m'avoir laissé les portes de la bibliothèque de l'Agrocampus toujours ouvertes.
Merci à toutes les deux pour votre réactivité, votre gentillesse et bonne humeur.

Mille mercis à Nicolas Parisey pour tout son aide avec la cartographie et les analyses SIG.

Un grand merci à Jérôme Guitton pour son aide avec tous les petits problèmes de dysfonctionnement de la vidéo caméra.

Merci à Jean Peccoud pour ses conseils pertinents et pour l'intérêt qu'il porte à mon travail de thèse.

Merci à la team "bioinfo": Fred Boyer (UMR LECA, pour les dimanches sacrifiés au nom des carabes), Jean-Pierre Gauthier (UMR IGEPP, pour les longues journées sacrifiées au nom des carabes), Yvan Le Bras, Olivier Quenez et Mathieu Bahin (UMR IRISA, pour la bonne humeur, l'enthousiasme et l'accueil chaleureux). Mille fois merci, vous avez porté et assumé une partie essentielle du traitement de mes séquences et ce n'est pas fini. J'ai hâte de voir nos efforts recompensés.

Merci à tous les collègues qui m'ont ponctuellement prodigué conseils ou rendu service au cours de ces trois années que ça soit à Rennes ou à Chizé. Merci pour

l'intérêt que vous avez porté à mes travaux et pour les encouragements que vous m'avez apportés.

Merci à tous les copains et particulièrement à ceux qui ont partagé l'Aquarium durant ces trois années : Sarah Polin, Ewen Georgelin, Stéphane Dérocles, Julia Saulais, Lucie Raymond, Emilie Dion, Alan Walton, Alexia Marie, Marion Maret, Nolwenn Genuit, Aziz Djoudi, Maureen Cateine, Kévin Tougeron, Mathilde Besson, Stéphanie Saussure, Mélanie Leclair et Yoann Navasse. Merci à vous tous individuellement pour les personnes que vous êtes, j'ai passé beaucoup de bons moments auprès de vous.
Mes plus sincères remerciements à toi Sarah, pour ton amitié, pour ton soutien sans faille et pour tous les délires de thésardes frustrées que nous avons partagé.
Une petite pensée pour Alan qui aimait bien discuter des choses de la vie et qui aimait bien se cacher derrière la porte pour me faire peur.

Merci aux copains du Rheu, et plus particulièrement à Aurore Gallot, Jean-François Le Gallic, Patricia Nadan, Séverine Lemarié, Clément Sorin, Benjamin Ortiz, Loreto Suay, Pierre Nouhaud, Chloé Larose et Clément Goubert.

Merci aux copains de Chizé : Adrien Pinot, Vincent Lecoustre, Fred Barraquand, Hanneke Gillis, Thomas Fauvel, Ronan Marrec, Paul Miguet, Hélène Deraison, Kévin Le Rest, Pierrick Devoucoux, Fabrice Requier, Stéphane Lecq, Steeve Augiron, Marylin Roncoroni, Adriana Iglesias, Mathieu Liaigre et tous les stagiaires, VCAT et autres passagers temporaires avec lesquels nous avons partagé plein de moments de convivialité au sein des locaux chizéens.
Plus particulièrement merci aux deux beaux gosses, Adrien et Vincent qui m'ont initiée à la vie chizéenne. Merci pour l'accueil chaleureux, pour les parties de pêche au bord de l'océan et pour tout ce que vous avez partagé avec moi, toujours dans la bonne humeur.
Un très grand merci à Ronan Marrec : merci pour tout ce que tu es et merci pour tout ce que tu as fait pour moi.
Merci à tous ceux qui ont eu la gentillesse de venir me chercher ou déposer à la gare de Niort !

Merci à tous les membres de l'équipe Agripop, j'ai été très heureuse de vous connaître et de vous côtoyer durant mes séjours dans les Deux-Sèvres. Merci

également aux collègues des équipes EGI et ESP, j'ai été très heureuse de vous connaître et de vous côtoyer durant mes séjours rennais.

Une très grande part de mes remerciements va bien sûr aux stagiaires : Nolwenn Genuit, Aziz Djoudi, Maureen Cateine, Kévin Tougeron et Mathilde Besson. J'ai appris énormément de choses auprès de vous et j'ai été heureuse de travailler à vos côtés. La qualité de votre travail a enrichi considérablement ma thèse. Je vous souhaite beaucoup de réussites dans votre parcours.

Je me dois particulièrement de remercier tous les collègues du Laboratoire d'Ecologie Alpine car leur implication a été déterminante pour ma thèse. Merci pour votre accueil chaleureux, pour votre aide compétente et surtout pour cette ambiance de convivialité et de partage qui m'a particulièrement marqué durant mes séjours. J'ai pris beaucoup de plaisir à passer du temps à vos côtés avec une vue sur la montagne en bonus. Un très grand merci à Pierre Taberlet, Eric Coissac, François Pompanon, Irène Till-Bottraud, Christian Miquel, Delphine Rioux, Ludo Gielly, Tiayyba Riaz, Wasim Shehzad, Fred Boyer, Emil Ganchev et Marta de Barba. Merci pour votre implication dans mes travaux, pour votre intérêt et pour l'attention avec laquelle vous m'avez accueillie. Merci Eric pour ta patience et tout ce que tu as fait pour moi.

Mes plus sincères remerciements à tous les collègues du CBGP. Merci de m'avoir accepté parmi vous, merci d'avoir contribué substantiellement à ma formation et à la qualité de mon travail de thèse. Cela a été un véritable privilège de séjourner au CBGP, un véritable plaisir également grâce à votre hospitalité cordiale. Un très grand merci à Jean-Yves Rasplus, Jean-François Martin, Astrid Cruaud, Isabelle Meusnier, Gwen Genson, Max Galan, Flavie Vanlerberghe, Philippe Gauthier, Laure Sauné, Anne-Laure Clamens, Cécile Clouet, Philippe Audiot, Nathalie Vieira, Johannes Tavoillot et Martin Godefroid. Merci Gwen, merci Isabelle, pour votre gentillesse et pour votre disponibilité malgré les plannings chargés.

Un très grand merci aux trois entomologistes, Christian Cocquempot, Jean-Claude Streito et Eric Pierre pour l'identification de mes bestioles. Votre expertise taxonomique a été indispensable.

Mention spéciale pour Sylvie Hart pour son accueil et son assistance, je n'aurais jamais pu me débrouiller sans son aide.

Un très grand merci à Sylvain Piry pour son aide avec SESAME.

Merci à tous les autres, permanents, doctorants ou stagiaires pour les échanges et pour la bonne ambiance.

Je remercie Yves Le Loir et Sergine Even de l'UMR STLO pour m'avoir accueillie dans leur laboratoire et pour leurs précieux conseils sur le séquençage des bactéries intestinales. Merci beaucoup.

Merci à Jean-Luc Roger du SAD-Paysage qui a mis son expertise en botanique et en identification de carabes à ma disposition. Merci de m'avoir accompagné sur le terrain pour identifier les plantes. J'ai passé que de bons moments en ta compagnie.

Merci à Jean-Marc Roussel de l'UMR ESE pour l'attention et les nombreux conseils en matière d'isotopes au tout début de ma thèse.

Merci à Cédric Leroux de la Station Biologique de Roscoff qui a effectué les analyses isotopiques. Sa compétence et sa réactivité ont été essentielles pour l'avancement de ma thèse. Merci pour tous les conseils et pour la visite guidée de ce bel endroit qui est la Station de Roscoff.

Vielen Dank à Michael Traugott de l'université d'Innsbruck, niché au cœur des Alpes tyroliennes. Merci également à Anita, Julia, Corinna, Bettina, Johannes, Daniela, Karin, Zhengpei et Ulla. J'ai rarement vu une compagnie aussi joyeuse et agréable, je suis heureuse de vous connaître et j'ai passé que de bons moments auprès de vous. Merci à Michael pour tous les conseils précieux et pour les projets que nous développons ensemble. J'espère vous croiser de longues années encore.

Merci à Erwan Quéméré pour tous les conseils NGS et régime alimentaire, très utiles pour mes débuts de thèse. Merci pour tous les moments de convivialité que nous avons partagés.

Un très grand merci à l'équipe "Ecologie, Evolution, Symbiose" de l'université de Poitiers. Je remercie tout spécialement les collègues de l'équipe pédagogique : Roland Raimond, Joanne Bertaux, Isabelle Marcadé, Mathieu Sicard, Yves Caubet et Tiffany Laverré. Merci pour votre accueil, pour tous les bons conseils et pour tout l'aide avec les enseignements. Je suis particulièrement reconnaissante à Roland Raimond et à Joanne Bertaux qui ont tout fait pour faciliter mes déplacements, qui

ont consacré beaucoup de temps pour me former et m'aider à préparer les cours. Grâce vous j'ai pris beaucoup de plaisir à enseigner.
Merci également à Lise, Myriam, Jessica et Nicolas pour les conversations et pour tous les échanges sympas entre deux TP.

Merci également à l'équipe de l'école doctorale Gay Lussac, et plus particulièrement à Sabrina Biais et à Sylvie Perez pour toute l'assistance dans les démarches administratives y compris pour cette fin de thèse.

Merci à tous mes amis ! Merci de m'avoir permis de mener un minimum de vie sociale durant ces trois années. Merci pour votre soutien sans faille et pour l'indulgence. Poutous spéciaux pour Guélique, pour B&B et pour Aurélien Déchaaaaaaatre, sans oublier la Shetland team, Hina et Inès La P.
Merci à toute la clique bulgare, une amitié qui dure 15 ans déjà malgré les distances. On se revoit très bientôt.

Merci à mon brigand des routes et à son gypaète barbu pour tous les moments de tendresse passés ensemble.

Un très grand merci aux familles Hézard-Poulat pour tout votre soutien, pour les bons souvenirs et pour tout ce que vous m'avez donné durant ces six années. Je pense souvent à vous. Merci à la famille Pellen et particulièrement à Marie-Françoise qui a été toujours là pour moi. Merci.

Merci à ma petite famille, à ma maman qui a accepté que je parte si loin et que je revienne si rarement. A mon frère, ce philosophe des temps modernes, pour m'avoir fait voyager au fond de moi-même. A ma grande-mère qui s'est beaucoup inquiétée du sort des carabes. Cette thèse est aussi la vôtre.

Enfin, il convient de mentionner Pataud, ce compagnon poilu qui a pris une part active dans les recherches scientifiques ces temps-ci. Bête affreuse, son odeur envoûtante a particulièrement marqué les esprits. Mais que voulez-vous puisque « la sagesse suprême du chien consiste à ne *jamais* se laver. » Merci à tous ceux qui l'ont subi, accepté et surtout gardé durant ces trois années.

INTRODUCTION ET PROBLÉMATIQUE

1) Le contexte général de l'agriculture moderne

Les agro-écosystèmes occupent un tiers de la surface globale terrestre (FAOSTAT 1999), constituant la surface la plus importante en terres exploitées par l'homme. Cette expansion considérable, associée à une intensification de la production agricole au cours la révolution verte a permis de subvenir aux besoins alimentaires de la population mondiale à la sortie de la deuxième guerre mondiale mais à un coût environnemental et sanitaire élevé. Ainsi, en l'espace de 50 ans l'utilisation de fertilisants a augmenté de 500% (Matson et al. 1997; Tilman et al. 2001), perturbant les cycles naturels des nutriments et entraînant une pollution généralisée des écosystèmes et des ressources en eau douce. Tandis que l'utilisation immodérée de pesticides pour la protection des cultures a causé de nombreux effets néfastes sur la santé humaine (FAO 2000; Pimentel 2005) et l'environnement (Green et al. 2005; Foley et al. 2005). Malgré ces effets négatifs, la consommation en pesticides à l'échelle mondiale a été estimée à 2,6 millions de tonnes dans les années 1990 (Aspelin 1997) et continue à augmenter (EPA USA 2011), avec dans certains cas une augmentation de la fréquence d'usage et des concentrations appliquées afin de contourner le développement de résistances chez les bioagresseurs ciblés (Chandrasekara et al. 1985; WRI 1998).

Une perte de biodiversité, soit directement par la conversion des espaces naturels en terres arables, soit indirectement sous l'influence de pratiques intensives, a été également le prix à payer pour nourrir le monde. Ainsi, en moins de 20 ans un déclin des abondances a été avéré pour 83% des espèces d'oiseaux des champs et une restriction de leur distribution pour 86% rien qu'en Grande Bretagne (Fuller et al. 1995) mais les mêmes observations sont notées dans tous les paysages agricoles européens (Donald et al. 2001a). Des tendances similaires ont été aussi observées pour les mammifères (Flowerdew et al. 1997), pour les plantes et les arthropodes (Donald 1998 ; Sotherton & Self 2000 ; Geiger et al. 2010 ; Prieto-Benítez & Méndez 2010).

1.1) Vers un nouveau paradigme de l'agriculture

Ces constats alarmants suggèrent que l'intensification agricole a atteint ses limites. D'une part, les surfaces potentiellement cultivables ainsi que les ressources sont limitées (Godfray et al. 2010). D'autre part, la perte de biodiversité et de paysages patrimoniaux n'est plus admissible par respect des générations futures (Tilman 1999). Ces préoccupations imposent donc la nécessité de se tourner vers un nouveau modèle d'agriculture. Ainsi, une nouvelle législation adaptée et des stratégies de gestion plus durables ont vu le jour partout dans les pays développés avec l'objectif de limiter les impacts négatifs de l'intensification agricole (en France : les Mesures Agro-Environnementales ; le plan Ecophyto 2018, etc.). Des plans d'investissements importants ont été adoptés notamment dans le secteur de la recherche publique, pour encourager le développement de nouvelles technologies comme des variétés de plantes OGM polygéniques (Godfray et al. 2010) ou de nouvelles approches en sélection variétale (Tester & Langridge 2010). Les préoccupations sociétales et les débats scientifiques ont nourri la réflexion ces vingt dernières années autour de l'émergence de nouveaux concepts pour une agriculture durable comme l'agriculture écologiquement intensive ou encore la révolution doublement verte (Conway 1997; Griffon 2002 ; Royal Society 2009; Godfray et al. 2010). Ces nouveaux modèles énoncent que pour être durable l'agriculture doit intégrer dans la gestion des espaces agricoles les principes gouvernant les écosystèmes (Tilman 1999; Shennan 2008) afin d'optimiser les processus naturels de production et de régulation. Cependant, et malgré les nombreux investissements, le recours à des systèmes de productions respectueux de l'environnement reste perçu comme nuisible aux rendements (Green et al. 2005) et l'agriculture moderne reste encore très dépendante des produits phytosanitaires par exemple (Oerke & Dehne 2004). Ainsi, la situation actuelle est telle que malgré une conscience générale quant à la nécessité d'adopter une agriculture respectueuse de l'environnement, on ne dispose pas de mode de gestion optimale minimisant à la fois les pertes de biodiversité tout en assurant les meilleurs rendements. Pour cela, il semble indispensable d'améliorer notre capacité de prédiction pour pouvoir anticiper les réponses biologiques aussi bien localement qu'à une échelle globale (Pereira et al. 2010 ; Convention on Biological Diversity 2011 ; Dawson et al. 2011). Or, de telles prédictions sont encore difficiles puisque les interactions complexes entre organismes, les boucles de rétrocontrôle et leurs effets sont rarement pris en compte dans les recherches (Gilman et al. 2010 ; Barnozky et al. 2012).

En conclusion, l'agriculture moderne est confrontée à deux défis majeurs à relever, parfois difficilement compatibles : assurer la sécurité alimentaire à long terme, et réduire l'impact négatif sur l'environnement. Pour que l'on puisse intégrer les processus naturels dans la gestion durable des espaces agricoles, il est indispensable d'acquérir une compréhension fine des facteurs régissant la biodiversité pour pouvoir prédire ses effets sur le fonctionnement des écosystèmes. Le présent travail de thèse s'inscrit dans la continuité des recherches scientifiques menées ces dernières années avec pour objet de comprendre les mécanismes régissant les relations entre biodiversité et services éco-systémiques dans le but d'améliorer la durabilité des systèmes agricoles.

1.2) Biodiversité et services éco-systémiques en milieu agricole

La prise de conscience de l'impact des activités humaines sur la biodiversité dans les années 1990 s'est accompagnée d'une prise de conscience des bénéfices que cette diversité biologique pouvait apporter à l'humanité. Les bénéfices, qualifiés de services éco-systémiques, s'étendent de la régulation du climat à la production de nourriture et d'eau potable. La valeur de leur approvisionnement est estimée à plusieurs milliards de dollars (Costanza et al. 1997). Le service de contrôle biologique qui est l'un des services les plus importants en milieu agricole, représente à lui seul près de 336 millions de dollars chaque année à l'échelle mondiale (Costanza et al. 1997).

Paradoxalement, l'agriculture contribue aussi à l'enrichissement et au maintien de la biodiversité, patrimoniale ou commune (Altieri & Merrick 1987 ; Wolff et al. 2001). Depuis des millénaires les pratiques de sélection et de domestication exploitent le potentiel génétique des espèces en créant des variétés, des cultivars et des races (Galluzzi et al. 2010). Les paysages agricoles jouent aussi le rôle d'habitat-refuge pour de nombreux taxa (Benton et al. 2003; Carré et al. 2009; Geiger et al. 2010). Les communautés d'invertébrés, et en particulier les insectes, présentent des niveaux de richesse comparables à ceux rencontrés dans les écosystèmes naturels et ils contribuent à de multiples services éco-systémiques comme la fertilisation des sols, la pollinisation ou encore le contrôle des ravageurs (Losey & Vaughan 2006). Les organismes hébergés par les espaces agricoles et les multiples services auxquels ils participent, contribuent ainsi activement au bien-être de l'humanité (MEA 2005).

Néanmoins, l'homogénéisation des paysages agricoles et l'intensification des pratiques compromettent à terme le maintien de cette biodiversité. L'impact de la perte de biodiversité sur les services rendus est devenu un objet d'investigations intenses et le rôle de la biodiversité dans le maintien des services éco-systémiques a été largement débattu (Tilman & Downing 1994 ; Tilman 1996 ; McGrady-Steed et al. 1997; Naeem & Li 1997; Doak et al. 1998; Tilman 1999; Yachi & Loreau 1999; Ives et al. 2000; Lehman & Tilman 2000; McGrady-Steed & Morin 2000 ; Ives & Hughes 2002).

Des études théoriques et expérimentales ont démontré l'effet stabilisant de la diversité spécifique sur le maintien des fonctions éco-systémiques comme la productivité (Cardinale et al. 2007), la pollinisation (Brosi & Briggs 2013 ; Garibaldi et al. 2013) ou encore la régulation des ravageurs (Snyder et al. 2008). En effet, plus un système contient d'espèces, plus la probabilité que l'une d'elles soit très productive, par exemple, est accrue, par effet d'échantillonnage (Huston 1997 ; Schwartz et al. 2000). De plus, dans les assemblages diversifiés, la complémentarité entre espèces permet une utilisation plus efficace de la ressource, améliorant ainsi les rendements (Loreau & Hector 2001). De tels assemblages semblent aussi plus résistants aux perturbations et peuvent assurer le maintien des fonctions dans l'espace et dans le temps (Kremen 2005 ; de Mazancourt et al. 2013). Il a été aussi montré que la biodiversité *per se* favorise le maintien concomitant de multiples fonctions écologiques (e.g. la multifonctionnalité, Maestre et al. 2012) de part l'effet de facilitation que les espèces exercent entre elles. Intégrer ces raisonnements dans la gestion des systèmes de production agricole semblait donc une stratégie encourageante pour parvenir à une agriculture à la fois productive et durable.

Cependant, malgré l'enthousiasme suscité par ces découvertes, le bilan est mitigé (Schwartz et al. 2000) et la relation positive entre biodiversité et processus écologiques est en réalité très dépendante de l'échelle d'observation et du degré de manipulation des systèmes étudiés (Balvanera et al. 2006). De plus, la forme et l'intensité de la relation entre les composantes de l'intensification agricole telles le rendement, et l'abondance et la diversité des espèces, varient considérablement selon le groupe taxonomique (Gabriel et al. 2013). Cela s'explique non seulement par les exigences particulières de chaque espèce en termes de qualité de l'habitat mais également par les interactions qu'elle entretient avec les autres organismes. Par exemple, Gabriel et al. (2013) spéculent que la diversité et l'abondance des syrphes (Diptera) sont positivement corrélées aux rendements puisque les ravageurs comme les pucerons sont la ressource déterminante pour le développement de leurs larves. Cette complexité explique l'absence d'effet positif général de la biodiversité

sur un certain nombre de propriétés ou fonctions écologiques, comme le contrôle biologique par exemple.

En conclusion, il n'y a pas derelation simple entre intensifiation agricole, biodiversité et fonction car la réponse à l'intensification des organismes délivrant les services éco-systémiques diffère selon les interactions qu'ils entretiennent avec leur milieu et avec les autres organismes. Il semble donc indispensable que pour améliorer notre capacité de prédiction en ce qui concerne les services de régulation il est nécessaire d'acquérir une meilleure compréhension des mécanismes en jeu (Bianchi et al. 2006). Les communautés d'arthropodes auxiliaires en milieu agricole apparaissent comme un bon modèle pour investiguer les effets de la diversité et des interactions entre espèces sur l'approvisionnement en fonctions écologiques. Non seulement elles participent activement à un service éco-systémique très important qui est le contrôle biologique, mais elles présentent aussi des niveaux de diversité à la fois élevés et relativement faciles à étudier ou manipuler expérimentalement.

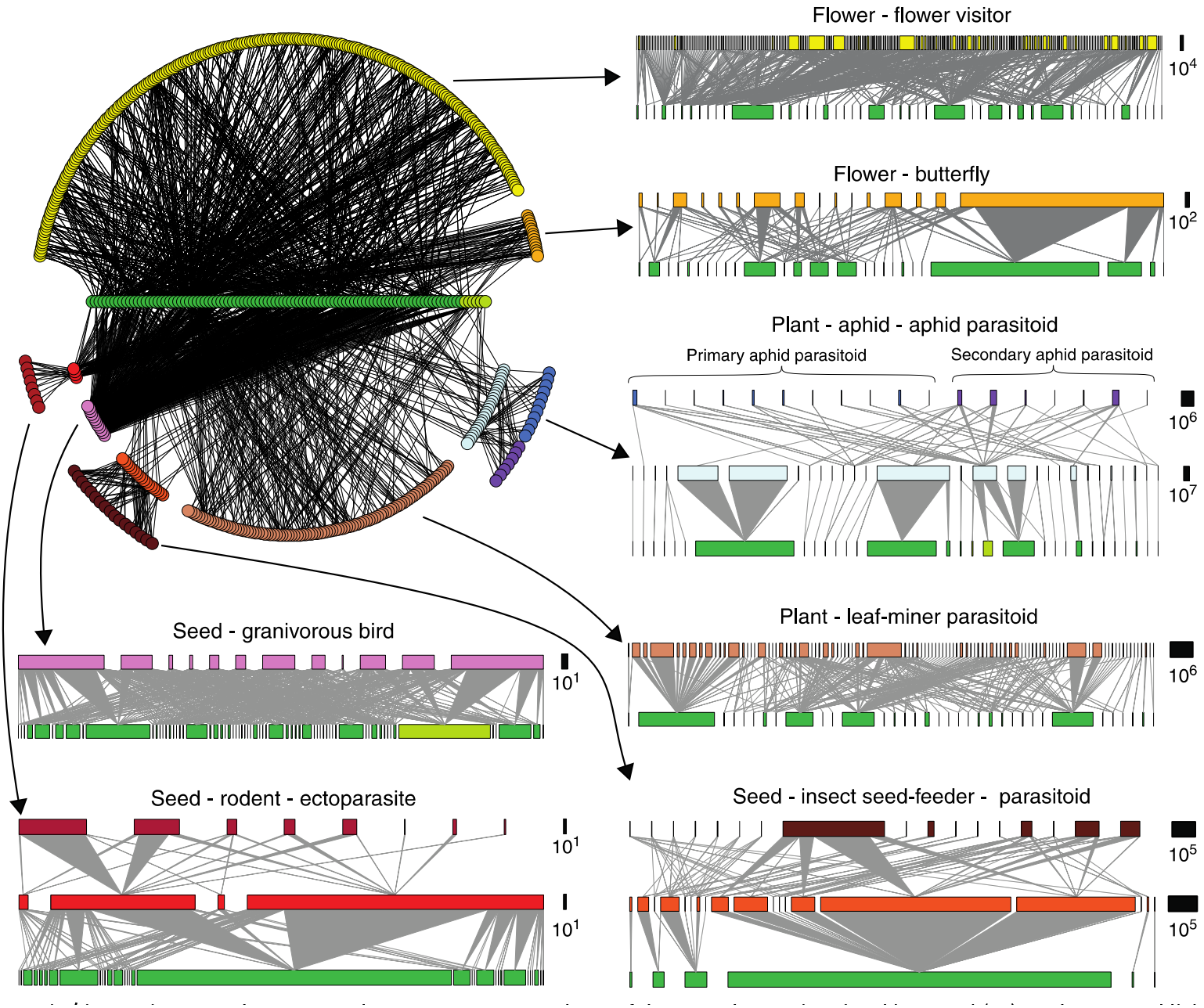


Figure 1. Exemple de la complexité du réseau d'interactions sein des agroécosystèmes. Ici Pocock et al. (2012) ont suivi pendant deux ans les interactions entre plantes, invertébrés, oiseaux et mammifères dans une ferme à Somerset, Royaume-Uni. Ils ont échantillonné les champs cultivés et les habitats semi-naturels autour des champs. L'ensemble du réseau est présenté en haut, à gauche où chaque rond correspond à une espèce. Les informations quantitatives sont présentées pour chacun des 7 sous-réseaux. Chaque couleur correspond à un groupe biologique, le vert foncé correspond aux plantes non-cultivées et le vert clair, aux plantes cultivées. Les barres d'échelle indiquent les abondances des animaux. Les plantes sont représentées pour chaque sous-réseau, en proportion du nombre de leurs interactions avec les animaux. (D'après Pocock et al. 2012).

1.3) Le contrôle biologique : la biodiversité pour la protection des cultures

La communauté d'arthropodes en milieu agricole, spécialistes ou généralistes, assure en grande partie la régulation naturelle des organismes nuisibles (Pimentel 2005; Losey & Vaughan 2006), et semble être un levier d'action important pour promouvoir une protection des cultures durable. Le potentiel des communautés d'auxiliaires à contrôler les populations des organismes nuisibles a été largement exploré dans la littérature scientifique et fait partie intégrale aujourd'hui de nombreuses stratégies de lutte biologique (Gurr & Wratten 2000 ; Ferron & Deguine 2005). Du point de vue théorique, beaucoup d'efforts ont été produits pour comprendre la dynamique des interactions entre proies et prédateurs (Hassel 1978) ou pour élucider les effets du degré de généralisme des prédateurs sur l'efficacité de contrôle des populations de ravageurs (Symondson et al. 2002). La biologie et les traits de vie de la plupart des insectes auxiliaires des cultures ont fait aussi l'objet de nombreuses études et on sait prédire assez bien leurs cycles de vie (Starý 1970 ; Saska & Honek 2004) et leurs besoins en termes de nutrition ou d'habitat (Charrier et al. 1997 ; Géneau et al. 2013). Leur utilisation en lutte biologique a ainsi dépassé le confinement des serres, et des stratégies de renforcement de leurs populations, à l'échelle de la parcelle ou même à l'échelle du paysage, ont vu le jour (Gurr et al. 1996). Ces initiatives ont été reçues avec un enthousiasme qui est d'autant plus justifié que les contraintes imposées par l'évolution de la législation en termes de lutte chimique, laissent peu d'alternatives pour la protection des cultures dans certains systèmes de production. Ainsi, parmi les stratégies de gestion proposées, on peut citer par exemple, les 'beetle banks', contribuant à améliorer l'hivernation des coléoptères carabiques (Thomas et al. 2002 ; Macleod et al. 2004), ou encore les bandes fleuries, pour améliorer la survie des pollinisateurs et des hyménoptères parasitoïdes (Wratten et al. 2012; Balmer et al. 2013). Cependant, et malgré les efforts, les effets sur la dynamique des populations des ravageurs n'ont pas été à la hauteur des attentes (Bianchi et al. 2006) et dans certains cas une augmentation des populations d'organismes nuisibles a même été constatée, suite à l'amélioration de la qualité des habitats (Thies & Tscharntke 2005 ; Eggenschwiler et al. 2013).

La raison principale de cet échec est la méconnaissance des phénomènes potentiels de synergies ou d'antagonismes entre les organismes des paysages agricoles. De plus en plus d'études montrent la complexité des interactions au sein des communautés d'auxiliaires (Duffy et al. 2007 ; Martin et al. 2013) et les interdépendances que ces interactions créent entre les différents services éco-

systémiques (Reganold et al. 2011; Balmer et al. 2013). La figure 1 est l'un des exemples empiriques les plus récents, illustratifs du degré de complexité que montrent les réseaux d'interactions dans les paysages agricoles (voir aussi Müller et al. 1999 ; Macfadyen et al. 2009). Des études empiriques plus détaillées des différents compartiments de ces réseaux d'interactions ont ainsi relevé l'existence de plusieurs mécanismes interférant avec le contrôle des ravageurs. Il a été montré par exemple que la prédation intra-guilde était un phénomène répandu (Davey et al. 2012 ; Traugott et al. 2012). D'autres études ont montré l'importance des proies alternatives (e.g. switching behaviour) sur l'efficacité du contrôle biologique (Symondson et al. 2002 ; Arab et al. 2013). Les effets d'autres phénomènes comme la saprophagie (e.g. scavenging, Wilson & Wolkovich 2011 ; von Berg et al. 2012), la compétition (Ingram et al. 2012) ou le comportement (Guy et al. 2008 ; Wimp et al. 2013) restent encore largement sous-évalués.

Ces interactions complexes peuvent aussi être influencées par les traits de vie des espèces comme le degré d'opportunisme (Schmidt et al. 2010), la capacité de dispersion ou l'utilisation de l'espace (Finke & Denno 2002 ; Birkhofer et al. 2011 ; Liu & Zhang 2013). Des facteurs extrinsèques comme la modification de l'habitat (Janssen et al. 2007; Tylianakis et al. 2007) ou encore le changement climatique (Suttle et al. 2007) peuvent moduler ensuite la nature et l'intensité des interactions entre espèces.

Suite à ces constats, de plus en plus d'études concluent quant à la nécessité d'intégrer dans l'étude de la biodiversité, l'analyse de la complexité des réseaux multi-trophiques afin d'obtenir une compréhension plus complète des services rendus comme le contrôle biologique (Symondson et al. 2002 ; Ives et al. 2005 ; Thompson et al. 2012). Cette nécessité provient du fait que les réseaux d'interactions tels que les réseaux trophiques présentent des propriétés émergentes qui ne sont pas réductibles à la somme des effets des espèces impliquées (Bohan et al. 2013) et que ces propriétés émergentes sont souvent déterminantes pour l'accomplissement d'une fonction écologique. D'une part, l'analyse des topologies des réseaux d'interactions et d'autre part l'élucidation des mécanismes qui les génèrent dans le contexte des agroécosystèmes devront permettre d'élaborer des hypothèses prédictives et des règles de décision générales (Bohan et al. 2013) pour la gestion durable des espaces agricoles.

Il est donc indispensable de changer d'échelle d'investigation et d'adopter une vision systémique de la biodiversité en milieu agricole via l'intégration des réseaux d'interactions. La compréhension des interactions entre espèces et des processus déterminant leurs associations est le principal objet des études en écologie des

communautés. S'inspirer donc de la démarche générale de cette discipline ainsi que des avancées théoriques pour les appliquer à l'étude des systèmes agricoles semble une approche prometteuse. Réciproquement, l'intérêt du « modèle agricole » pour les écologistes des communautés contribue à enrichir le domaine de l'écologie théorique (Thébault & Fontaine 2010 ; Pocock et al. 2012).

Comprendre les mécanismes qui régissent les interactions entre espèces et comment ces mécanismes impactent l'approvisionnement en services éco-systémiques sont des questions importantes dans le contexte de l'agriculture moderne. Dans ce travail de thèse, nous nous focalisons sur le service de contrôle biologique avec l'objectif de comprendre comment la diversité et les interactions entre espèces, à l'échelle de la communauté, peuvent impacter la régulation des ravageurs. Pour cela nous nous basons sur les réflexions et concepts développés dans le cadre de l'écologie des communautés.

2) Ecologie des communautés et mécanismes à l'origine de la biodiversité

2.1) Concepts théoriques

La complexité et la diversité des interactions entre espèces ont fasciné plusieurs générations de scientifiques depuis Darwin et son « entangled bank » (Darwin 1859). Expliquer l'origine et l'interdépendance des interactions entre espèces est devenu une question centrale en écologie. Comprendre comment sont générés les patrons de diversité au sein des communautés a non seulement des implications sociétales profondes mais c'est également une question scientifique stimulante. En effet, certains écosystèmes comme les forêts tropicales ou les récifs coralliens présentent des niveaux de diversité et de complexité des interactions déconcertants. La première tentative pour expliquer l'origine de cette complexité est le travail de Darwin sur les pinsons des îles Galapagos. Il a suggéré que la diversification qui s'est opérée au sein de cette guilde, pouvait résulter d'une compétition accrue pour la ressource, qui était très limitée sur les petites îles de l'archipel. Cette compétition par le biais de la sélection naturelle a conduit à une radiation adaptative par spécialisation pour l'exploitation d'une partie de la ressource. Malgré ce raisonnement très répandu, la démonstration effective de la radiation adaptative en réponse à la compétition pour la ressource n'a pu être apportée que très récemment (Grant & Grant 2006). Les réflexions initiales de Darwin ont été reprises et étoffées

par la suite dans le cadre de l'une des plus importantes théories en écologie des communautés : la théorie de la niche (voir l'Encadré 1).

MacArthur est le premier à avoir formalisé le mécanisme de partage de niche dans son travail sur la communauté de fauvettes forestières en Amérique du Nord. Il a démontré qu'une ségrégation spatiale selon la strate de la canopée s'opérait entre des espèces écologiquement similaires. Cette ségrégation spatiale en réponse à la compétition pour la ressource permettait la coexistence entre les espèces (MacArthur 1958). La théorie de la niche a beaucoup enrichi la recherche en écologie et elle a fourni un cadre conceptuel pour élucider de nombreux patterns d'organisation des communautés. L'intégration de concepts de l'écologie évolutive a particulièrement contribué à l'enrichissement du cadre théorique de la niche (Losos 2008 ; Stuart & Losos 2013). Les avancées théoriques dans le cadre de la théorie de la niche ont également apporté des concepts applicables à la gestion et à la conservation de la biodiversité (Schwartz et al. 2000; Wiens et al. 2010).

Paradoxalement, c'est aussi MacArthur qui propose le second cadre théorique fondamental en écologie des communautés : la théorie de la biogéographie insulaire (voir l'Encadré 1) qui en prenant en compte des processus comme la dispersion ou les caractéristiques de l'habitat, a permis d'enrichir substantiellement plusieurs domaines de la recherche en écologie. Le modèle de la théorie biogéographique des îles a été particulièrement utile dans les débats autour de la meilleure façon de concevoir des réserves naturelles (Single Large Or Several Small -SLOSS- debate).

2.2) Des concepts à l'application: les apports de l'écologie des communautés à la gestion des espaces agricoles

Comme nous l'avons déjà mentionné, il est possible de tirer partie des théories développées en écologie des communautés pour les appliquer à la gestion durable des espaces agricoles (Shennan 2008). D'une part, en se basant sur les processus de dispersion (*dispersal-driven assembly rules*) ou sur l'espace de niche disponible (*niche-drive assembly rules*), différentes pratiques de gestion ont pu émerger comme l'installation de haies brise-vent pour empêcher la dispersion des ravageurs (Marrou et al. 1979) ou la diversification des habitats semi-naturels afin de créer plus d'espace de niche, disponible pour communauté d'auxiliaires (Macleod et al. 2004).

Encadré 1: Ecologie des communautés et mécanismes à l'origine de la biodiversité

L'écologie des communautés s'intéresse au rôle des processus écologiques dans le maintien de la biodiversité. Comprendre les mécanismes générant la biodiversité peut aider à mieux prédire comment ses changements influencent en retour les processus écologiques. Deux cadres théoriques pour expliquer le maintien de la biodiversité émergent dans la littérature :

Niche-driven rules of assembly

Le concept de niche a beaucoup évolué au cours de son histoire (Grinnel 1917; Elton 1927; Hutchinson 1958) mais le principe de base reste le même : deux espèces possédant des besoins écologiques (niche) similaires ne peuvent pas co-exister indéfiniment, selon le principe de l'exclusion compétitive énoncé par Volterra-Gause (1926; 1934). A défaut de s'éteindre sous la pression de la compétition, une espèce peut diverger pour un caractère lié à l'exploitation des ressources. Le partitionnement des ressources ainsi resultant, permet la coexistence de plusieurs espèces dans le même milieu. La radiation adaptative sous la pression de la compétition explique les niveaux de diversité observés dans de nombreuses communautés dont la plus connue est celles des pinsons des îles Galapagos (Grant & Grant 2006). Néanmoins, des études récentes ont montré que le déplacement de caractère évolutif n'est pas le seul mécanisme générant un partitionnement des ressources (Schluter 2000; Stuart & Losos 2013), la plasticité phénotypique (Pfennig et al. 2010) pourrait aussi générer des patrons de ségrégation similaires.

Dispersal-driven rules of assembly

La première tentative pour expliquer les niveaux de diversité au sein des communautés en termes de dispersion est la théorie biogéographique des îles, proposée par MacArthur & Wilson en 1967. La richesse spécifique d'une communauté est le résultat d'un équilibre dynamique de colonisation-extinction, dépendant de la surface qu'elle occupe et de son éloignement relativement aux autres communautés. Le modèle de MacArthur & Wilson a été à l'origine de nombreux travaux, aussi bien théoriques (Gravel et al. 2011) qu'empiriques (Simberloff & Wilson 1969) et il a été validé chez un grand nombre de communautés (Losos & Ricklefs 2009).

En 2001, Hubbell suscite la polémique en proposant une théorie neutre de la biodiversité, donnant la prépondérance aux processus stochastiques dans l'assemblage et la coexistence des espèces. En se basant sur une hypothèse d'équivalence entre les individus d'une communauté au regard des processus démographiques (naissance, mortalité, dispersion et spéciation), le modèle neutre propose que les communautés suivent une trajectoire aléatoire déterminée par des processus stochastiques d'extinction et d'apparition d'espèces (dérive écologique). Malgré les nombreux débats surtout quant à l'hypothèse d'équivalence entre espèces, le modèle neutre fournit un cadre théorique très simple pour tester des hypothèses nulles. La communauté scientifique s'accorde pour dire aujourd'hui que les deux processus, partitionnement de niche et dérive neutre, opèrent à des degrés variables au sein des communautés d'espèces (Chase & Leibold 2003; Tilman 2004; Canard et al. 2012).

D'autre part, les développements conceptuels et computationnels (Dobson et al. 2009; Ings et al. 2009; Stouffer 2010) ont permis des progrès considérables dans la compréhension du comportement des réseaux complexes vis-à-vis des processus comme l'intensification des pratiques ou la modification de l'habitat (Tixier et al. 2013). Toutefois, la validation sur des données empiriques reste encore difficile. La raison principale en est le manque d'outils adaptés pour étudier les interactions entre espèces en temps réel, de façon rapide et à grande échelle. L'émergence récente de nouvelles techniques moléculaires pour l'étude de la biodiversité se profile comme une solution prometteuse à ce problème.

En conclusion, les concepts développés en écologie des communautés peuvent apporter des arguments pertinents pour améliorer substantiellement les stratégies de gestion des espaces agricoles actuelles grâce à l'intégration des technologies moléculaires nouvelle génération.

3) De nouveaux outils pour l'étude de la biodiversité : barcoding et nouvelles technologies de séquençage haut-débit

3.1) Barcoding moléculaire ou 15 000 taxonomistes à perpétuité pour décrire la biodiversité?

Dans son papier fondateur de 2003, Paul Hebert et ses collaborateurs formulent de façon percutante la principale difficulté lorsqu'on est confronté à l'étude de la biodiversité : comment décrire les millions d'espèces existant à une échelle humainement raisonnable ? L'idée de « barcoder » moléculairement le vivant, que Hebert et ses collaborateurs ont avancée, est non seulement conceptuellement novatrice mais c'est aussi la seule solution envisageable pour l'étude de la biodiversité à grande échelle. Pour la première fois les écologistes ont à leur disposition une méthode standardisée, peu coûteuse et facilement appropriable même par les non-spécialistes (Hebert et al. 2003a). Il n'est pas étonnant qu'à peine dix ans plus tard le barcoding se soit imposé comme la méthode de référence et que le développement d'infrastructures (CBOL ; iBOL ; BoldSystems, etc.) et d'expertises (BeeBOL ; FishBOL ; HealthBOL ; MBI, etc.) à l'échelle mondiale ait été si rapide. D'un point de vue scientifique, l'approche barcoding a permis d'apporter de nouveaux arguments sur d'anciens débats comme celui du concept d'espèce par exemple (Fitzhugh 2006 ; Rubinoff 2006b). Le barcoding a également donné un renouveau à la taxonomie en tant que discipline (Rubinoff & Holland 2005; Miller

2007). Au-delà de la simple description des espèces, l'approche barcoding a ouvert de nombreuses perspectives dans de nombreux domaines scientifiques. Par exemple, grâce au barcoding on a pu découvrir de complexes d'espèces cryptiques au sein de taxa identifiés comme généralistes par les méthodes classiques (Smith et al. 2006). Ceci a complétement changé notre vision de certains processus écologiques comme la spéciation ou les relations trophiques entre espèces, avec des implications potentielles pour l'approvisionnement en services éco-systémiques (Smith et al. 2006). L'étude de certains types de milieux ou de communautés d'organismes difficilement observables tels les nématodes (Morise et al. 2012), la microfaune du sol (Porko et al. 2013) ou le plancton (Heimeier et al. 2010) a grandement été facilitée. La description précise des ces communautés cryptiques a permis la découverte de nouvelles fonctions écologiques ou de processus évolutifs insoupçonnés (Decelle et al. 2012).

3.1.1) Principe du barcoding moléculaire

Le barcoding moléculaire *sensu stricto* repose sur l'amplification d'une région d'ADN standardisée pour toutes les espèces avec un même jeu d'amorces universelles (Hebert et al. 2003a). Cette amplification standardisée s'accompagne nécessairement d'une identification taxonomique du spécimen par un spécialiste. Le spécimen identifié et sa séquence constituent ainsi une référence qui pourra servir à l'identification ultérieure de spécimens inconnus (les stades larvaires d'un insecte par exemple) ou non-identifiables (si leur état de conservation est trop dégradé). L'objectif de Paul Hebert et ses collaborateurs était de cataloguer le vivant pour faciliter ensuite la description de la biodiversité ou la découverte de nouvelles espèces. Cependant, ce dernier aspect a été fortement critiqué du fait que l'on manque de critères robustes pour délimiter les taxa sur la seule base de la distance génétique inférée à partir d'une unique région d'ADN (Funk & Omland 2003 ; Meyer & Paulay 2005).

3.1.2) Succès et limites de l'approche barcoding

La région barcode standard, proposée par Hebert et ses collaborateurs est la région de Folmer (658pb) située sur le gène mitochondrial COI, codant pour la protéine membranaire cytochrome oxydase I. Les arguments avancés pour ce choix sont que ce gène présente des taux de substitution élevés pour les nucléotides en 3ème

position, lui conférant un taux d'évolution trois fois plus rapide que celui des autres gènes mitochondriaux communément utilisés pour l'identification des espèces, comme 16S ou 12S, par exemple. Ce taux d'évolution rapide permet donc de délimiter avec précision, non seulement les espèces mais également les populations en cours de divergence (Hebert et al. 2003a). Du point de vue pratique, COI présente l'avantage d'être facile à aligner du fait du faible nombre d'insertions/délétions qu'il contient. Comparé aux 12 autres gènes mitochondriaux codant pour des protéines, COI présente aussi peu de changements dans sa séquence d'aminoacides, et donc la possibilité d'assigner correctement les espèces aux branches profondes de la phylogénie (Hebert et al. 2003a). Le choix du génome mitochondrial est justifié par le nombre élevé de copies par gène relativement aux gènes nucléaires ainsi que par l'absence de recombinaison due à la transmission uniparentale de la mitochondrie. Après une validation sur un large spectre de taxa, Hebert et ses collaborateurs ont montré un taux de divergence variable mais élevé entre les taxa pour la région de Folmer et qu'il permettait l'assignation correcte au niveau de l'espèce (Hebert et al. 2003b). Cependant, l'absence de divergence chez les Cnidaires (1%) ne permet pas de les diagnostiquer au-delà du genre (Hebert et al. 2003b). De même, un manque de résolution a également été montré chez d'autres groupes comme les plantes (Kress & Erickson 2007), les champignons (Blaalid et al. 2013) ou les amphibiens (Vences et al. 2005). Cela a conduit à faire évoluer le concept initial du barcoding et à autoriser plusieurs marqueurs standards selon les groupes taxonomiques.

D'autres limites au barcoding ont été notées, liées pour l'essentiel, aux spécificités du génome mitochondrial (Ballard & Whitlock 2004 ; Frézal & Leblois 2008) ou à la présence de bactéries endosymbiotiques comme *Wolbachia* chez certains groupes taxonomiques comme les arthropodes (Whitworth et al. 2007 ; Smith et al. 2012). Malgré cela le succès et les applications du barcoding ne font que grandir, et le développement récent des techniques de séquençage haut-débit permet d'ouvrir de nouvelles perspectives excitantes.

3.2) Extension de la définition de barcoding: métabarcoding

Le développement concomitant des technologies comme le séquençage parallèle en masse (voir l'Encadré 2) et la bioinformatique a permis de coupler approche barcoding et traitement des données écologiques haut-débit pour changer complétement l'échelle d'investigation (Valentini et al. 2009b). Il est désormais

possible de séquencer des échantillons environnementaux complexes contenant un mélange de plusieurs ADNs tels l'eau, le sol ou encore les contenus stomacaux d'une espèce et d'établir la liste complète des taxa présents. Cette approche a été définie dans la littérature scientifique comme métabarcoding (l'analyse haut-débit de plusieurs barcodes) ou barcoding environnemental. Le métabarcoding a permis de relâcher certaines des contraintes du barcoding *sensu* Hebert et al. (2003a) mais il a imposé de nouvelles contraintes (Valentini et al. 2009b). L'une des premières contraintes était de disposer d'amorces universelles versatiles, c'est-à-dire, capables d'amplifier une large gamme de groupes taxonomiques avec la même efficacité (Taberlet et al. 2012b). Pour concevoir de telles amorces, le premier critère de choix du marqueur moléculaire n'était plus la variabilité de la région amplifiée mais surtout la conservation des sites pour l'accrochage des amorces (Pompanon et al. 2012 ; Taberlet et al. 2012b). En effet, plus les sites sont conservés chez un grand nombre de taxa, plus la capacité de les amplifier avec la même probabilité est grande. Il est ainsi devenu évident que la région Folmer sur COI ne correspondait plus à ces critères (Valentini et al. 2009b). Et même si le choix de marqueur reste très dépendant du contexte de chaque étude, il est apparu que des gènes mitochondriaux comme 16S, avec un taux d'évolution plus lent que les gènes codant des protéines, étaient de bonnes cibles pour des marqueurs métabarcoding (Bienert et al. 2012 ; Pompanon et al. 2012). La deuxième contrainte majeure lorsque l'on analyse de l'ADN environnemental est son état généralement très dégradé et par conséquent la majorité des fragments d'ADN sont d'assez petite taille. Cela implique le choix d'une région à amplifier assez courte pour avoir accès à la majorité des espèces potentiellement présentes dans l'échantillon (Pompanon et al. 2012).

Encadré 2: Les nouvelles technologies de séquençage

L'émulation scientifique qui a accompagné le séquençage du génome humain dans les années 1990 ainsi que les avancées technologiques issues des connaissances en nanotechnologie et en bioinformatique ont largement poussé à l'innovation en termes de méthodes de séquençage. Ainsi, des progrès considérables ont permis de réduire le coût et le temps de séquençage en s'appuyant sur la miniaturisation et la mise en parallèle de plusieurs réactions dans des volumes restreints. La mise au point de la première technologie de séquençage parallèle en masse par Ronaghi et al. (1998), le pyroséquençage, a complétement modifié le paysage de la recherche sur le vivant. En effet, la capacité à générer plusieurs téraoctets de séquences en un seul passage au séquenceur pour un prix de plus en plus raisonnable (Special Issue Nature Biotechnology 2008) a ouvert des perspectives inespérées en termes de précision et d'échelle d'investigation. L'automatisation et le coût relativement faible par échantillon, permettent de générer de l'information avec une puissance statistique considérable (Kahvejian et al. 2008).

A l'heure actuelle, neuf technologies de séquençage haut-débit différentes sont disponibles, avec les avantages et les inconvénients liés au nombre et à la longueur des fragments d'ADN générés, au taux d'erreur par nucléotide, ou encore au coût par séquence. Les plateformes qui ont eu le plus de succès commercial sont 454 Life Sciences de Roche qui utilise la technologie de pyroséquençage, et Illumina qui développe la technologie de séquençage par synthèse (HiSeq, MiSeq). Les avantages majeurs de ces deux méthodologies sont, pour 454, la longueur importante des séquences générées (actuellement des fragments d'une longueur maximale de 1000pb) et, pour Illumina, le faible taux d'erreur par nucléotide (0,4% contre 1% pour 454) ainsi que le très grand nombre de séquences produites (25 millions pour une longueur de 300pb). Une comparaison très complète des différentes technologies, de leurs avantages et inconvénients, ainsi que de leurs applications est disponible dans la revue de Glenn (2011).

D'autres contraintes, plus dépendantes du modèle d'étude ou de la question, peuvent s'imposer comme, par exemple, le risque d'amplification de contaminations avec les amorces universelles ou encore la nécessité « d'étiqueter » les individus

(e.g. tagging) puisque la majorité des machines de séquençage haut-débit impliquent un mélange des échantillons (Pompanon et al. 2012).

L'approche métabarcoding a gagné rapidement en popularité dans la communauté scientifique et malgré la technicité de l'approche qui implique une certaine maîtrise des méthodes moléculaires et bioinformatiques, les études se sont multipliées. Les exemples qui ont marqué l'histoire de l'écologie moléculaire sont le séquençage de l'ADN d'amphibiens à partir des échantillons d'eau (Ficetola et al. 2008), l'amplification de l'ADN digéré de plantes dans les fèces de vertébrés et invertébrés (Valentini et al. 2009a), la reconstruction du régime alimentaire de vertébrés carnivores comme les otaries à fourrure (Deagle et al. 2009) ou encore la reconstruction de la biodiversité des alpages à partir de l'ADN du sol (Taberlet et al. 2012).

En conclusion, le barcoding (et par extension le métabarcoding) ont créé de façon plus ou moins directe une véritable effervescence scientifique en termes d'innovations méthodologiques et conceptuelles. L'intégration des approches moléculaires dans les différentes disciplines a permis leur interconnexion étroite et l'émergence de nouvelles dimensons pour la recherche. L'application de ces outils pour l'étude de la biodiversité semble donc très prometteuse et il paraît très pértinent de les appliquer également dans le cadre de cette thèse.

4) Modèle d'étude: la communauté des coléoptères carabiques en milieu agricole

4.1) Présentation générale et bilan des connaissances

La famille des Carabidae est l'une des plus diversifiées dans l'ordre des Coléoptères, avec 40 000 espèces à travers le monde (Lövei & Sunderland 1996). Cette diversité taxinomique, accompagnée d'une diversité des formes, des traits et des modes de vie a depuis longtemps fasciné les entomologistes. Ainsi, la bonne connaissance de leur taxonomie et phylogénie, de leurs distributions géographiques, de leurs stratégies de vie et de leurs adaptations, en fait un excellent modèle pour de nombreuses études en écologie. Outre la disponibilité de ce large spectre de connaissances, la très grande richesse spécifique au sein de la famille ainsi que les facilités de capture font des carabes un modèle de premier choix lorsque l'on aborde des questions de recherche à l'échelle de la communauté. Du point de vue appliqué,

les carabes délivrent potentiellement de nombreux services écologiques. Grâce à leurs exigences particulières en terme d'habitat et à leur réponse rapide aux variations des conditions environnementales les carabes sont de bons bioindicateurs (Lövei & Sunderland 1996; Rainio & Niemelä 2003). De nombreuses espèces sont également suspectées d'être des agents de contrôle biologique importants (Lövei & Sunderland 1996; Kromp 1999; Kotze et al. 2011).
Dans le cadre de cette thèse, deux caractéristiques de ce modèle ont retenu notre attention: la très grande diversité taxinomique, accompagnée d'une diversité des traits de vie particulièrement en ce qui concerne l'alimentation, et le potentiel régulateur des carabes.

4.1.1) Généralités

Les coléoptères carabiques sont habituellement qualifiés dans la littérature d'espèces généralistes aux mœurs nocturnes, essentiellement inféodés au sol ('ground beetles'). Ce sont des insectes holométaboles possédant un stade larvaire de type campodeïforme. Le dépôt des œufs et le développement larvaire s'effectuent dans le sol, l'humidité étant le principal facteur limitant. Le développement pré-imaginal comporte trois stades larvaires et un stade nymphal. Les larves sont lucifuges et peu mobiles. La quantité de nourriture disponible à l'état larvaire est déterminante pour la taille à l'âge adulte. Le stade nymphal étant le plus vulnérable, il a lieu très profondément enfoui dans le sol.

4.1.2) Distribution et modes de vie

Les carabes ont une distribution mondiale et ils ont conquis presque tous les habitats terrestres depuis leur émergence au début du Tertiaire. Suite à l'expansion de l'agriculture, les carabes ont su s'adapter aux conditions de ce biotope particulier et les Carabidae sont aujourd'hui parmi les communautés les plus diversifiées et les plus abondantes dans les paysages agricoles. A une échelle locale, les carabes vivent principalement au sol et ils sont bien adaptés à la course et au mode de vie sous-terrain (Evans 1977; Desender et al. 1994). Ils peuvent occasionnellement explorer les différentes strates de la végétation à la recherche de nourriture (Chiverton 1987; Young 2008). Environ 30% des espèces tropicales sont adaptées au mode de vie arboricole (Stork 1987). Dans les paysages agricoles ouest-européens les espèces du genre *Calosoma* sont réputées pour leur comportement arboricole lors de la recherche de nourriture (Schaefer et al. 1996).

4.1.3) Cycles d'activité

En termes d'activité nycthémérale, les carabes peuvent être nocturnes, diurnes ou crépusculaires (Dennison & Hodkinson 1984). Toutefois ces rythmes peuvent varier selon le type d'habitat (Greenslade 1963), selon la période de l'année (Thiele 1977; Desender & van den Broeck 1985) ou en synchronie avec les rythmes d'activité des proies (Stork 1990). Pour certaines espèces, il peut même y avoir des différences d'activité nycthémérale entre les individus d'une même population (Thiele 1977) ou entre les adultes et les larves (Stork 1990).

L'existence d'une saisonnalité marquée en milieu tempéré impose généralement une coïncidence entre les pics d'activité des carabes et la période qui leur est favorable. Ainsi, en Europe les principales périodes d'activité se situent au printemps et à la fin de l'été. Ces pics d'activité sont essentiellement liés à la reproduction. Certaines espèces peuvent effectuer une diapause estivale. La majorité des espèces hiberne lors de la mauvaise saison. Les rythmes d'activité saisonniers sont généralement conditionnés par la longueur du jour (Telfer & Butterfield 2004). Il est d'usage de considérer les carabes comme des insectes univoltins, avec soit une reproduction printanière ('spring breeders'), soit une reproduction automnale ('autumn breeders') (Larsson 1939; Lindroth 1945). Cependant, cette typologie semble trop simpliste et des études montrent que les carabes peuvent présenter une très grande diversité de rythmes de reproduction. Il existe un continuum entre les reproducteurs de printemps et les reproducteurs d'automne, certaines espèces se reproduisant également l'hiver (Thiele 1977; den Boer & den Boer-Daanje 1990). Chez certaines espèces, les individus peuvent même hiberner au stade adulte et se reproduire une seconde fois la saison suivante (Gilbert 1956; Vlijm et al. 1968; Schjøtz-Christensen 1968). Ainsi, les individus des deux générations peuvent co-exister dans le même habitat au cours de la même saison (Schjøtz-Christensen 1965, 1966; Stork 1990; Matalin 1997a; 1998). Chez d'autres espèces, le développement peut nécessiter plus d'un an, ainsi passent-ils l'hiver au stade adulte sans s'être reproduits au préalable (Kaufmann 1971; Davies 1972; Brandmayr & Zetto Brandmayr 1991; Matalin 2008).

Ce continuum de stratégies de reproduction peut être dynamique. La capacité d'ajustement physiologique de la durée et de la période de maturation sexuelle en fonction des contraintes environnementales ou de la disponibilité en ressources, semble expliquer cette variation dans les cycles d'activité saisonnière (Zangger et al. 1994; Desender et al. 1994). Cette variabilité peut avoir des conséquences sur le nombre de générations par an, et parfois sur la longévité des individus (Lövei & Sunderland 1996; Telfer & Butterfield 2004).

4.1.4) Dispersion

Les carabes se déplacent essentiellement au sol mais de nombreuses espèces sont également aptes au vol. L'aplatissement dorso-ventral du corps et l'adaptation des muscles des pattes permettent aux carabes de se déplacer rapidement aussi bien à la surface du sol que sous terre (Evans & Forsythe 1984; Desender et al. 1994). Des mesures par radar harmonique chez quatre espèces de taille moyenne indiquent que les carabes sont capables de parcourir en moyenne entre 2 et 6,5 m/heure, selon les espèces (Wallin & Ekbom 1988). L'état de satiété semble influencer la mobilité différentiellement entre les sexes, avec des femelles rassasiées moins mobiles (Szyszko et al. 2004). Cette caractéristique pourrait avoir des implications en termes de sex-ratios dans les captures lorsque les carabes sont échantillonnés par des pièges de type Barber.

La dispersion par le vol chez les carabes est généralement admise et l'aptitude au vol est l'un des traits les plus étudiés chez les carabes. La présence d'un polymorphisme alaire chez certaines espèces suggère l'existence d'une pression de sélection sur ce trait. Darwin a été le premier à considérer la valeur adaptative du dimorphisme alaire chez les carabes des milieux insulaires. Il a noté que la proportion d'individus sans ailes (brachyptères) était particulièrement élevée dans les îles (Darwin 1859). Il en a déduit qu'il s'agissait d'une adaptation locale permettant d'éviter les risques de s'envoler au large avec la force des vents. D'autres études ont démontré que ce type de sélection peut également s'opérer dans les milieux fortement perturbés ou instables (den Boer et al. 1980) ou lorsqu'une espèce est introduite dans un nouveau milieu (Niemelä & Spence 1991). Dans ces cas, c'est la proportion d'individus ailés (macroptères) qui s'accroît, permettant aux individus de disperser vers des habitats plus favorables ou de coloniser de nouveaux environnements. Il a été noté qu'avec la stabilisation du milieu ou le vieillissement des populations, la proportion d'individus macroptères tendait à décroître (Niemelä & Spence 1991).

L'aptitude au vol chez les carabes semble résulter d'une interaction complexe et dynamique entre la physiologie des espèces, les conditions environnementales et le mode de transmission des caractères liés au vol. Par exemple, des observations montrent que des individus macroptères sont inaptes au vol car dépourvus de muscles alaires fonctionnels (Desender 2000). Au contraire, des individus possédant des ailes vestigiales peuvent voler dès lors qu'ils possèdent des muscles alaires fonctionnels (Desender 2000). L'atrophie et la synthèse de ces muscles sont très variables au cours de la vie d'un individu. Cette variabilité semble dépendre des

compromis entre coûts et bénéfices pour la production des muscles (Darlington 1943), les conditions abiotiques (Huizen 1979, 1990; Aukema 1991) ou le statut reproducteur des individus (Huizen 1990).
Les processus régissant la capacité de dispersion chez les carabes ne sont pas complètement élucidés. Dans ce cadre, il serait intéressant de comprendre les effets des forces sélectives potentiellement exercées par l'intensification agricole sur la dispersion et la dynamique des communautés.

4.1.5) Ecologie trophique

L'histoire de l'écologie trophique des carabes débute dès le 19ème siècle avec les travaux de Forbes (1883). Il montrait déjà à l'époque que les pucerons faisaient partie de l'alimentation des carabes. Depuis, les études sur le régime alimentaire ont embrassé une diversité d'approches : observation directe, dissection de contenus stomacaux, tests de choix alimentaires en laboratoire, détection de proies cibles avec des anticorps spécifiques par des tests ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) ou marquage isotopique des proies (pour une revue voir Sunderland et al. 1987; Symondson et al. 2002). Plus récemment, le développement d'outils moléculaires comme la PCR (Polymerase Chain Reaction) diagnostique ou le barcoding a permis d'appliquer avec succès ces techniques au modèle carabe (Zaidi et al. 1999; von Berg et al. 2008 ; King et al. 2010).
D'une manière générale les carabes sont caractérisés par une grande diversité d'adaptations morphologiques et comportementales en lien avec l'alimentation. L'exemple le plus connu est celui des espèces dites spécialistes des collemboles dont les adaptations morphologiques et les stratégies de chasse sont fascinantes (Bauer 1979 ; Bauer 1986). D'autres exemples incluent les espèces du genre *Carabus*, plus ou moins spécialisées dans la prédation des gastéropodes terrestres (Giglio et al. 2011) et les espèces myrmécophiles de la tribu des Paussini (Nagel 1979b; Di Giulio & Moore 2004; Moore & Di Giulio 2006). Des études récentes ont montré des adaptations très originales chez les carabes du genre *Epomis*, spécialisés dans la consommation d'amphibiens (Elron et al. 2007 ; Wizen & Gasith 2011). Toutefois les véritables spécialistes en termes d'alimentation chez les carabes sont rares et ils appartiennent généralement à des groupes phylogénétiques particuliers (Hengeveld 1980a ; Lövei & Sunderland 1996; Kotze et al. 2011). La plupart des carabes sont polyphages et ils semblent très plastiques dans l'ajustement de leurs choix alimentaires. D'après la littérature, le spectre alimentaire des carabes peut être très large : ils sont capables de consommer aussi bien des

proies végétales qu'animales et de tous stades de développement (œufs, larves, adultes) (Hengeveld 1980; Pollet & Desender 1987; Sunderland et al. 1995). De nombreuses espèces peuvent consommer des insectes ravageurs (revu dans Kromp 1999) ou des graines de mauvaises herbes (Lund & Turpin 1977; Honek et al. 2003). D'autres espèces peuvent occasionner des dégâts sur certaines plantes cultivées (Bassett 1978; Luff 1980).

Les stades larvaires ont généralement un spectre alimentaire plus restreint que les adultes et il semble que leurs exigences écologiques déterminent la distribution des espèces (Lövei & Sunderland 1996).

Certaines études suggèrent que les choix alimentaires dépendent de l'affiliation taxinomique des carabes, ou de leurs proies (Kotze et al. 2011). Par exemple, il a été montré par des expériences de choix que les espèces de la tribu des Zabrini consommaient systématiquement des graines du genre *Taraxacum*, tandis que les espèces de la tribu des Harpalini avaient une préférence nette pour des graines des genres *Cirsium* et *Viola* (Honek et al. 2007). Cependant, cela a été montré uniquement dans le cas de la granivorie, et il serait intéressant d'étendre les investigations sur d'autres groupes comme par exemple les espèces des genres *Notiophilus* ou *Loricera* considérées comme des spécialistes des collemboles pour comprendre mieux les effets des contraintes phylogénétiques sur le degré de spécialisation trophique chez les carabes.

Les carabes peuvent changer de régime selon la qualité et la disponibilité des proies (King et al. 2010 ; Birkhofer et al. 2011) ou selon les besoins physiologiques à des stades particuliers de leur développement (Sasakawa et al. 2010). La taille des carabes semble aussi influencer en partie le spectre alimentaire puisqu'il a été observé que seules les grosses espèces consommaient des proies de grande taille, alors que la taille minimale des proies restait identique quelle que soit l'espèce de carabe (Loreau 1983). Des travaux récents ont également suggéré une implication des bactéries symbiotiques intestinales dans le régime alimentaire chez les carabes (Lundgren & Lehman 2010). Le rôle d'autres processus comme le cannibalisme, particulièrement à l'état larvaire (Brunsting et al. 1986) ou la saprophagie (Lövei & Sunderland 1996) sur le spectre alimentaire, reste encore largement méconnu. Des cas d'ectoparasitoidisme des pupes d'autres coléoptères dont des carabes, ont été décrits récemment chez des espèces du genre *Brachinus*, très communes en milieu agricole (Saska & Honek 2004, 2005 ; Makarov & Bokhovko 2005). Ces découvertes laissent supposer une très grande complexité des stratégies alimentaires chez les carabes et que malgré le très grand nombre d'études dans le domaine, on est encore loin d'en connaître les déterminismes.

4.2) Comportement alimentaire et potentiel de régulation

L'alimentation est probablement le trait le plus étudié chez les carabes et cela a été essentiellement justifié par l'intérêt agronomique potentiel de ce groupe. Il a été effectivement démontré à plusieurs reprises que les carabes peuvent consommer et réguler plusieurs espèces de ravageurs ou plantes adventices, dans différents systèmes de production agricole (Larochelle 1990 ; Kromp 1999; Holland 2002 ; Symondson et al. 2002 ; Honek et al. 2007). Malgré cela, il n'existe toujours pas de véritable consensus quant à la contribution réelle des carabiques au service de contrôle biologique. La raison principale est que la plupart des études se sont essentiellement consacrées à des choix alimentaires en laboratoire (Symondson 2002), situation dans laquelle on ne peut mimer ni la complexité de l'environnement ni la réelle diversité de proies accessibles. Le peu d'études menées en conditions naturelles concernent essentiellement des expériences de mésocosmes (von Berg et al. 2012) ou la recherche de proies spécifiques chez plusieurs espèces de carabes (DuDevoir & Reeves 1990 ; Crook & Solomon 1996). Et même si avec ces approches le système d'étude reste moins perturbé, la vision de la dynamique spatio-temporelle du comportement alimentaire et desinteractions entre espèces est très limitée.

L'absence d'études du régime alimentaire sans *a priori* chez les carabes s'explique surtout par leur comportement alimentaire opportuniste et par la grande plasticité de leurs choix alimentaires (Symondson et al. 2002). L'absence aussi d'une méthode automatisée et précise pour l'étude du régime alimentaire, a également freiné les progrès dans ce domaine. L'avènement des nouvelles technologies moléculaires a cependant tout le potentiel pour combler ce vide méthodologique en écologie trophique et de permettre des études sans *a priori* à une large échelle.

4.3) Coexistence et interactions interspécifiques

Malgré leur plasticité apparente, les communautés de carabes en milieu agricole partagent un très grand nombre de traits et d'exigences écologiques. Ceci amène à s'interroger sur les principes généraux expliquant leur coexistence, d'autant plus que plus de cent espèces peuvent se retrouvent dans les mêmes parcelles agricoles rien qu'à l'échelle d'une saison (Roger et al. 2012). Malheureusement, la plupart des études à l'échelle des assemblages de carabes consistent en des simples discriptions de la richesse et des abondances des espèces piègées et il y a rarement

de recherche de patrons généraux pouvant expliquer les associations d'espèces (mais voir Southwood 1978). Le seul mécanisme un peu plus étudié est la compétition interspécifique en tant que facteur déterminant la co-occurrence des espèces (revu par Niemelä 1993). Cependant, les investgations se sont essentiellement concentrées sur des associations d'espèces deux à deux, souvent en milieu forestier et la moitié des études n'ont pas réussi à démontrer l'existence de compétition entre carabes. En conclusion, il n'y a pas de consensus quant à la contribution de la compétition à la coexistence des espèces et d'autres mécanismes non jamais étaient explorés. Or, connaître les facteurs déterminant les associations entre espèces est non seulement une question scientifique majeure. Selon la prépondérance des différents processus (détérministes comme la compétition pour la ressource versus stochastiques), il serait possible de prédire l'impact sur la performance des carabes en tant qu'auxiliaires des cultures. Cela permettra aussi de concevoir des stratégies de gestion manipulant les déterminismes des associations entre espèces pour favoriser les assemblages ou les espèces les plus performantes en termes de potentiel régulateur.

En conclusion, la diversité et l'originalité des traits de vie chez les carabes suscitent un vif intérêt de la part de la communauté scientifique et beaucoup de mécanismes sont loin d'être élucidés. Dans le cadre de cette thèse deux points particulièrement semblent intéressants à explorer : les traits liés à l'alimentation des carabes et leur potentiel de régulateurs. D'une part, élucider le régime alimentaire de la communauté de carabes et ses variations spatio-temporelles est un pré-requis indispensable pour évaluer leur contribution réelle en tant que auxiliaires des cultures. D'autre part, connaître les relations trophiques entre espèces peut nous éclairer sur les interactions directes et indirectes, synérgiques ou antagonistes au sein de la communauté afin de mieux prédire leur efficacité à réguler les ravageurs. De plus, explorer la diversité et la compléxite des interactions entre carabes permet d'enrichir nos connaissances théoriques sur les mécanismes à l'origine de la biodiversité et les relations entre biodiversité et fonctions écologiques. Aborder l'ensemble de ces questions implique forcément une démarche plus générale qui inclut à la fois l'adoption de nouvelles méthodes innovantes, comme les outils moléculaires mais également une diversification et une complémentarité des approches.

Les coléoptères carabiques semblent donc le modèle d'étude idéal dans le cadre de cette thèse car ils nous permettent d'aborder des questions à la fois théoriques et

appliquées, à l'interface de plusieurs disciplines sur un sujet d'importance aussi bien scientifique que sociétale.

5) Objectifs de la thèse et démarche générale

Les études théoriques et empiriques sur la biodiversité s'accordent pour conclure qu'une approche systèmique prenant en compte l'ensemble des interactions entre espèces est indispensable pour comprendre les propriétés émergentes de ces réseaux d'interactions. Seule la compréhension globale des propriétés émergentes des réseaux d'interactions peut fournir le cadre nécessaire pour élaborer des règles prédictives quant à l'approvisionnement en fonctions écologiques. Pouvoir prédire l'approvisionnement en fonctions écologiques pour optimiser la productivité et la gestion durable des agro-écosystèmes est le principal enjeu de l'agriculture moderne. Enfin, l'élaboration d'une démarche systèmique pour l'étude des réseaux d'interactions doit se faire à l'interface de plusieurs disciplines.
Nous intégrons ici les concepts développés en écologie trophique, écologie des communautés, écologie comportementale et écologie moléculaire pour étudier le réseau d'interactions entre coleoptères carabiques et les facteurs déterminant leur contribution au contrôle biologique, dans un paysage agricole européen typique.

1) Dans un premier temps, nous nous sommes intéressés au régime alimentaire et aux relations trophiques entre espèces, ainsi qu'aux déterminismes de leurs variations spatio-temporelles. Nous avons combiné des approches moléculaires de type barcoding et séquençage haut-débit avec des analyses des ratios en isotopes stables du carbone et de l'azote pour caractériser le régime alimentaire à l'échelle de la communauté, dans deux types de grandes cultures, blé et colza. Nous avons émis l'hypothèse que malgré l'opportunisme apparent des carabes, il existe des différences en termes d'alimentation entre les espèces, et que ces différences sont déterminées non seulement par la ressource disponible (le type de culture) mais également par les interactions avec les autres espèces (compétition). Nous avons aussi émis l'hypothèse que selon le type de déterminisme, la fourniture de contrôle biologique sera impactée.
   Cette partie de la thèse est présentée dans les chapitres 1, 2 et 4. Dans un premier temps, nous avons réalisé une mise au point méthodologique afin d'adapter les outils moléculaires de barcoding et de séquençage haut-débit au modèle carabe. Ces résultats sont présentés dans le chapitre 1. L'analyse

des relations trophiques entre carabes par la méthode des isotopes stables est présentée dans le chapitre 2. L'analyse des relations trophiques entre carabes par la barcoding et séquençage haut-débit est présentée dans le chapitre 4.

2) Dans un deuxième temps, nous avons exploré les mécanismes à l'origine des différences trophiques entre espèces, en complétant les données de régime alimentaire par des observations comportementales au laboratoire et par des analyses des dynamiques spatio-temporelles des communautés de carabes dans plusieurs types de cultures. Nous avons émis l'hypothèse que la compétition pour la ressource entre espèces, conduit à un partitionnement de la ressource par un mécanisme de différentiation de niche. Nous spéculons que cette différentiation de niche peut être un facteur expliquant les niveaux de diversité observés au sein des communautés de carabes et qu'il pourrait être manipulé pour optimiser le potentiel régulateur des carabes. Les résultats de cette partie de la thèse sont présentés dans le chapitre 3 et dans l'annexe 1 de la thèse.

CHAPITRE 1 : Mise au point méthodologique pour la caractérisation moléculaire du régime alimentaire des coléoptères carabiques par séquençage haut-débit

Introduction

1) Présentation générale des méthodes pour l'étude du régime alimentaire en écologie

Dans un premier temps, nous présentons brièvement les avantages et les inconvénients des différentes méthodes utilisées pour étudier le régime alimentaire en écologie trophique. Ensuite, nous justifions le choix de méthode et nous en présentons les avantages et les contraintes méthodologiques associées. A la fin, nous exposons notre démarche de travail et les résultats que nous avons obtenus.

1.1) Les méthodes classiques

Etablir avec précision les interactions trophiques entre espèces à l'échelle de la communauté reste l'un des défis majeurs en écologie aujourd'hui. En effet, les méthodes directes d'évaluation du régime alimentaire restent complexes et généralement coûteuses en temps. L'approche la plus simple pour étudier la diète d'un organisme consiste à observer directement sur le terrain son comportement alimentaire. Toutefois, selon le type d'organisme et le milieu dans lequel il vit, l'approche par observation directe n'est pas toujours applicable et elle implique souvent une perturbation du système d'étude (Symondson 2002). L'observation directe s'est avérée très utile pour l'étude du régime alimentaire des grands mammifères carnivores par exemple (Mills 1992; Hayward et al. 2009) mais sa portée reste limitée en dehors des groupes taxonomiques dont l'observation est aisée.

L'approche par détermination microscopique des restes de proies dans les contenus stomacaux ou les fèces des organismes a été appliquée avec succès dans des clades variés. Le principe consiste à identifier à partir des restes non digérées, les proies consommées. Dans certains cas, cette approche peut fournir une estimation quantitative des proies ingérées si des parties non ambigües d'un organisme peuvent être dénombrées comme les otolithes des poissons ou les capsules

céphaliques de certains arthropodes (Symondson 2002). Ainsi, cette approche a permis d'acquérir des informations précieuses sur l'écologie trophique d'un nombre varié d'organismes comme les reptiles (Pizzatto et al. 2009), les mammifères (Elmhagen et al. 2000), les oiseaux (Ewins et al. 1994) ou les invertébrés (Sunderland 1975; Bo et al. 2011). Néanmoins, cette méthode rencontre rapidement ses limites pour des organismes dont le type d'alimentation produit peu de fragments reconnaissables, comme par exemple chez un très grand nombre d'arthropodes. Cette méthode est aussi coûteuse en temps, en investissement pour l'apprentissage et souvent peu résolutive quant au niveau taxonomique des proies identifiées. En effet, l'examen microscopique des proies dégradées permet souvent au mieux l'identification au niveau de la famille, rarement au niveau du genre et presque jamais au niveau de l'espèce (Hengeveld 1980; Loreau 1983).
Suite à ces constatations, le recours aux techniques biochimiques et moléculaires pour la caractérisation du régime alimentaire qui ont connu un grand essor ces dernières années (Traugott et al. 2013) semble pleinement justifié.

1.2) Les méthodes moléculaires

1.2.1) Techniques biochimiques et immunologiques

La toute première technique de ce type ayant été employée reposait sur la précipitation de protéines spécifiques d'une proie d'intérêt (Brooke & Proske 1946) ou la migration enzymatique en électrophorèse (Walton et al. 1990). Ces techniques ont été ensuite supplantées par le développement de la méthode immuno-enzymatique (enzyme-linked immunosorbent assay ou ELISA) garantissant une meilleure spécificité aux proies-cibles et une sensibilité beaucoup plus grande aux faibles concentrations de ces mêmes proies dans le contenu stomacal (Fichter & Stephen 1981; Ragsdale et al.1981; Greenstone & Morgan 1989). Le succès de l'approche ELISA a permis des progrès considérables dans la description de relations trophiques particulières comme la consommation de pucerons par les ennemis naturels (Sunderland et al. 1987) ou la prédation des différents stades de développement du lépidoptère ravageur *Heliothis zea* (Greenstone & Morgan 1989). Cependant, l'approche multi-spécifique et sans *a priori* de l'étude du régime alimentaire restait hors de la portée de la méthode ELISA en raison notamment du coût et du temps nécessaires à la fabrication des anticorps spécifiques. De plus,

l'approche ELISA implique une connaissance préalable du spectre des proies consommées par l'organisme d'intérêt.

1.2.2) Techniques d'amplification par PCR

Le développement des techniques d'amplification d'ADN par la réaction en chaîne par polymérase (polymerase chain reaction ou PCR) à partir des années 1990, a résolu certaines des contraintes énumérées ci-dessus (Agustí et al. 1999; Zaidi et al. 1999). En effet, la découverte de la PCR, le développement et la popularisation des techniques de séquençage ainsi que l'enrichissement progressif des bases de données de séquences ont permis aux écologistes d'aborder l'étude de l'écologie trophique d'un très large spectre d'organismes pour des stades de développement ou des modes de vie variés (Gariepy et al. 2007; King et al. 2008; Schill et al. 2011; Pompanon et al. 2012) avec une liberté, inconcevable avec les méthodes antérieures. Les progrès technologiques, notamment en termes de séquençage de masse et la réduction de leur coût, ont permis de généraliser les domaines d'application et la portée des méthodes basées sur l'amplification de l'ADN. Actuellement, c'est la méthode par excellence pour l'étude des relations trophiques en conditions naturelles.

Le principe consiste en l'amplification par PCR avec un jeu d'amorces spécifiques (PCR diagnostique) ou universelles (barcoding moléculaire) de courts fragments d'ADN résiduel à partir d'échantillons environnementaux (e.g. contenus stomacaux, fèces, cadavres, ou dans le cas des parasites, un échantillon de tissu de l'hôte infecté). Les fragments d'ADN ainsi amplifiés peuvent être visualisés par électrophorèse ou séquencés afin d'identifier l'appartenance taxinomique des proies-cibles. L'utilisation d'amorces spécifiques a été appliquée essentiellement à l'étude d'interactions de type un prédateur-une proie-cible (Chen et al. 2000; Symondson 2002). La mise au point récente de multiplexage de plusieurs paires d'amorces spécifiques en une seule réaction PCR offre maintenant la possibilité de s'intéresser à plusieurs proies à la fois (Sint et al. 2010; Traugott et al. 2013). Toutefois, l'utilisation d'une paire d'amorces spécifiques permet d'évaluer rapidement et à grande échelle le taux de parasitisme (Gariepy et al. 2005; Macfadyen et al. 2009) ou de consommation d'un ravageur-clé, par ses ennemis naturels (Harper et al. 2005). L'inconvénient majeur de l'approche par PCR diagnostique, comme pour les méthodes ELISA, résulte de la nécessité d'avoir des fortes connaissances *a priori* sur le système étudié. Du point de vue méthodologique, la présence d'amplifications non-spécifiques, constitue la principale difficulté des approches PCR diagnostique. A

la façon dont sont conçues les amorces actuellement, il semble difficile en effet de tester une paire d'amorces spécifiques sur l'ensemble du spectre d'organismes potentiellement amplifiables. Des amorces spécifiques, amplifiant des taxa autres que l'organisme ciblé, peuvent induire des biais dans l'estimation des liens trophiques surtout lorsque les amplicons ne sont pas séquencés après PCR.

La méthode de barcoding moléculaire est une alternative récente à la PCR diagnostique. Il s'agit dans ce cas d'amplifier par PCR un fragment d'ADN avec des amorces universelles, amplifiant un large spectre de taxa avec la même efficacité (Valentini et al. 2009b). L'intérêt majeur du barcoding moléculaire est de caractériser sans *a priori* les taxa présents dans le régime alimentaire d'un organisme. L'approche par barcoding moléculaire impose le séquençage des fragments d'ADN amplifiés pour s'assurer de leur identité. Cette approche a été appliquée avec succès à l'étude du réseau trophique pucerons-hyménoptères parasitoïdes en milieu agricole (Derocles et al. *submitted*). Néanmoins, cette approche est peu adaptée à l'étude des espèces généralistes qui peuvent ingérer simultanément plusieurs proies, souvent taxinomiquement éloignées. En effet, les séquenceurs classiques, de type Sanger, ne permettent pas de traiter des mélanges de plusieurs séquences d'ADN différentes dans le même échantillon. Le clonage dans des vecteurs bactériens (insertion d'un seul type de séquence par bactérie) et leur séquençage ultérieur permet de contourner ce problème mais la démarche est laborieuse (manipulation de colonies bactériennes en condition stériles, etc.) et les pertes de séquences lors du clonage sont fréquentes (Traugott et al. 2013). Le développement des technologies de séquençage parallèle en masse et leur couplage avec le barcoding moléculaire, ont apporté l'outil nécessaire pour aborder la complexité des interactions trophiques dans leur intégralité. Cette méthode, le métabarcoding, a déjà été appliquée avec succès à la description des régimes alimentaires du chamois (Rayé et al. 2011), des otaries à fourrure (Deagle et al. 2009), des chauves-souris (Razgour et al. 2011), du chat-léopard (Shehzad et al. 2012) et tout récemment des poissons des récifs coraliens (Leray et al. 2013).

Néanmoins, deux problèmes méthodologiques majeurs entravent la généralisation du barcoding moléculaire haut-débit dans le cadre de l'écologie trophique:

i) l'amplification non-contrôlée de l'ADN du prédateur dans le cas d'une proximité phylogénétique entre le prédateur et ses proies.

ii) l'universalité réelle des amorces et l'éventuelle amplification préférentielle de certains groupes taxonomiques parmi les espèces proies.

i) Les approches moléculaires haut-débit se sont d'abord portées sur la caractérisation des régimes herbivores (Valentini et al. 2009; Soininen et al. 2009; Rayé et al. 2011; Soininen et al. 2013) facilitée par l'éloignement phylogénétique important entre le prédateur et ses proies. Dans le cas d'une proximité taxinomique, les risques d'amplifier l'ADN de l'hôte, souvent de meilleure qualité que l'ADN partiellement digéré des proies, sont considérables (Shehzad et al. 2012; Piñol et al. 213). La prépondérance de l'ADN du prédateur qui entre en compétition avec l'ADN des proies lors des réactions de PCR, empêche l'amplification des séquences minoritaires biaisant éventuellement le spectre alimentaire (Shehzad et al. 2012). Pour résoudre cette difficulté méthodologique, plusieurs propositions ont émergé comme le blocage spécifique de l'ADN du prédateur (voir l'Encadré). Néanmoins, l'impossibilité de généraliser une méthode efficace pour palier l'amplification de l'ADN du prédateur freine encore l'application du barcoding moléculaire haut-débit sans *a priori* aux prédateurs généralistes (mais voir Piñol et al. 2013).

ii) Les amorces universelles sont des amorces qui amplifient un très large spectre d'organismes pouvant être phylogénétiquement très éloignés. C'est le principe même du barcoding tel qui a été proposé par Paul Hebert et ses amorces LCOI/HCOI conçues pour amplifier tout le règne animal (Hebert et al. 2003a). Le design des amorces universelles repose sur la recherche de régions d'ADN phylogénétiquement très conservés flanquant une région suffisamment variable pour permettre de distinguer même les clades très proches taxinomiquement. En métabarcoding, l'enjeu consiste à amplifier, à partir d'un mélange complexe d'ADN, et avec la même probabilité, toutes les séquences présentes dans l'échantillon pour éviter un biais de représentativité des espèces. L'identification de régions très conservées flanquant une région très variable est l'un des enjeux principaux de l'approche métabarcoding.

Encadré: Amorce de blocage

L'amplification de l'ADN du prédateur constitue une difficulté méthodologique majeure pour l'étude du régime alimentaire carnivore par les outils NGS (nouvelle génération de séquençage). En cas de proximité phylogénétique entre proies et prédateur, l'amplification par des amorces universelles entraîne l'amplification de l'ADN du prédateur simultanément avec l'ADN des proies (Deagle et al. 2005b; Jarman et al. 2006). Très souvent l'ADN du prédateur est amplifié préférentiellement, dès les premiers cycles de la PCR, compte tenu des faibles concentrations de l'ADN digéré des proies (Jarman et al. 2004, 2006; Green & Minz 2005). Parmi les nombreuses stratégies proposées pour limiter l'amplification de l'ADN du prédateur (Vestheim & Jarman 2008), l'utilisation d'amorce de blocage est la méthode la moins contraignante et la plus efficace pour empêcher spécifiquement l'amplification de l'ADN prédateur.

L'amorce de blocage est un oligonucléotide unique s'hybridant en 3', sur une partie de l'amorce universelle (en forward ou en reverse), mais également sur une partie de la séquence de l'ADN du prédateur de façon spécifique. La modification de l'amorce de blocage en 3' par une molécule de synthèse empêche ensuite l'élongation de l'ADN par la polymérase. La molécule de synthèse le plus communément utilisée est le C3-spacer grâce à sa grande stabilité face aux dégradations enzymatiques lors de la PCR (Vestheim & Jarman 2008). Il est généralement recommandé d'utiliser l'amorce de blocage en concentrations 10 à 20 fois supérieures à celles des amorces dessinées pour l'amplification de l'ADN des proies. Les amorces de blocage ont fait la preuve de leur utilité en écologie trophique: par exemple, Shehzad et al. (2012) ont démontré chez le chat-léopard qu'on pouvait passer d'une proportion de 91,6% d'ADN du prédateur amplifié en l'absence de blocage, à seulement 2,2% après blocage. Toutefois, les amorces de blocage ne sont pas applicables à tous les systèmes d'étude. Lorsque le prédateur et ses proies sont très proches phylogénétiquement, l'amplification de l'ADN proie peut également être bloquée, entraînant ainsi des biais dans l'estimation des liens trophiques.

2) Problématique générale et démarche méthodologique

Dans le cadre de cette thèse nous nous sommes confrontés à un double défi : développer une approche moléculaire par séquençage haut-débit afin de caractériser le régime alimentaire sans *a priori* de plusieurs espèces d'invertébrés prédateurs généralistes, prélevés sur le terrain. Le caractère innovant de l'approche et l'absence de références préalables sur les méthodes NGS appliquées à l'analyse du régime alimentaire des arthropodes a nécessité des travaux de mise au point préalables. Les étapes de mise au point, présentées dans ce chapitre se sont déroulées en collaboration avec Eric Coissac et Pierre Taberlet du Laboratoire d'Ecologie Alpine de Grenoble. Notre démarche a consisté en trois étapes, visant l'adaptation de la technique au modèle carabe. Cette démarche devait nous permettre d'identifier les difficultés et corriger les sources de biais avant de réaliser l'étude à une plus grande échelle.

1) Une revue exhaustive de la littérature afin de lister l'ensemble des groupes taxonomiques, potentiellement consommés par la communauté de carabiques.

2) Le choix ou le design d'amorces amplifiant la majorité des groupes taxinomiques, entrant dans l'alimentation des carabes.

3) La réalisation d'un séquençage haut-débit test sur des échantillons de carabes prélevés dans les champs agricoles.

2.1) Matériel & Méthode

1) Evaluation du spectre alimentaire de la communauté de carabiques

Nous avons en premier lieu établi à partir de la littérature disponible une liste des invertébrés et des plantes, les plus communs des payses agricoles français ou européens. Nous avons mis un accent particulier sur les espèces d'invertébrés nuisibles aux cultures et les plantes adventices mais ont été également incluses les espèces réputées auxiliaires des cultures ou d'autres espèces utiles comme les lombrics. Cette liste a été établie à partir de 10 ouvrages de référence et à partir de sites internet comme ACTA, OEPP ou SYNGENTA (la liste des ouvrages et les liens

vers les sites sont donnés dans l'annexe 1 de ce chapitre). En parallèle, et pour compléter la liste des proies potentielles, à partir de la littérature sur le régime alimentaire des carabes les plus communs dans les paysages agricoles européens, nous avons extrait les informations sur les familles de proies consommées. Nous avons également établi une liste des espèces de carabes les plus communs et le type de leur régime alimentaire (omnivore, phytophage ou carnivore), à chaque fois que l'information était disponible.

2) Choix et design des amorces

Pour assurer une large couverture taxonomique, nous avons décidé d'utiliser plusieurs couples d'amorces universelles permettant d'amplifier un large panel de proies potentielles. Pour cela deux jeux amorces universelles 16S dessinées au sein de l'UMR LECA, ont été retenues. Pour cibler les Annelides Oligochètes dans l'alimentation des carabes, nous avons utilisé les amorces ewB/E (produit d'amplification : 120pb, Bienert et al. 2010). Pour cibler les Arthropodes et les Mollusques dans l'alimentation des carabes, nous avons utilisé les amorces MAV (produit d'amplification : 37pb, de Barba et al. *in press*). Ces dernières amorces amplifient également les vertébrés. Pour cibler les plantes dans l'alimentation des carabes, nous avons adopté les amorces g/h amplifiant de façon universelle la P6 loop du gène chrloroplastique trnL chez les plantes (Taberlet et al. 2007).
Dans le cadre de cette étude, l'amplification des proies arthropodes consommées par les carabes avec des amorces universelles risquait d'entraîner une amplification significative voire préférentielle de l'ADN carabe. Pour pallier cet inconvénient, nous avons conçu une amorce, bloquant spécifiquement l'amplification des Carabidae avec les amorces MAV. Le principe d'une amorce de blocage est décrit dans l'encadré ci-dessous. Notre amorce de blocage a été dessinée selon la démarche décrite par Vestheim & Jarman (2008). Pour cela, nous avons collecté toutes les séquences de carabes potentiellement amplifiées *in silico* par MAV, et disponibles sur le site de l'EMBL (taxID 41073, taxonomie NCBI) et nous les avons alignées pour choisir une séquence, conservée chez le plus grand nombre d'espèces de carabes. Ensuite, nous avons réalisé une PCR *in silico* pour évaluer le nombre et la diversité des taxa, autres que les Carabidae pour lesquels une amplification, dans notre cas blocage (grâce au groupement alkyl spécifique rajouté en 3' lors de la synthèse de l'amorce) avait lieu. Parmi les amorces de blocage concues, nous avons choisi celle qui était la plus spécifique aux Carabidae. Ensuite, afin d'évaluer l'efficacité de l'amorce de blocage choisie mais aussi pour évaluer la proportion d'ADN carabe

amplifié sans blocage, nous avons réalisé pour les amorces MAV, des PCRs *in vitro* avec et sans amorces de blocage.

Pour compléter les jeux d'amorces choisis, nous avons également conçu une paire d'amorces spécifiques de la famille des Carabidae. Nous avons émis l'hypothèse qu'avec des amorces plus discriminatives au sein des carabes nous serions mieux à même de détecter des évènements de prédation intra-guilde, étant donné que la résolution des amorces MAV permet rarement l'identification au niveau spécifique (de Barba et al. *in press*). Pour cela, nous avons téléchargé tous les génomes mitochondriaux complets eucaryotes (taxID 2759, taxonomie NCBI) disponibles sur le site d'EMBL (release 107). A partir des séquences téléchargées, nous avons filtré toutes les séquences de Carabidae disponibles (taxID 41073, taxonomie NCBI) et recherché des régions conservées flanquant des régions de taille comprise entre 30 et 150pb. Une fois les amorces ainsi sélectionnées, nous avons réalisé une PCR *in silico* pour évaluer leur spécificité et leur couverture taxonomique. Pour cela, nous avons imposé une concordance parfaite entre les amorces et la séquence cible pour les deux derniers nucléotides en 3' et autorisé jusqu'à trois discordances entre amorces et séquence-cible pour le reste de la séquence. Ces amorces ont été appelées CACI-F et CACI-R.

Le design de l'amorce bloquante et du jeu d'amorces carabes, ont été réalisés avec les outils EcoPrimer et EcoPCR (Ficetola et al. 2010; Riaz et al. 2011).

3) Echantillonnage et séquençage haut-débit

Pour la première expérience-test, nous avons choisi de travailler sur les fèces des carabiques. Ce choix se justifiait d'une part par l'expérience déjà disponible au Laboratoire d'Ecologie Alpine, et d'autre part par le fait que les fèces présentaient l'avantage relatif de contenir une faible quantité de cellules-hôte limitant ainsi l'amplification de l'ADN du prédateur. De plus, l'adoption de cette approche permettait de nous fournir des échantillons de bonne qualité pour des analyses isotopiques complémentaires (carabes entiers avec le tube digestif vide).

Nous avons réalisé des piégeages dans six parcelles agricoles (3 parcelles de blé et 3 parcelles de colza) au sein de la zone-atelier 'Armorique', Ille-et-Vilaine, France (fig. 1a). Cet échantillonnage devait à la fois fournir des individus pour le séquençage-test mais également les espèces nécessaires pour mener l'étude à l'échelle de la communauté. Cela a nécessité d'échantillonner un très grand nombre d'individus vivants, représentatifs de la communauté et de collecter leurs fèces dans des conditions compatibles avec les techniques NGS (préserver la qualité de l'ADN,

minimiser les sources de contaminations). Les individus ont été capturés vivants dans des pots-pièges enterrés au ras du sol, sans liquide conservateur. Pour minimiser la digestion ou la défécation, ainsi que la prédation dans les pots-pièges, ils ont été relevés toutes les 24h, six fois consécutives entre le 11 mai et le 06 juin 2011. Nous avons disposé une moyenne de 44 pots-pièges par parcelle afin de maximiser les captures. Les individus collectés ont été lavés à l'eau Milli-Q ultra pure, identifiés à l'espèce et placés dans des tubes de type Eppendorf pour défécation. Les tubes ont été adaptés à la taille des espèces, allant de volumes de 0,2ml pour les espèces de taille 2,5 - 4,5mm, à des volumes de 10ml pour les espèces mesurant 30-40mm. Le couvercle de chaque tube a été percé pour permettre la respiration des carabes. L'ensemble des individus a été placé dans une chambre climatique à 25°C. Après défécation, les individus ont été retirés des tubes et congelés à -20°C. Les tubes contenant les fèces ont été conservés à température ambiante avec du silica-gel pour éviter l'humidification des échantillons et la dégradation ultérieure de l'ADN. Pour le séquençage-test, nous avons sélectionné 12 individus des trois espèces de carabes les plus abondantes dans les captures et présentant des régimes alimentaires contrastés d'après la littérature : *Pterostichus melanarius* avec un régime plutôt omnivore, *Poecilus cupreus* avec un régime plutôt carnivore et *Amara similata* avec un régime plutôt phytophage. Tous les individus choisis pour cette expérience proviennent de la même parcelle de colza (fig. 1b) et ils ont été prélevés aléatoirement dans l'ensemble des individus de l'espèce, capturés à la même date (25 mai 2011). Au sein de ces trois espèces, nous avons comparé des échantillons individuels et des échantillons d'individus poolés avant et après PCR. La validité des données individuelles *vs* les données poolées avait pour objectif de nous renseigner sur la possibilité de mélanger plusieurs individus/espèce afin de réduire le coût et d'augmenter le débit pour l'analyse NGS du régime alimentaire à l'échelle de la communauté. Pour cela l'ADN de dix sur les douze individus pour chaque espèce ont été poolés après extraction (fig. 2a et 2b). Ce pool d'ADN (mix pré-PCR) a été traité comme un échantillon supplémentaire indépendant. Ensuite, nous avons réalisé des PCR indépendantes par amorce pour chacun des douze individus et le mix pré-PCR.

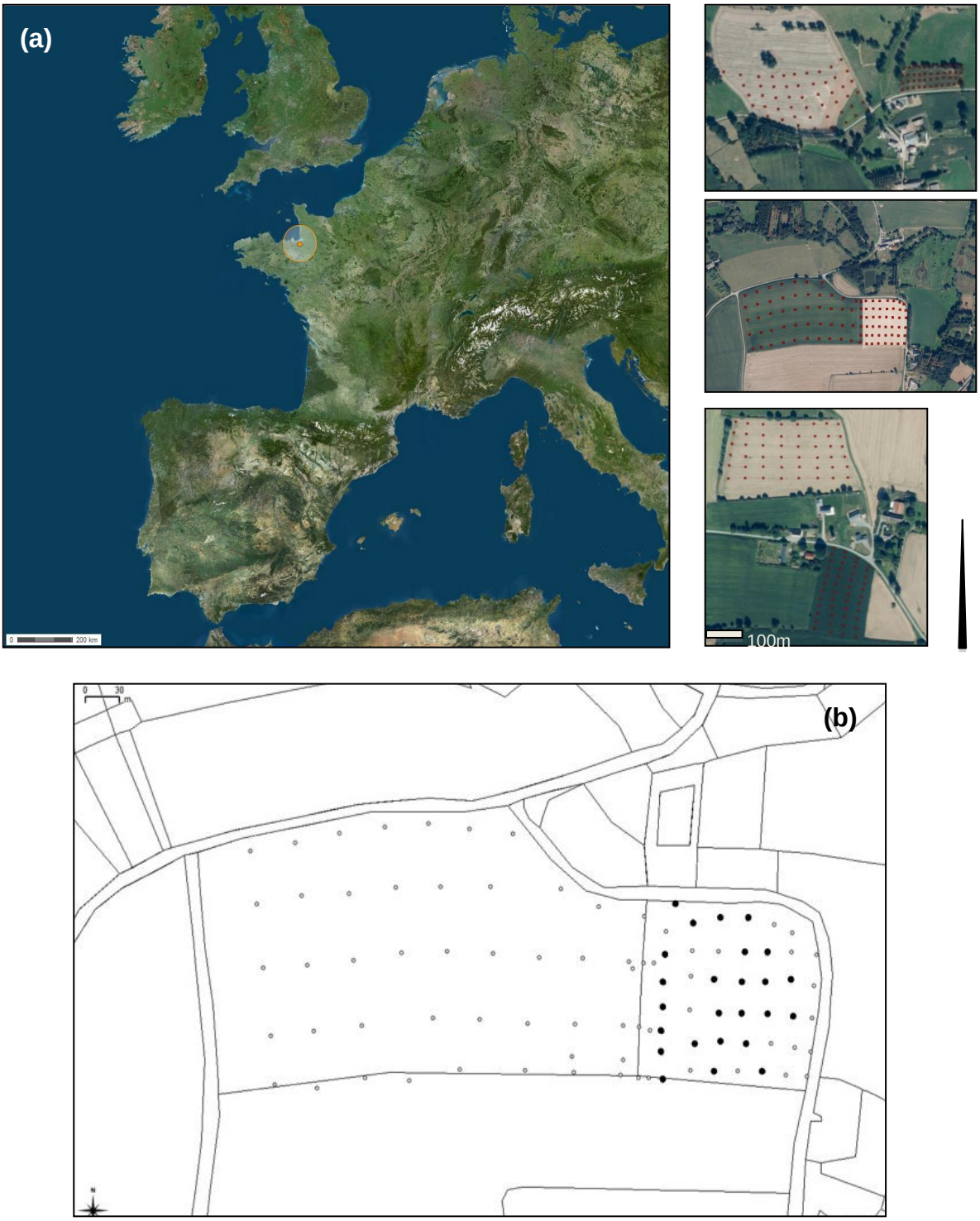


Figure 1. Présentation de la zone d'étude et localisation des 6 parcelles échantillonnées. (a) Localisation de la zone-atelier 'Armorique', Ille-et-Vilaine. Les parcelles ont été choisies aléatoirement, chaque couple est composé d'une parcelle de blé (grande) et de colza (petite). Les points rouges correspondent à l'emplacement des pots-pièges. (b) Les carabes séquencés dans cette étude ont été récoltés dans les pots-pièges en gras.

Lors des PCR, nous avons marqué individuellement chaque échantillon grâce à une courte séquence unique, tag, située en 5' de chaque amorce. Ce « marquage » s'impose car tous les échantillons sont mélangés avant séquençage. Nous avons utilisé une combinaison de tags différents en forward et en reverse. La taille des tags variait entre 7 et 9 nucléotides mais pour un même individu et pour les mêmes amorces, nous avons toujours combiné des tags de taille identique. Les douze individus et les mixes pré-PCR de chaque espèce ont été taggués individuellement. Après PCR, les individus qui ont servi pour préparer le pool pré-PCR ont été poolés de façon équimolaire, pour ne former qu'un seul échantillon avant le séquençage. Toutefois, grâce au tagging individuel lors de la PCR, les informations individuelles au sein de ce pool post-PCR, étaient gardées. Les deux individus sur les douze ont été traités comme des échantillons indépendants du début à la fin. Enfin, pour anticiper d'éventuelles erreurs lors des PCR et pour plus d'exhaustivité, nous avons réalisé trois répétitions PCR indépendantes pour chaque individu et pour chaque amorce, taggés individuellement aussi.

L'ADN des fèces a été extrait avec le kit Dneasy Blood & Tissue (Qiagen GmbH) selon le protocole fourni, par une digestion à la protéinase K de 2h à 56°C. Après extraction, l'ADN a été amplifié avec les quatre jeux d'amorces et avec et sans blocage pour MAV. Les amorces de blocage ont été utilisées en concentrations dix fois supérieures à celles des amorces forward et reverse MAV. Pour les amorces g/h, nous avons respecté les conditions PCR spécifiés dans Taberlet et al. (2007). En ce qui concerne les amorces ewB/E, MAV et CACI, nous avons respecté les conditions spécifiées dans Bienert et al. (2012) pour ewB/E, en modifiant seulement la température d'hybridation à 55°C pour MAV, et à 57°C pour les amorces Carabes. Les produits PCR ont été visualisés par migration en électrophorèse capillaire (Qiaxcel Advanced System, Qiagen GmbH). L'ADN amplifié a été ensuite purifié avec le kit QIAquick PCR Purification Kit (Qiagen GmbH), quantifié par dosage Nanodrop (ThermoScientific) et mélangé de façon équimolaire. Le séquençage a été réalisé au sein de l'UMR LECA, Grenoble, selon le protocole standard 454 GS fourni par Roche.

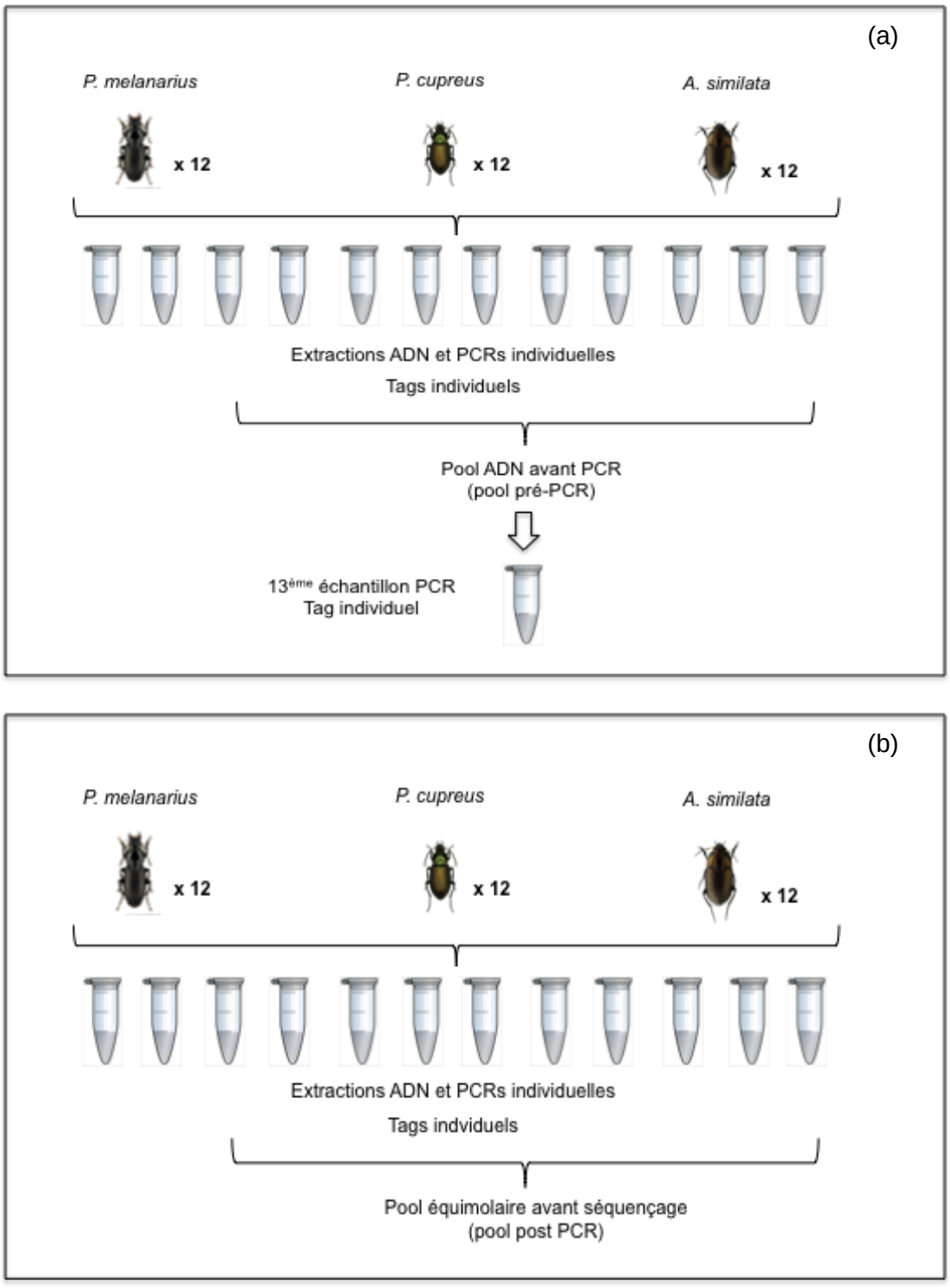


Figure 2. Représentation schématique de la démarche de pooling avant (a) et après (b) PCR de l'ADN extrait à partir des fèces des trois espèces de carabes. Douze individus par espèce ont été analysés.

2.2) Résultats

1) Evaluation du spectre alimentaire de la communauté de carabiques

Nous avons obtenu au total une liste de proies composée de 97 familles, classées dans 22 ordres (Tableau 1, annexe de ce chapitre), répartis entre les classes des Arachnides (Arthropoda), des Insectes (Arthropoda), des Myriapodes (Arthropoda), des Gastéropodes (Mollusca), des Secernentea (Nematoda) et des Clitellates (Annelida). Pour les plantes adventices, nous avons recensé 50 genres répartis dans 22 familles différentes (Tableau 2, annexe chapitre 1). Nous n'avons pas inclus dans cette liste les 3 genres de Conifères faisant partie de l'alimentation de certaines espèces de carabes d'après la littérature.
En ce qui concerne la typologie alimentaire des carabes, nous avons constitué une liste de 161 espèces de 38 genres différents, parmi lesquels 69 espèces sont très communes dans les paysages agricoles de l'Ouest de la France (Tableau 3, annexe chapitre 1).

2) Choix et design d'amorces

Les amorces ewB/E amplifient potentiellement 12 familles d'Annélides Oligochètes associés à la faune européenne commune du sol avec une efficacité identique grâce à la conservation des sites d'ancrage des amorces (90% des taxa, évaluation *in silico*, Bienert et al. 2010). Ensuite, ces amorces ont amplifié avec succès 100% des espèces et 93% (14/15 espèces) ont été identifiées au niveau spécifique sans aucune ambiguïté.
Les amorces MAV amplifient potentiellement 60% des genres pour les Arthropodes, les Mollusques et les Vertébrés (évaluation *in silico*, de Barba et al. 2013, *in press*).
Pour le design de l'amorce de blocage, 314 séquences 16S appartenant à 93 espèces de carabes, réparties en 19 genres ont été amplifiées par PCR *in silico* avec MAV. Après alignement, nous avions le choix de bloquer MAV soit en forward, soit en reverse. Nous avons testé les deux possibilités, en évaluant par PCR *in silico* le nombre de taxa différents potentiellement bloqués par chacune des deux amorces de blocage. En ce qui concerne les Carabidae, le blocage était aussi efficace en forward qu'en reverse. Le blocage s'appliquait à 100% des séquences de Carabidae mais également aux Cicindellidae et aux Dytiscidae avec aucune discordance entre amorce et séquence-cible, en forward et en reverse. Néanmoins, étaient bloquées

avec la même efficacité un certain nombre d'autres taxa, non-cibles et proies potentielles des carabes (Chrysomelidae, Curculionidae, Scarabaeidae) lorsque l'amorce bloquante reverse a été utilisée. Pour bloquer l'amplification de l'ADN carabe de façon plus spécifique, nous avons donc gardé uniquement l'amorce bloquante forward (*Block-F* CCAACATCGAGGTCGCAA).

260 mitochondries complètes de 128 espèces de Carabidae ont été téléchargées depuis le site de l'EMBL. Les régions, conservées en forward et en reverse chez le plus grand nombre de carabes, identifiées par ecoPrimer correspondaient au gène mitochondrial 16S, avec une conservation maximale chez 122 des 128 espèces disponibles. Les amorces Carabidae ont donc été dessinées à partir de ces deux régions 16S conservées. Après évaluation par PCR *in silico* sur les séquences disponibles sur GenBank, il s'avère qu'avec les amorces CACI, on discrimine au sein des Carabidae, 90% des genres (17/19) et 63% des espèces (79/126). Les séquences des amorces Carabidae sont *CACI-F* GCCAGGTCGGTTTCTATC et *CACI-R* GAATTCTAAATTCATTGCACTA.

3) Echantillonnage et séquençage haut-débit

Sur l'ensemble des six sessions d'échantillonnage et des six parcelles échantillonnées, nous avons collecté 4296 individus de 49 espèces différentes. Compte tenu du grand nombre de pot-pièges, les carabes ont été mis à déféquer en moyenne 5,2 jours après capture (entre 0 et 13 jours selon les dates et les parcelles). Néanmoins, la majorité des individus (>90%) ont produit des fèces dans les tubes. Les individus séquencés lors de l'expérience-test ont passé en moyenne 7,7 jours dans les pièges avant d'être mis à déféquer dans les tubes Eppendorf. Malgré cela, tous ces individus ont produit une quantité de fèces significative.

Suite à des problèmes techniques, seules les PCR produites avec les amorces g/h (plantes) ont pu être étiquetés (taggués) individuellement (12 individus/espèce + mix). Les produits PCR MAV avec et sans blocage ont été étiquetés avec les mêmes tags, de sorte que nous n'avons pas pu comparer l'efficacité du blocage de l'ADN carabe. Pour les produits PCR MAV, ewB/E et CACI, nous avons pu distinguer les informations uniquement pour les deux individus traités indépendamment et pour les deux mix.

Les deux runs de 454 GS Junior ont généré un total de 225 000 séquences brutes. Après les différentes étapes de traitement des séquences (décrites en détails dans le manuscrit d'article ci-dessous), nous avons obtenu 53 166 séquences avec les amorces MAV (Mollusques/Arthropodes), 23 713 séquences avec les amorces CACI

(Carabes) et uniquement 1571 séquences avec les amorces ewB/E (Annélides). Après BLAST, le nombre et la diversité des séquences ont considérablement diminués. Les résultats sont détaillés par type d'amorce. Etant donné le faible nombre de séquences par échantillon et pour faciliter les analyses, les trois répétitions techniques de PCR ont été regroupées ensemble.

a) MAV

Sur l'ensemble des 2261 variants de séquences MAV, seuls 20 étaient présents en plus de 20 exemplaires sur l'ensemble des échantillons (seulement 0,88% du nombre de séquences total). Sur les 20 séquences analysées, 18 ont produit des résultats de BLAST satisfaisant les paramètres d'identité (>95%), avec un nombre total de 22 532 séquences. Parmi ces séquences, 63% correspondaient à de l'ADN humain et de mammifères (Tableau 1a), vraisemblablement amplifiés du fait de l'universalité des amorces MAV. Les séquences ayant amplifié de l'ADN de carabes correspondaient à 18% du jeu de données. Le reste des séquences correspondait vraisemblablement à de l'ADN de proies consommées (Lycosidae, Linyphiidae, Diptères, Coléoptères autres que les carabes, Insectes). En termes de spécificité, la résolution MAV a permis dans certains cas de discriminer à l'espèce (*Trochosa ruricola* pour les Lycosidae et *Homo sapiens* avec 100% d'identité), dans d'autres cas à la famille (22%) et à l'ordre ou à l'embranchement pour la majorité. Aucune séquence de mollusques n'a été retrouvée dans les fèces des carabes. La longueur des séquences MAV était de 37pb à l'exception de deux séquences de taille 23 et 24pb.

Le nombre total de séquences MAV était équivalent pour les espèces *P. melanarius* (9000) et *P. cupreus* (8223), et un peu moindre en ce qui concerne *A. similata* (5428).

Parmi les échantillons, les séquences majoritaires correspondant à *Homo sapiens* étaient présentes dans les trois espèces de carabes. Les autres séquences de mammifères majoritaires (Bovidae) étaient uniquement présentes chez *P. melanarius*. Les séquences de l'espèce d'araignée *Trochosa ruricola* (Lycosidae) étaient uniquement présentes chez *Amara similata* (1300 séquences). Les autres séquences d'araignées (Lycosidae, Linyphiidae) étaient présentes chez *P. melanarius* et *P. cupreus* mais en nombre bien inférieur (entre 30 et 173 séquences au total). Des séquences de carabes (Adephaga sp) étaient présentes pour la majorité chez *P. cupreus* (3769 séquences). Trois autres variants minoritaires de séquences de carabes se répartissaient entre *P. melanarius* et *A. similata* (entre 22

et 115 séquences au total). Un très grand nombre de séquences (2453) d'un variant correspondant à un ou des Arthropodes non identifiés était présent chez *P. melanarius*. Le restant des séquences se répartissait entre espèces mais avec un faible nombre de séquences (entre 2 et 50 séquences au total). Le nombre total de séquences par échantillon était relativement équivalent entre mix avant et post PCR et entre individus isolés (Tableau 1a). L'un des individus de l'espèce *P. cupreus* contenait un très faible nombre de séquences comparé aux autres (268 contre 1000-2000).

Les séquences humaines étaient réparties de façon équivalente dans tous les échantillons, sans exception. Les séquences de Bovidae présentes chez *P. melanarius* étaient majoritairement présentes chez l'un des deux individus analysés en dehors des mix. Les séquences d'arthropodes majoritaires, présentes uniquement chez *P. melanarius* (2453 séquences), apparaissaient dans tous les échantillons de cette espèce (mix et individus séparés). Les séquences d'araignées chez *P. melanarius* étaient uniquement présentes dans les mix. Les séquences de carabes (Adephaga sp) retrouvées majoritairement chez *P. cupreus* étaient présentes dans les deux mix (avant et post PCR) et dans l'un des individus isolés mais pas dans le second. Ce deuxième individu, par ailleurs, ne contenait aucune autre séquence à l'exception de quelques séquences humaines. Chez *A. similata*, les séquences de *Trochosa ruricola* se retrouvent chez l'un des individus isolés et dans le mix avant PCR mais pas dans le mix après PCR.

Tableau 1a. Distribution des séquences amplifiées par MAV, par échantillon et par espèce de carabe. La colonne « taxon » correspond aux résultats de BLAST. PM : *P. melanarius* ; PC : *P. cupreus* ; AS : *A. similata* ; Ind 1 et Ind 2 : les individus analysés indépendamment. Mix ADN : mix pré-PCR ; Mix PCR : mix post-PCR.

taxon	nb total	PM	PC	AS	PM Mix ADN	PM Mix PCR	PM Ind 1	PM Ind 2	PC Mix ADN	PC Mix PCR	PC Ind 1	PC Ind2	AS Mix ADN	AS Mix PCR	AS Ind1	AS Ind2
Homo sapiens	11705	4166	3905	3634	827	1103	247	1989	17	1427	260	2201	1269	1177	974	214
Adephaga (Carabidae, Dytiscidae)	3773	2	3769	2	2	0	0	0	1730	1013	0	1026	2	0	0	0
Arthropoda	2453	2453	0	0	824	537	759	333	0	0	0	0	0	0	0	0
Bovidae (Ovis aries)	1991	1920	29	42	128	201	2	1589	0	28	0	1	5	11	26	0
Trochosa ruricola (Lycosidae)	1293	7	2	1284	0	7	0	0	0	2	0	0	620	0	0	664
Suidae (Sus spp)	229	0	117	112	0	0	0	0	0	11	0	106	1	95	16	0
Linyphiidae	180	173	7	0	127	46	0	0	0	0	0	7	0	0	0	0
Arthropoda (Heteroptera:Miridae; Acari)	175	0	175	0	0	0	0	0	0	175	0	0	0	0	0	0
Lycosidae	152	116	36	0	80	36	0	0	0	36	0	0	0	0	0	0
Adephaga (Carabidae, Dytiscidae)	118	3	0	115	2	1	0	0	0	0	0	0	85	22	6	2
Homo sapiens	89	0	11	78	0	0	0	0	1	10	0	0	53	25	0	0
Coleoptera	50	50	0	0	0	0	0	50	0	0	0	0	0	0	0	0
Arthropoda (Dytiscidae)	48	0	0	48	0	0	0	0	0	0	0	0	15	0	33	0
Insecta	43	3	0	40	3	0	0	0	0	0	0	0	9	31	0	0
Diptera	37	37	0	0	0	0	37	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Adephaga (Carabidae, Dytiscidae)	23	23	0	0	3	0	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Adephaga (Carabidae, Dytiscidae)	22	22	0	0	0	0	22	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Lycosidae	20	0	0	20	0	0	0	0	0	0	0	0	19	0	0	1

Tableau 1b. Distribution de des séquences amplifiées par CACI, par échantillon et par espèce de carabe.

taxon	nb total	PM	PC	AS	PM Ind1	PM Ind2	PM Mix ADN	M Mix PC	PC Ind1	PC Ind2	PC Mix ADN	C mix PCR	AS Ind1	AS Ind2	AS Mix ADN	AS Mix PCR
Pterostichini (Percus corsicus)	6352	0	0	6352	0	0	0	0	0	0	0	0	3019	2375	58	900
Bembidiini (Bembidion spp)	4115	4114	0	1	1250	839	940	1085	0	0	0	0	1	0	0	0
Bembidiini (Bembidion spp)	2279	0	2279	0	0	0	0	0	571	558	701	449	0	0	0	0
Harpalinae (Metius spp)	1455	0	0	1455	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1322	133
Carabidae	24	0	24	0	0	0	0	0	5	10	9	0	0	0	0	0
Pterostichini (Percus corsicus)	15	0	0	15	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	12

Tableau 1c. Distribution de des séquences amplifiées par CACI, par échantillon et par espèce de carabe.

taxon	nb total	PM	PC	AS	PM Ind1	PM Ind2	PM Mix ADN	PM Mix PCR	PC Ind1	PC Ind2	PC Mix ADN	PC Mix PCR	AS Ind1	AS Ind2	AS Mix ADN	AS Mix PCR
Pterostichus spp	198	0	0	198	0	0	0	0	0	0	0	0	21	63	47	67
Pterostichus spp	197	0	197	0	0	0	0	0	75	17	20	85	0	0	0	0
Pterostichus spp	81	81	0	0	8	48	21	4	0	0	0	0	0	0	0	0

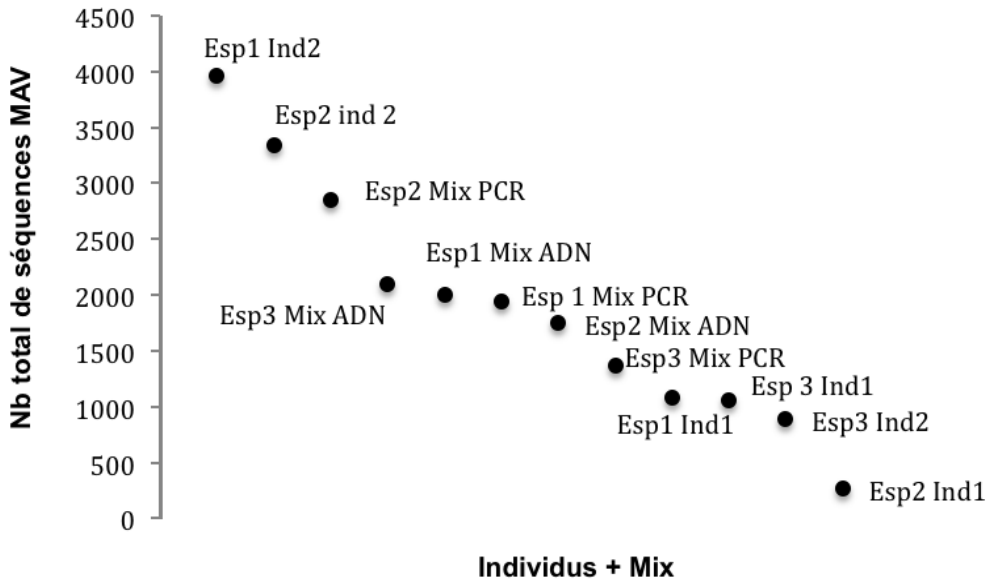


Figure 3. Le nombre de séquences amplifiées par les amorces MAV selon l'espèce et le type d'échantillon (individu ou mix pré- et post-PCR). Esp1 : *P.melanarius* ; Esp2 : *P.cupreus* ; Esp3 : *A.similata* ; Mix ADN = mix pré-PCR ; Mix PCR = mix post-PCR. Les échantillons ont été classés en ordre décroissant selon le nombre de séquences.

Les différents échantillons étaient très contrastés dans le nombre total de séquences qu'ils contenaient sans qu'un patron général ait pu être observé (Tableau 1a, fig. 3). Les individus indépendants et les mix (pré- et post-PCR) étaient très hétérogènes en termes de nombre des séquences (fig. 3).

b) CACI

Sur les 1272 variants, seuls 6 étaient représentés par plus de 15 séquences au total. Les scores de BLAST ont varié entre 94-99% d'identité et la résolution était au mieux à la tribu (Tableau 1b). Toutes les séquences ont été identifiées sans ambiguïté comme étant des Carabidae. Chacune des 4 séquences majoritaires (>1000 séquences) était présente chez seulement l'une des trois espèces, à l'exception de *A.similata* où deux variants majoritaires de séquences de Carabidae ont été trouvés. Toutefois aucune des séquences identifiées ne correspondait au genre de nos trois espèces, et dans le cas de *P. melanarius* et *P. cupreus*, la tribu ne correspondait pas non plus. Dans le cas de la deuxième séquence majoritaire chez *A. similata*, la tribu ne correspondait pas non plus. Ces séquences étaient présentes aussi bien dans les

individus isolés que dans les mix pré- et post-PCR. Le deuxième variant, abondant chez *A.similata* était présent uniquement dans les mix. Pour *P. melanarius* et *P. cupreus*, il n'y avait pas de différences notables entre mix et individus en termes de nombre de séquences. Pour *A. similata* deux à trois fois plus de séquences ont été trouvées dans les individus isolés par rapport aux mix.

c) ewB/E

Sur les 466 variants de séquences initiaux, seuls 3 contenaient un nombre de séquences significatif (entre 81 et 198). Après BLAST, il s'est avéré que les trois variants étaient identifiés comme des Carabidae (avec 91-98% d'identité, genre *Pterostichus* spp). Aucune séquence d'Annélides n'a été identifiée. Chaque variant était présent chez une seule des trois espèces (Tableau 1c). Les séquences étaient équitablement réparties entre mix et individus isolés.

En ce qui concerne les amorces g/h du gène trnL, les résultats et les conclusions sont présentés en fin de chapitre, sous forme d'article préparé pour soumission à la revue ZooKeys.

2.3) Discussion & Perspectives

La caractérisation du régime alimentaire à partir de fèces de carabes par séquençage haut-débit n'a pas donné les résultats espérés, du moins en ce qui concerne les proies animales. Les seules séquences relevant de consommation, semblent être les séquences de *Trochosa ruricola*, amplifiées chez un individu unique de l'espèce *Amara similata*. Outre le grand nombre de contaminations par de l'ADN humain, seules des séquences de Carabidae ont été identifiées dans les fèces. Ces séquences correspondaient à l'ADN du prédateur amplifié. Les raisons de cet échec résident probablement dans la mauvaise qualité des fèces utilisées. Il semble que malgré la quantité de déjections produites par les carabes, celles-ci ne contenaient pas ou contenaient peu d'ADN animal. L'absence d'ADN animal pourrait s'expliquer de deux façons : soit les fèces ne contenaient plus le bol digéré après 7 jours de jeûne dans les pots-pièges, soit l'ADN dans les fèces déposés a été très rapidement dégradé dans les conditions des chambres climatiques (forte lumière et 25°C).

Grâce à la littérature abondante sur les habitudes alimentaires chez les carabes, l'on dispose actuellement de nombreuses données sur la cinétique de digestion chez les espèces les plus communes (Greenstone et al. *in press*). Cependant, la dynamique de transit intestinal chez les carabes est un processus complexe et plusieurs variables peuvent intervenir dans la vitesse de digestion. Premièrement, les carabes comme tous les arthropodes sont des organismes ectothermes et la vitesse de leur métabolisme, dont la digestion, dépend directement de la température du milieu ambiant (Hagler & Naranjo 1997). Toutefois, selon l'espèce considérée, la relation entre vitesse de digestion et la température ne sera pas la même (von Berg et al. 2008a). De plus, des nombreux autres facteurs comme le sexe (Symondson et al. 1999b), la quantité de proies consommées (Symondson & Liddell 1995) ou encore l'état physiologique de l'individu (Symondson 2002) peuvent influencer la digestion chez les carabes. Malgré cela, une période de jeûne de sept jours comme dans le cas présent, dépassent largement les chiffres rapportées dans la littérature (moyennes de détection de l'ADN dans 50% des individus entre 7h et 89h avec les techniques PCR selon les études, chiffres résumés dans Greenstone et al. *in press*). Les fèces que nous avons observés chez les individus séquencés ont dû contenir essentiellement des métabolites des carabes mais pas de proies digérées (sauf vraisemblablement quelques exceptions dans lesquelles de l'ADN proie a été trouvé ou des séquences de plantes). Ces résultats n'impliquent pas pour autant que les fèces soient un choix inapproprié pour étudier le régime alimentaire chez les carabes. La seule alternative aux fèces est de travailler sur les contenus intestinaux mais les difficultés liées à leur manipulation et dissection, équivalent largement les difficultés de récolter les fèces en laboratoire. De plus, les fèces présentent l'avantage d'intégrer plusieurs repas et potentiellement refléter plus fidèlement la diversité des proies consommées. Il serait donc très intéressant d'évaluer la dynamique de digestion chez les carabes, non seulement pour apporter plus de clarté à nos résultats du séquençage-test mais également pour combler le vide méthodologique qui existe dans la littérature sur ces aspects du comportement alimentaire chez les carabes.

La deuxième difficulté que nous avons rencontrée lors de l'interprétation des résultats, concerne la faible précision taxonomique pour les amorces MAV et CACI.

Avec MAV la meilleure résolution était souvent au niveau de l'embranchement ou de l'ordre, et avec CACI, au niveau de la tribu. De plus il faut noter la mauvaise assignation taxonomique avec CACI. Cependant, ces résultats ne s'expliquent pas forcément par un mauvais choix des amorces. D'une part lorsque les séquences produites avec MAV, autres que les contaminations humaines étaient de mauvaise

qualité (scores d'alignement lors du BLAST très bas) suggérant qu'il peut s'agir de séquences-chimères ou des erreurs de PCR compte tenu des faibles concentrations d'ADN-cible. D'autre part, lorsque de l'ADN en quantité suffisante était présent, l'assignation taxonomique était souvent à l'espèce (*Homo sapiens* ou *Trochosa ruricola*) ou à la famille pour les séquences de mammifères. Cette précision était possible aussi parce que des séquences de référence étaient disponibles dans les bases de données. C'est justement l'absence de séquences de carabes 16S qui explique le manque de précision avec les amorces CACI. Ainsi, lorsque l'on compare les données de séquences disponibles pour 16S avec celles pour COI chez les carabes, on trouve 1257 espèces de 202 genres pour COI contre seulement 128 espèces pour 16S. De plus, sur les 19 genres disponibles en 16S, 7 correspondent à des données fossiles et seuls 4 des genres séquencés en 16S sont présents dans les paysages agricoles de l'ouest de la France. Cette situation nous place devant un véritable dilemme scientifique où les gènes les plus appropriés pour étudier l'ADN environnemental ne sont pas les plus étudiés par la communauté d'écologistes moléculaires. En effet, lorsqu'on utilise les approches de barcoding environnemental pour étudier la biodiversité dans des échantillons complexes comme les fèces, le plus important est de réduire au minimum les biais d'amplification différentielle entre espèces (Pompanon et al. 2012), si possible en utilisant une seule paire d'amorces universelles. Pour cela, les régions pour le design des amorces doivent être conservées chez tous les groupes taxonomiques visés (Taberlet et al. 2012). Cela implique le choix d'un marqueur génétique différent de COI proposé par le CBOL. En effet, les gènes ribosomiaux comme 16S sont mieux adaptés compte tenu de leur taux d'évolution plus lent comparé aux gènes codant des protéines, tels COI. Ainsi, les sites peu variables sont mieux conservés à travers l'arbre du vivant mais leur taux d'évolution reste suffisant pour permettre la séparation correcte même d'espèces phylogénétiquement très proches (e.g. Vences et al. 2005a, b). Une solution potentielle à ce problème est de constituer sa propre base de référence pour le gène d'intérêt (Pompanon et al. 2012). Or, il semble insurmontable de pouvoir référencer au préalable tous les organismes ciblés, particulièrement dans des groupes aussi diversifiés que les arthropodes. Et même si les progrès en termes d'automatisation et de coûts permettent de traiter les échantillons en haut-débit, on se heurte toujours aux limites imposées par l'identification taxonomique des spécimens. Non seulement le processus d'identification taxonomique nécessite du temps mais il manque des spécialistes pour un très grand nombre de groupes. Ainsi, l'enthousiasme suscité par les avancées spectaculaires des technologies est quelque peu freiné par les contraintes de la taxonomie. En attendant que les bases

de données se complètent, plusieurs approches alternatives sont envisageables. Par exemple, il est possible de remplacer les noms des différents organismes par des unités taxonomiquement opérationnelles (OTUs) dont l'on peut établir les relations de phylogénie. Cette approche est très populaire chez les microbiologistes pour lesquels le concept d'espèce est déjà une notion abstraite (Riesenfeld et al. 2004). Toutefois, les écologistes semblent encore relativement réfractaires à cette approche, même si cette réticence semble plus culturelle que liée aux limites de l'approche car elle a été appliquée avec succès à l'étude du régime alimentaire des chauves-souris (Bohmann et al. 2011 ; Razgour et al. 2011).

L'alternative est de changer notre vision actuelle en ce qui concerne les amorces universelles. Par soucis de coût et de temps, le design des amorces universelles a toujours été orienté vers un nombre réduit d'amorces amplifiant un grand nombre de taxa. Néanmoins, cette approche est non seulement difficile méthodologiquement (la manipulation de grands jeux de séquences, l'incomplétude des bases de données) mais surtout, elle est souvent inefficace, très peu de régions sont conservées de façon universelle dans l'arbre du vivant. Il semble plus pertinent d'investir des efforts dans le design de batteries d'amorces spécifiques à des groupes d'organismes plus restreints. Ces amorces peuvent être multiplexées en une seule réaction de PCR. Avec cette approche, il devient tout à fait envisageable de travailler sur des gènes comme COI. L'approche par PCR multiplexe semble prometteuse et même si elle n'a pas encore été appliquée dans le cadre des technologies NGS (mais voir de Barba et al. *in press*), son succès déjà dans le cadre des approches par PCR diagnostique est notable (Wallinger et al. 2012). La seule limite à la popularisation de la PCR multiplexe reste la difficulté d'ajuster les conditions de PCR pour chaque amorce afin d'éviter les différences d'efficacité entre les différents jeux d'amorces. Cette difficulté implique souvent des mises au point très longues

Avec ces constats, nous avons conclu qu'il serait intéressant de garder les amorces 16S, particulièrement MAV qui convient parfaitement à notre système d'étude. Seulement, en mesures de précaution et pour améliorer notre résolution taxonomique, nous avons décidé d'évaluer au préalable *in silico* tous les jeux d'amorces universelles, disponibles dans la littérature et correspondant à nos besoins, et de les comparer avec les performances *in silico* de MAV. Ensuite, choisir notre stratégie d'amplification sur la base de cette comparaison. Nous avons également décidé d'établir une base de référence COI et 16S pour les groupes taxonomiques les plus représentés dans notre zone d'étude.

En ce qui concerne ewE/B, nous ne pouvons pas conclure puisqu'aucune séquence-cible n'a été séquencée. Toutefois, les amorces Oligochètes discriminent assez bien

nos trois espèces de carabes et ils les assignent très correctement dans la tribu des Pterostichini. Cela suggère que d'une part ces amorces peuvent amplifier des taxa non-cibles dans des conditions particulières, d'autre part que ces amorces amplifient une région qui est au moins aussi discriminative que la région amplifiée par les amorces CACI (les scores de BLAST étaient largement équivalents avec une assignation plus juste pour les amorces ewE/B). Il nous semblait important toutefois de garder ce jeu d'amorces, non seulement parce qu'il a été déjà testé avec succès (Bienert et al. 2012) mais parce qu'il n'existe pas d'autres amorces universelles pour les Oligochètes. Or, des taxa comme les Lumbricidae ou les Enchytraeidae peuvent constituer une partie essentielle du régime alimentaire des Carabidae (Symondson 2002).

En ce qui concerne le blocage spécifique des Carabidae avec les amorces MAV, nous n'avons pas pu évaluer leur efficacité dans cette étude faute d'avoir pu taggé séparément les échantillons avec et sans blocage. La proportion d'ADN carabes (Adephaga) était considérable (18%) suggérant que même dans les fèces, l'ADN hôte est prépondérant. Dans notre cas, les proportions d'ADN carabe étaient d'autant plus exacerbées qu'il y avait très peu d'ADN proie. Par exemple, les échantillons dans lesquels des séquences de *T.ruricola* ont été amplifiées, ne contenaient pas de l'ADN carabe, suggérant que lorsque de l'ADN cible est présent dans des quantités significatives, l'amplification de l'ADN prédateur est quand même limitée. Toutefois, il faut noter qu'ily avait d'autres échantillons qui ne contenaient pas d'ADN de proies et qui ne contenaient pas de l'ADN carabe pour autant. Le blocage reste une décision délicate, encore plus quand des proies potentielles peuvent être bloquées aussi (Vestheim & Jarman 2008). De plus, le coût de la synthèse des amorces de blocage (à cause de la molécule C3) reste prohibitif si l'on envisage de mener des études avec plusieurs centaines d'échantillons indépendants vu que généralement l'amorce de blocage est utilisée en concentrations dix à vingt fois supérieures des concentrations des amorces. Des résultats récents ont également démontré la capacité d'identifier les proies consommées par un prédateur généraliste (l'araignée *Oedothorax fuscus*) sans bloquer spécifiquement l'amplification de son ADN (Piñol et al. 2013). Nous avons donc décidé de ne pas utiliser des amorces de blocage pour la suite de cette étude.

Il convient de mentionner ici le nombre important de séquences de mammifères que nous avons amplifiées. Ce résultat souligne à quel point il est facile de contaminer avec de l'ADN exogène et à quel point il est important d'anticiper les contaminations lorsque l'on utilise des amorces universelles. De telles contaminations peuvent non seulement saturer les PCR lorsque l'ADN source est en faibles concentrations, elles

peuvent également biaiser les résultats si les séquences contaminant sont proches taxonomiquement des proies ciblées. De récentes études confirment ces observations (King et al. 2012 ; O'Rorke et al. 2013) et proposent de protocoles appropriés pour les éviter (Greenstone et al. 2012 ; O'Rorke et al. 2013).

En ce qui concerne le pooling pré- et post-PCR, il semble difficile de tirer des conclusions avec le faible nombre de séquences animales que nous avons obtenues. Ces résultats sont discutés plus amplement dans le cas des plantes et dans le manuscrit d'article ci-dessous.

En conclusion, même si les résultats de cette étude n'ont pas été complètement à la hauteur des attentes en ce qui concerne le régime alimentaire des carabes ou certains points méthodologiques, l'expérience que nous avons acquise nous a permis de prendre du recul sur l'utilisation des outils moléculaires haut-débit et de les adapter au modèle carabe. Ainsi, nous avons pu appliquer avec succès cette méthode pour décrire le régime alimentaire de la communauté de carabes (Chapitre 4). Ce travail a également ouvert quelques perspectives méthodologiques comme la comparaison fèces-contenus stomacaux ou encore le pooling de plusieurs échantillons.

3) ARTICLE: Molecular high-throughput characterization of plant consumption in insect generalist predators

Stefaniya Kamenova[1,2], Eric Coissac[3], Pierre Taberlet[3], Christian Miquel[3], Bertrand Gauffre[1], Vincent Bretagnolle[1], Manuel Plantegenest[2]

1Centre d'Etudes Biologiques de Chizé, Villiers-en-Bois, 79360 Beauvoir-sur-Niort, France **2**INRA/Agrocampus Ouest/Université Rennes 1, Institut de Génétique, Environnement et Protection des Plantes (IGEPP), 65 rue de St-Brieuc, CS 84215, 35042 Rennes, France **3**Laboratoire d'Ecologie Alpine, CNRS UMR 5553, Université Joseph Fourier, BP 53, 38041 Grenoble Cedex 9, France

Corresponding author: *Stefaniya Kamenova* (stefaniya.kamenova@gmail.com)

Abstract

Promoting ecosystem services as biological control of pests by their natural enemies is a promising solution for a sustainable agriculture. Although, studies failed to evidence factors that govern the successful provision of biological control, especially in the case of generalist predators. The problem is we still have a fragmentary vision on diet spectrum and feeding behavior of these generalist auxiliaries because the description of interactions networks remained until recently hardly approachable. Today, the fast growing field of environmental genomics, thanks to new molecular technologies, as barcoding and next generation sequencing, opens exciting opportunities for studying trophic webs on a large scale. Ground beetles are a group of particular interest as they are suspected to play an important role in regulating pest populations in agricultural fields. However, their diet remains difficult to precise in the field, and their role as auxiliaries remains still controversial.

Here, we developed high-throughput sequencing approach in order to assess plant consumption in three common carabid species encountered in main crops of an agricultural landscape. We used the trnL chloroplastic universal primers for amplifying digested DNA in 36 individual carabid faeces. Data generated with the 454 pyrosequencing Roche technology revealed a large number of sequences assigned to Brassicaceae family suggesting that all three carabid species likely consumed cultivated plants especially oilseed rape. Other dominant plant families as Poaceae and Juncaceae, typical plants growing in field margins and wet meadows in the study area suggest a weed seed consumption and high mobility of the species. Methodological implications and impact on biological control are discussed.

Keywords: NGS, diet analysis, ground beetles, pyrosequencing, plant DNA, agriculture

Introduction

Ground beetles (Coleoptera: Carabidae) have long been considered as potentially useful auxiliaries for crop protection (e.g. Forbes 1883; Thiele 1977; Luff 1987). Indeed, significant body of literature has investigated pest suppression potential in carabid beetles by many various approaches (Symondson et al. 1999; Harper et al. 2006; von Berg et al. 2012) and tried to identify efficient management strategies for the enhancement of carabid populations in agricultural fields (Thomas et al. 1991; MacLeod et al. 2004; Bell et al. 2008). It has been demonstrated that carabids could contribute significantly to the regulation of aphids (Sunderland 1975; Griffiths et al. 2008), slugs (Symondson and Liddell, 1993; Bohan et al. 2000), coleopterans (Szendrei et al. 2010), dipterans (Finch and Elliot 1994; Prasad and Snyder 2004), lepidopterans (Riddick and Mills 1994; Monzó et al. 2011; Boreau de Roincé et al. 2012), and that this is consistent across various geographic areas. However, the carabid potential for pest regulation is largely unpredictable because of their generalist omnivorous feeding habits (Holland 2002; Symondson et al. 2002). In fact, their capacity to consume a large variety of preys results in complex trophic interferences in agricultural landscapes. Thus, for instance, the role of alternative preys (Frank et al. 2010; Renkema et al. 2012), or intraguild predation (Davey et al. 2013; Snyder and Wise 2001) diverting carabids from target pest species, has been demonstrated. Plant material could probably also be a valuable alternative resource for many carabid species considered as mostly carnivorous in literature. Indeed, several studies have showed that weed seeds constitute nutritious and available food source in arable lands (Frank et al. 2011; Honek et al. 2003) while, some insect preys, as aphids, have been found of low nutritional value for ground beetles (Bilde and Toft 1997). As a consequence, seed consumption by carabids could potentially disrupt biological control of pests. Many authors consider that seed-eating carabids regulate weeds' populations, still performing a useful ecosystem service in agricultural fields (Bohan et al. 2011; Brooks et al. 2012). However, the proportion and the diversity of plant material consumed by omnivorous carabid species in natural conditions have been rarely assessed, though previous studies suggest rather high proportions in some generalist species. For example, Pollet and

Desender (1985) reported consumption of plant material in almost 80% of gut contents of individuals of *P. melanarius*, a dominant omnivorous species in agricultural field. Hengeveld (1980b) pointed out the significant presence of plant material in the guts of all 24 species they examined. This lack of knowledge is mainly due to methodological constraints. Direct observations in the field are hard to carry out and rendered still more complicated by the nocturnal behavior of many species. Analysis of gut contents is confronted to the difficulty to accurately identify digested fragments of plant material. The fast-growing field of PCR-based techniques and especially the development of high-throughput sequencing technologies could help to resolve these methodological pitfalls. Indeed, it is nowadays possible to screen complex samples, often with a unique universal primer set (Soininen et al. 2009; Zeale et al. 2011). More and more studies have adopted molecular approaches for elucidating dietary breadth and trophic linkages in communities of generalist predators as carabid beetles (King et al. 2007; von Berg et al. 2012; Traugott et al. 2012; Davey et al. 2013). However, a high-throughput sequencing approach has never been adopted for invertebrate diet characterization until now (but see Piñol et al. 2013). The main difficulty lies in designing accurate universal primers for polyphagous predators with potentially diversified diet. Moreover, designing universal primers in plants is really challenging because of the lack of mitochondrial or plastid regions evolving as rapidly as mitochondrial DNA in animals (Chase et al. 2007). Consequently, there is still no general consensus on a standardized DNA region that could be used as a barcode in the way CO1 is used in animals (Chase et al. 2007; Taberlet et al. 2007; Fazekas et al. 2008; Hollingsworth et al. 2009). In diet characterization, it is essential to use strongly conserver primers in order to avoid differential amplification, potentially biasing prey proportions in the gut content (Taberlet et al. 2007). For this purpose the primer pair g/h amplifying the P6 loop variable region of the chloroplast trnL (UAA) intron is suitable (Taberlet et al. 2007). These primers are targeting a unique and short variable fragment from chloroplast DNA (10-143bp) and they have been already successfully used in several ecological studies (Jørgensen et al. 2012; Yoccoz et al. 2012), including diet analysis (Valentini et al. 2009a; Quéméré et al. 2013).

Here, we develop high-throughput sequencing approach to evaluate plant consumption in carabid beetles, targeting chloroplast trnL region with a unique set of universal primers. We focus on three carabid species, very common in typical European arable landscapes. We selected them because of their contrasting feeding habits according to literature. *Poecilus cupreus* was designated as mostly carnivorous generalist predator (Chiverton 1988), *Pterostichus melanarius* as

omnivorous generalist predator (Larochelle 1990) and *Amara similata* as plant feeder (Jørgensen and Toft 1997). We hypothesize that, depending on their diet preferences, they are not expected to consume plants in the same proportions. From methodological point of view, we evaluate the feasibility of next-generation sequencing technologies applied to the study of invertebrates' diet and we discuss the value of pooled individual samples by comparing individual data with data pooled before and after the PCR step. We hypothesized that if data of pooled samples reflect accurately individual information, pooling could be a valuable approach for reducing costs in large-scale metabarcoding studies.

Methods

Sample collection. Beetles from the three species were collected by pitfall traps in an oilseed rape field, situated in the LTER « Armorique », Brittany, France (48° 36′ N, 1° 32′ W). Traps were deployed and emptied 24h later on 24-25 May 2011, so that all individuals of the three carabid species were trapped at exactly the same date. Individuals were brought in the laboratory immediately after collection. To slow digestion rate and facilitate their manipulation, we placed living carabids in cold chamber (4°C) before sorting them individually in sterilized Eppendorf tubes for defecating. To avoid contamination, all individuals were first washed in ultra-pure Milli-Q water and dried on a clean absorbent paper. One tiny hole was made in every tube for providing fresh air. Beetles were placed in a climate chamber at 20°C (16L: 8D). After defecation, beetles were removed and freeze-killed, and faeces were stored in silica gel (Dominique Dutscher SAS). All beetles were identified to the species level.

DNA sequencing. DNA from individual faeces was individually extracted in Eppendorf tubes with the DNeasy Blood & Tissue Kit (Qiagen) according to manufacturers' instructions. To compare consistence of sequencing results on individual or pooled guts, we designed mixes of DNA before and after PCR. For this, we pooled 2µL of extraction products for ten of the twelve individuals in each species (before-PCR mixes). Thereafter, the twelve individuals for each species plus the mixes were tagged individually and PCR amplified independently. All PCR amplifications were performed with the trnL g and h primers (Taberlet et al. 2007) labeled with a 7 to 9 bp DNA tags to enable the identification of each sample after sequencing. PCRs were performed in a 25 µL final volume, using 1 µL of DNA as template in an amplification mixture containing 1.0 U Platinum® Taq High Fidelity

DNA Polymerase (Invitrogen), with 1x HiFi buffer, 5 mM MgSO4, 1 mM mixed dNTPs, 1 mg/mL bovine serum albumin (BSA) and 0.4 mM of each primer. 50 cycles per PCR were performed (4 min initial denaturation at 95 °C, 30s at 95°C, 30s at 50°C, and a final cycle at 72 °C for 10 min). One extraction- and one PCR blank control per plate were included. The PCR products were visualized on an automated capillary electrophoresis system (QIAxcel, Qiagen). All PCR products were purified using the MinElute PCR purification kit (QIAGEN GmbH). DNA quantification was carried out using the NanoDrop ND-1000 UV-Vis Spectrophotometer (NanoDrop Technologies). After the quantification step, PCR products from the same ten individuals were pooled in equimolar proportions before sequencing (post-PCR mix). For these samples, individual information was kept thanks to the unique tagging during the PCR step. For retrieving maximum sequences potentially present in samples, each DNA template (independent and mix) was amplified by three independent PCR repetitions. All PCR products were mixed in equimolar proportions before sequencing. Amplification products were sequenced on the Roche GS Junior FLX DNA sequencing platform following the manufacturer's guide for amplicon sequencing.

Analyzes. First, the sequences were sorted according to the DNA tag used, allowing for a maximum of two mismatches in the primer sequence (Margulies et al. 2005; Balzer et al. 2010). All reads of a size inferior to 8 bp and all unique reads (singletons) were filtered out. The strictly identical sequences were grouped together. Finally, for each carabid individual, a data set was generated, containing all the sequences exhibiting the relevant tag. Then, these sequences were analyzed to determine the diet. Manipulation of sequences and taxonomic assignment was performed using a series of scripts freely available from the OBITools package (http://www.grenoble.prabi.fr/trac/OBITools).

Sequences were compared to the GenBank database with BLAST. Only sequences with 97-100% of identity and 92-100% of query coverage were retained for further analyses. If two or more taxa exhibited the same barcode sequence, we assigned this sequence to the higher taxonomic level that included both taxa according to the NCBI Taxonomy database (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy). Variants of sequences matching the same taxon level were grouped together. Data from independent PCR repetitions were pooled for each individual. For this data set, the Jaccard similarity coefficient (Jaccard 1908) was calculated, considering sequences as binary (presence/absence of a sequence). After hierarchical clustering of dissimilarity coefficients (Euclidian distance), a non-metric multidimensional scaling

ordination method (Oksanen 2013) was used for characterizing carabids' diet for each individual from each of the three species. Analyses were run with the vegan function of R software (R Core Team 2013).

Results

After tag assignation, we obtained a total of 90 477 raw sequences. After the different filtering steps, we kept 83 576 sequences from 2050 unique variants. The majority of the 2050 variants (93%) were viewed in less than 50 copies. Given difficulties for analyzing such amount of data and given their low representativeness, only sequences variants seen more than 50 times in samples were retained for BLAST comparison (71 401 sequences from 127 variants). After BLAST filtering, 65 130 sequences from 105 variants satisfied BLAST criteria, the other sequences were discarded. After clustering of the variants matching to the same taxa, 24 taxa were identified in carabid samples (fig. 1). Only 6 of them were identified to the genus level, all the other taxa were identified at best to the family level, and some sequences were identified only to the division level (Magnoliophyta, 8 variants). Sequences' length ranged between 12 and 67bp.

An equivalent amount of sequences was obtained for each species and the richness of plant families in each species was equivalent too. Between 2 and 17 different sequences were retrieved per single sample. Contrariwise, a considerable variability in the abundance and the richness of plant sequences were observed between individuals from the same species.

Brassicaceae family was the most dominant with 23 variants and 38 493 sequences (fig. 2), followed by Poaceae and Juncaceae families. The number of Brassicaceae sequences ranged from 22 to 8880 according to samples. Brassicaceae sequences were retrieved in all samples but two and Poaceae sequences were retrieved in all individuals but three. Juncaceae sequences were mainly present in one *A.similata* individual.

Individuals analyzed separately and both PCR mixes exhibited approximately the same richness of plant sequences (fig. 3). The two independent individuals and the before-PCR mixes contained consistently more sequences than post-PCR mixes, except one of the *P. cupreus* individuals (fig. 4). When plotted, individuals pooled in the post-PCR mix (those that we kept individuals' tag information) showed no differences concerning richness compared to the before-PCR mix and the two independent samples (fig. 3), but they contained much less sequences per sample (fig. 4).

Comparison of before- and post-PCR indicates that before-PCR contained significantly more sequences and significantly more different sequences than post-PCR mixes (fig. 5a; b) for *P. cupreus* (p<0.001) and *A. similata* (p<0.001). For *P. melanarius* only differences in the total amount of sequences were consistent (p<0.001) but not differences in richness (p>0.05).

The hierarchical clustering of dissimilarities between individuals generated four different clusters (fig. 6). But we failed to separate species according to their diet (fig. 7). We rather observed three clusters of individuals from the three species, sharing similar patterns. The mixes did not cluster together, neither. The forth cluster, we observed comprised only one *P.melanarius* individual containing a very low number of plant sequences. For the non-metric multidimensional analyses (fig. 7), two convergent solutions were found after 5 tries (stress = 0.225943).

Discussion

For the first time we applied next-generation sequencing technologies to the diet analysis in carabid beetles. We investigated plant consumption in three different species, very common in agricultural areas. We adopted a without *a priori* approach with plant universal primers. Results showed that plant DNA was recovered in individuals from the three carabid species. This plant DNA corresponded to 24 different plant taxa with sometimes several sequence variants per family, suggesting a high diversity of consumed taxa. However, three plant families accounted for about 80% of the sequences identified (Brassicaceae 60%, Poaceae 13% and Juncaceae 6%). The diversity of sequences was rather evenly distributed across species but much less between individuals suggesting an opportunistic plant feeding behavior by our carabid species.

Plant consumption in carabid beetles is not a new matter in trophic ecology of ground beetles. Many studies have already evidenced the ability of these generalist predators to feed on plant material (Lund and Turpin 1977; Hengeveld 1980a; Holland 2002; Honek et al. 2005; Lundgren and Lehman 2010). In some carabid tribes (Zabrini, Harpalini), phytophagy has even evolved as a major trophic strategy (Zetto Brandmayr 1990; Paarman et al. 2006), and plants are essential food in at least one stage of the individual development (Saska 2008; Sasakawa 2009). Experimental studies have demonstrated that the absence of plants in the diet of *Amara* species could seriously compromise their reproduction capacity across generations (Sasakawa 2009). In most cases, phytophagous species are mainly consuming seeds as they offer high-quality nutrients. Some of the plant species we

recorded in our samples are species producing highly nutritious seeds as *Juncus* spp, *Brassica* spp and *Poa* spp (LEDA and BiolFlor plant trait databases) easy available in arable fields. As beetles were collected in an oilseed rape field, and the majority of sequences were from Brassicaceae family, it suggests that this crop significantly contributes to the carabid diet at this period. Indeed, during the sampling sessions at least two species of the genus *Amara* were observed to climb plants and to open oilseed rape pods to consume ripening seeds. Indeed, experimental observations state that in a multiple seed-choice, *Amara* species clearly prefer Brassicaceae seeds to all other plant species offered (Lindroth 1949; Thiele 1977). Although, we lack direct observations of oilseed rape consumption by the two other species, *P.melanarius* and *P. cupreus,* this seems plausible, insomuch as, records on significant plant consumption for these two species exist (Hengeveld 1980b; Larochelle 1990). It implies that carabids could behave in some cases as pests by consuming crop seeds, especially those of high-energy value as oilseed rape. In intensively managed agricultural landscapes, biodiversity is low (Matson et al. 1997) and cultivated plants could appear as an important alternative source of food for omnivorous species as they provide temporary abundant resources. Earlier studies already pointed out the destruction of cultivated plants by some carabid species (Briggs 1965; Lund and Turpin 1977) and some carabid species, as members of the Zabrinae subfamily, are clearly identified as pests (Mühle 1944; Cate 1980). With the intensification of practices, preferred food sources such insects or weeds could be scarce at a large scale. This might exacerbate the risk for some generalist taxa as carabids to switch from an auxiliary to a pest status. Nevertheless, we should notice that *Amara* samples exhibited a more even distribution in consumed plant diversity suggesting a real specialization in phytophagy. On the contrary, the two predaceous carabid species consumed mainly the most abundant plant items (Brassicaceae and Poaceae). These findings confirm the generalist trophic habits of carabid beetles.

In our samples we also detected several other plant families. Some of them clearly belong to the typical weed flora or to the flora of field margins (Poaceae, Asteraceae, Convulvulaceae, etc.) in our sampling site. Especially, Poaceae are very abundant in field margins and adjacent pastures. Poaceae was the second most abundant taxon identified in carabid beetles feces suggesting that this plant family could offer an available and nutritious food source. Other plant families were also present in carabid faeces, most of them associated with the common arable flora (Plantaginaceae, Polygonaceae, Ranunculaceae, etc.). Sequences from common tree species were also present in carabid samples (Fagales, Salicaceae). However, it is difficult to conclude whether these additional taxa actually contributed to carabids' diet, as they

were supported by a low number of sequences per individual and/or only present in a limited number of individuals. Previous microscopical observations of carabids' gut contents revealed that pollen and different kinds of spores were regularly present (Davies 1953). It is not clear whether these are remains of significant plant meals or whether they are occasionally ingested during feeding on other preys. The presence of these low copy number sequences and their heterogenous distribution in our samples could likely be explained in these terms. The possibility of external contaminations with plant DNA cannot be completely excluded as well. As carabid beetles are ground dwelling and they often hide under the litter, they could carry plant DNA on their carapaces. Recent studies actually demonstrated the risks of external contaminations when using PCR-based techniques (King et al. 2008; Greenstone et al. 2012), and the need to prevent these potential biases by appropriate decontamination measures (Greenstone et al. 2012). In our case, beetles were washed individually in sterile water but this may not be sufficient in all cases (O'Rorke et al. 2013). More work is necessary to assess the actual impact of contaminations when using NGS technologies.

Globally, the observed plant diversity in carabids' guts suggests that they feed locally. In only one individual *A. similata* a significant number of *Juncus* spp sequences was found. The most abundant *Juncus* species in our study area are in the humid permanent grasslands surrounding crops. This finding may imply that these areas could be potential foraging areas for carabid beetles but also that they are able of relatively large displacements. Studying dispersion and movement patterns in insects has always been a methodological challenge and faced numerous biases (Griffiths et al. 2001; Hagler and Jackson 2001). We propose that tracking insect DNA could bring valuable information on movement in natural conditions and at an individual level. These findings are also suggesting that carabid beetles are able to exploit alternative resources at scales larger than believed by earlier studies (Loreau and Nolf 1993; Charrier et al. 1997). Of course, one cannot exclude the possibility that these *Juncus* sequences came from a small weed species around the trapping area (e.g. *Juncus bufonius*), as our taxon resolution is only at the family or genus level. Currently designing valuable universal primers, both sensitive and efficient, seems to be a real challenge in metabarcoding studies and further investigations will be appreciated for improving DNA identification at species level in complex environmental samples. It is generally recommended to establish an exhaustive reference database before conducting metabarcoding studies when possible. And even if, establishing reference database could require efforts and

taxonomic expertise, this preliminary step could shed much more light on the interpretation of high-throughput sequencing data.

From a methodological point of view, individual samples and PCR mixes were equivalent in terms of richness but not in terms of the number of sequences obtained. The fact that pooled samples are reflecting individual richness indicates that there is little bias of competition between multiple DNA templates during PCR and that we are able to retrieve accurately different taxa present in samples. When comparing the both mixes (before- and post-PCR), significant differences are observed. This seems difficult to explain but it is possible that the double sub-sampling for post-PCR mixes skews the representativeness of sequences. Though, performing pooling of DNA templates before PCR appears more accurate and more profitable given the PCR cost. Thereby, we conclude that even if individual information is often valuable, pooling of samples before the PCR step could be useful, in cases where individual information is not a priority but where cost for PCR and tagging are limited. This strategy could allow increasing sample size and hence dieting exhaustiveness and diversity across the species.

Conclusions

Currently there is still no consensus about the contribution of carabid beetles to the regulation of pests. For example, Haschek et al. 2012 demonstrated a high aggregation of *P. cupreus* and A. simiata in oilseed rape and they found a correlation between their activity density and their condition factor, and oilseed rape pests' abundances. So they concluded that carabid beetles should consume and contribute greatly to control of the oilseed rape insect pests. However, our findings could contrarily suggest that they concentrate on oilseed rape field in order to consume oilseed rape seeds. We are now aware that there is a pressing need to develop and apply high-throughput techniques to the study of auxiliaries' feeding habits and their variation in arable areas. Accurate description of trophic interactions networks should allow a better prediction on the delivering of ecosystem services. Different approaches should be promoted, and in particular molecular next-generation technologies, which offer a promising future for large-scales studies in trophic ecology.

Acknowledgements

We warmly thank the LTER area ‘Armorique’ for providing infrastructures and the farmers for allowing us to sample in their fields. Special thanks to Diab Al Hassan, Ewen Georgelin, Frédéric Hamelin, Magda Castel, Lucie Mieuzet, Nathalie Leterme, Bernard Chaubet and Jean-Marc Roussel for helpful field assistance. This study was funded by the French ANR project ‘Landscaphid’ (French National Research Agency, ANR-09-STRA-05). SK was partially funded by the Région Poitou-Charentes, France during her PhD thesis.

References

Balzer S, Malde K, Lanzen A, Sharma A, Jonassen I (2010) Characteristics of 454 pyrosequencing data-enabling realistic simulation with flowsim. Bioinformatics 26: 420–425.

Bilde T, Toft S (1997) Limited predation capacity by generalist arthropod predators on the cereal aphid, Rhopalosiphum padi. In: Kromp B, Meindl P (Eds) Entomological Research in Organic Agriculture. Biological Agriculture and Horticulture 15: 143–150.

Bohan DA, Bohan, AC, Glen DM, Symondson WOC, Wiltshire CW, Hughes L (2000) Spatial dynamics of predation by carabid beetles on slugs. Journal of Animal Ecology 69: 367-379.

Bohan DA, Boursault A, Brooks DR, Petit S (2011) National-scale regulation of the weed seedbank by carabid predators. Journal of Applied Ecology 48: 888-898.

Boreau de Roincé C, Lavigne C, Ricard JM, Franck P, Bouvier JC, Garcin A, Symondson WOC (2012) Predation by generalist predators on the codling moth versus a closely-related emerging pest the oriental fruit moth: a molecular analysis. Agricultural and Forest Entomology 14: 260-269.

Briggs JB (1965) Biology of some ground beetles (Coleoptera Carabidae) injurious to strawberries. Bulletin of Entomological Reserach 56: 79-93.

BiolFlor DataBase: http://www2.ufz.de/biolflor/index.jsp.

Brooks DR, Storkey J, Clark SJ, Firbank LG, Petit S, Woiwod IP (2012) Trophic links between functional groups of arable plants and beetles are stable at a national scale. Journal of Animal Ecology 81: 4-13.

Cate P (1980) Der Getreidelaufkäfer (*Zabrus tenebrioides* Goeze) ein wichtiger Schädling an Getreide in Österreich. Pflanzenarzt 33: 115–117.

Charrier S, Petit S, Burel F (1997) Movements of *Abax parallelepipedus* (Coleoptera, Carabidae) in woody habitats of a hedgerow network landscape: a radio-tracing study. Agriculture, Ecosystems and Environment 61: 133-144.

Chase MW, Cowan RS, Hollingsworth PM, van den Berg C, Madrinan S, Petersen G, Seberg O, Jorgsensen T, Cameron KM, Carine M, Pedersen N, Hedderson TAJ, Conrad F, Salazar GA, Richardson JE, Hollingsworth ML, Barraclough TG, Kelly L, Wilkinson M (2007) A proposal for a standardised protocol to barcode all land plants. Taxon 56: 295-299.

Chiverton PA (1988) Searching behaviour and cereal aphid consumption by *Bembidion lampros* and *Pterostichus cupreus*, in relation to temperature and prey density. Entomologia Experimentalis et Applicata 47: 173-182.

Davey JS, Vaughan IP, King RA, Bell JR, Bohan DA, Bruford MW, Holland JM, Symondson WOC (2013) Intraguild predation in winter wheat: prey choice by a common epigeal carabid consuming spiders. Journal of Applied Ecology 50: 271-279.

Davies MJ (1953) The contents of the crops of some British carabid beetles. Entomologist's Monthly Magazine 89: 18-23.

Fazekas AJ, Burgess KS, Kesanakurti PR, Graham SW, Newmaster SG, Husband BC, Percy DM, Hajibabaei M, Barrett SCH (2008) Multiple multilocus DNA barcodes from the plastid genome discriminate plant species equally well. PLoS ONE 3: e20802.

Frank SD, Shrewsbury PM, Denno RF (2010) Effects of alternative food on cannibalism and herbivore suppression by carabid larvae. Ecological Entomology 35: 61-68.

Finch S, Elliott MS (1994) Predation of cabbage root fly eggs and larvae by carabid ground beetles—fact or fantasy?IOBC/WPRS Bulletin 17: 109–114.

Forbes SA (1883) The food-relation of the Carabidae and Coccinellidae. Illinois State Laboratory Natural History Bulletin 1: 33–47.

Frank SD, Shrewbury PM, Denno RF (2011) Plant versus prey resources: Influence on omnivore behavior and herbivore suppression. Biological Control 57: 229-235.

Greenstone MH, Weber DC, Coudron TA, Payton ME, Hu JS (2012) Removing external DNA contamination from arthropod predators destined for molecular gut-content analysis. Molecular Ecolology Resources 12: 464–469. http://dx.doi.org/10.1111/j.1755- 0998.2012.03112.x.

Griffiths GJK, Alexander CJ, Holland JM, Kennedy PJ, Perry JN, Symondson WOC, Winder L (2008) Monoclonal antibodies reveal changes in predator efficiency with prey spatial pattern. Molecular Ecology 17: 1828-1839.

Griffiths G, Winder L, Bean D, Preston R, Moate R, Neal R, Williams E, Holland J, Thomas G (2001) Ecological Entomology 26: 662-663.

Hagler JR, Jackson CG (2001) Methods for marking insects: current techniques and future prospects. Annual Review of Entomology RT: 511-543.

Harper GL, Sheppard SK, Harwood JD, Read DS, Glen DM, Bruford MW, Symondson WOC (2006) Evaluation of temperature gradient gel electrophoresis for the analysis of prey DNA within the guts of invertebrate predators. Bulletin of Entomological Research 96: 295-304.

Haschek C, Drapela T, Schuller N, Fiedler K, Frank T (2012) Carabid beetles condition, reproduction and density in winter oilseed rape affected by field and landscape parameters. Journal of Applied Entomology 136: 665-674.

Hengeveld R (1980a) Qualitative and quantitative aspects of the food of ground beetles (Coleoptera, Carabidae). Netherlands Journal of Zoology 30: 557–563.

Hengeveld R (1980b) Polyphagy, oligophagy and food specialisation in ground beetles (Coleoptera, Carabidae). Netherlands Journal of Zoology, 30: 564-84.

Holland JM (2002) The Agroecology of Carabid Beetles. Intercept Ltd, UK, 1-356.

Hollingsworth PM, Forrest LL, Spouge JL, Hajibabaei M, et al (2009) A DNA barcode for land plants. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 106: 12794-12797.

Honek A, Martinkova Z, Jarošík V (2003) Ground beetles as seed predators. European Journal of Entomology 100: 531-544.

Honek A, Martinkova Z, Saska P (2005) Post-dispersal predation of *Taraxacum offcinale* (dandelion) seed. Journal of Ecology 93: 345–352. doi: 10.1111/j.1365-2745.2005.00987.x

Jaccard P (1908) Nouvelles recherches sur la distribution florale. Bulletin de la Société Vaudoise de Sciences Naturelles 44: 223-270.

Jørgensen HB, Toft S (1997) Role of granivory and insectivory in the life cycle of the carabid beetle *Amara similata*. Ecological Entomology 22: 7-15.

Jørgensen T, Kjær K, Haile J, Rasmussen M, Boessenkool S, Andersen K, Coissac E, Taberlet P, Brochmann C, Orlando L, Gilbert MTP, Willerslev E (2012) Islands in the ice: detecting past vegetation on Greenlandic nunataks using historical records and sedimentary ancient DNA meta-barcoding. Molecular Ecology 21: 1980-1988.

King RA, Vaughan IP, Bell JR, Bohan DA, Symondson WOC (2007) Prey choice by carabid beetles feeding on an earthworm community analysed using species- and lineage-specific PCR primers. Molecular Ecology 19: 1721–1732.

King RA, Read DS, Traugott M, Symondson WOC (2008) Molecular analysis of predation: a review of best practice for DNA-based approaches. Molecular Ecology 17: 947–963.

Larochelle A (1990) The Food of Carabid Beetles. Fabreries, Supplment 5, 1-132.

LEDA Traitbase: http://www.leda-traitbase.org/LEDAportal/

Lindroth CH (1949) Die Fennoskandischen Carabidae. Göteborg, Wettergren and Kerbers (Eds).

Loreau M, Nolf CL (1993) Occupation of space by the carabid beetle *Abax ater*. Acta Oecologica 14: 247-258.

Luff ML (1987) Biology of polyphagous ground beetles in agriculture. Agricultural Zoology Reviews 2: 237–278.

Lund RD, Turpin FT (1977) Carabid damage to weed seeds found in Indiana cornfields. Environmental Entomology 6: 695–698.

Lundgren JG, Lehman RM (2010) Bacterial gut symbionts contribute to seed digestion in an omnivorous beetle. PLoS ONE 5: e10831. doi: 10.1371/journal.pone.0010831

Macleod A, Wratten SD, Sotherton NW, Thomas MB (2004) 'Beetle banks' as refuges for beneficial arthropods in farmland: long-term changes in predator communities and habitat. Agricultural and Forest Entomology 6: 147-154.

Margulies M, Egholm M, Altman WE, et al (2005) Genome sequencing in microfabricated high-density picolitre reactors. Nature 437: 376–380.

Matson PA, Parton WJ, Power AG, Swift MJ (1997) Agricultural intensification and ecosystem properties. Science 277: 504-509.

Monzó C, Sabater-Muñoz B, Urbaneja A, Castañera P (2011) The ground beetle *Pseudophonus rufipes* revealed as predator of *Ceratitis capitata* in citrus orchads. Biological Control 56: 17-21.

Mühle E (1944) Beobachtungen über das Vorkommen und die Lebensweise von Laufkäfern in Grassamenbeständen und Versuche zu ihrer Bekämpfung. Z. Pflanzenkrankh. Pflanzenschutz 54: 4–12.

Oksanen J (2013) Vegan: an introduction to ordination. http://cran.r-project.org/web/packages/vegan/vignettes/intro-vegan.pdf

O'Rorke R, Jeffs AG, Fitzgibbon Q, Chow S, Lavery S (2013) Extracting DNA from whole organism homogenates an the risk of false positives in PCR based diet studies: A case study using spiny lobster larvae. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 441: 1-6.

Pollet M, Desender K (1985) Adult and larval feeding ecology in *Pterostichus melanarius* ILL. (Coleoptera, Carabidae). Mededelingen Faculteit Landbouwwetenschappen Rijksuniversiteit Gent. 50/2b.

Prasad RP, Snyder WE (2004) Predator interference limits fly egg biological control by a guild of ground-active beetles. Biological Control 31: 428-437.

Paarmann W, Faust N, Arndt E, Luchtrath I, Rohe W (2006) Constant seed size and mandible growth - a fundamental problem for granivorous ground beetle larvae (Coleoptera: Carabidae). Entomologica Fennica 17: 334–339.

Piñol J, san Andrés V, Clare EL, Mir G, Symondson WOC (2013) A pragmatic approach to the analysis of diets of generalist predators: the sue of next-generation sequencing with no blocking probes. Molecular Ecology Resources. doi: 10.1111/1755-0998.12156.

Quéméré E, Hilbert F, Miquel C, Lhuillier E, Rasolondraibe E, Champeau J, Rabarivola C, Nusbaumer L, Chatelain C, Gautier L, Ranirison P, Crouau-Roy B, Taberlet P, Chikhi L (2013) A DNA metabarcoding study of a primate dietary diversity and plasticity across its entire fragmented range. PLoS ONE 8: e58971.

R Core Team (2013) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL http://www.R-project.org/.

Renkema JM, Lynch DH, Cutler GC, MacKenzie K, Walde SJ (2012) Predation by *Pterostichus melanarius* (Illiger) (Coleoptera : Carabidae) on immature *Rhagoletis mendax* Curran (Diptera : Tephritidae) in semi-field and field conditions. Biological Control 60: 46-53.

Riddick EW, Mills NJ (1994) Potential of adult carabids (Coleoptera: Carabidae) as predators of fifth-instar codling moth (Lepidoptera: Tortricidae) in apple orchards in California. Environmental Entomology 23: 1338–1345.

Sasakawa K (2009) Effects of maternal diet on fecundity and larval development in the 'primitive' granivorous carabid Amara (Curtonotus) macronota. Entomologia Experimentalis et Applicata 130: 106–112. doi: 10.1111/j.1570-7458.2008.00799.x

Saska P (2008) Effect of diet on the fecundity of three carabid beetles. Physiological Entomology 33: 188–192. doi: 10.1111/j.1365-3032.2008.00618.x

Snyder WE, Wise DH (2001) Contrasting trophic cascades generated by a community of generalist predators. Ecology 82: 1571-1583.

Soininen EM, Valentini A, Coissac E, Miquel C, Gielly L, Brochmann C, Brysting AK, Sonstebo JH, Ims RA, Yoccoz NG, 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: 16.

Sunderland KD (1975) The diet of some predatory arthropods in cereal crops. Journal of Applied Ecology 12: 507–515.

Symondson WOC (1993) The effects of crop development upon slug distribution and control by *Abax parallelepipedus* (Coleoptera: Carabidae). Annals of Applied Biology 123: 449–457.

Symondson WOC, Liddell JE (1993) The detection of predation by *Abax parallelepipedus* and *Pterostichus madidus* (Coleoptera: Carabidae) on Mollusca using a quantitative ELISA. Bulletin of Entomological Research 83: 641–647.

Symondson WOC, Erickson ML, Liddell JE, Jayawardena KGI (1999) Amplified detection, using monoclonal antibody, of an aphid-specific epitope exposed during digestion in the gut of a predator. Insect Biochemistry and Molecular Biology 29: 873-882.

Symondson WOC, Sunderland KD, Greenstone MH (2002) Can generalist predators be effective biocontrol agents? Annual Review of Entomology 47: 561-594.

Szendrei Z, Greenstone MH, Payton ME, Weber DC (2010) Molecular gut-content analysis of a predator assemblage reveals the effect of habitat manipulation on biological control in the field. Basic and Applied Ecology 11: 153-161.

Taberlet P, Coissac E, Pompanon F, Gielly L, Miquel C, Valentini A, Vermat T, Corthier G, Brochmann C, Willerslev E (2007) Power and llimitations of the chloroplast *trn*L (UAA) intron for plant DNA barcoding. Nucleic Acid Research 35: e14.

Thiele HU (1977) Carabid Beetles in Their Environments, Berlin/Heidelberg, Springer, 1-369.

Thomas MB, Wratten SD, Sotherton NW (1991) Creation of 'island' habitats in farmland to manipulate populations of beneficial arthropods: predator densities and emigration. Journal of Applied Ecology 28: 906–917.

Traugott M, Bell JR, Raso L, Sint D, Symondson WOC (2012) Generalist predators disrupt parasitoid aphid control by direct and coincidental intraguild predation. Bulletin of Entomological Research 102: 223-231.

Valentini A, Miquel C, Nawaz MA, Bellemain E, Coissac E, Pompanon F, Gielly L, Cruaud C, Nascetti G, Wincker P, Swenson JE, Taberlet P (2009a) New perspectives in diet analysis based on DNA barcoding and parallel pyrosequencing: the trnL approach. Molecular Ecology Resources 9: 51-60.

von Berg K, Traugott M, Scheu S (2012) Scavenging and active predation in generalist predators: A mesocosm study employing DNA-based gut content analysis. Pedobiologia 55: 1-5.

Yoccoz NG, Bråthen KA, Gielly L, Haile J, Edwards E, Goslar T, von Stedingk H, Brysting AK, Coissac E, Pompanon F, Sønstebø JH, Miquel C, Valentini A, de Bello F, Chave J, Thuiller W, Wincker P, Cruaud C, Gavory F, Rasmussen M, Gilbert MTP, Orlando L, Brochmann C, Willerslev E, Taberlet P (2012) DNA from soil mirrors plant taxonomic and growth form diversity. Molecular Ecology 21: 3647-3655.

Zetto Brandmayr T (1990) Spermophagous (seed-eating) ground beetles: first comparison of the diet and ecology of the harpaline genera Harpalus and Ophonus (Col., Carabidae). In: Stork N (Ed) The Role of Ground Beetles in Ecological and Environmental Studies. Intercept, Andover, 307–316.

Figure 1. Global per plant taxon distribution of the total number of plant sequences retrieved in carabid faeces.

Figure 2. Distribution of the different plant sequences proportions in each of the three carabid species.

Figure 3. Distribution of the plant sequences richness among individuals and mixes from the three carabid species. In red, before-PCR mixes. In bleu, the two not pooled individuals analyzed independently of mixes. Individuals range in decreasing order, according richness.

Figure 4. Distribution of the mean sequences abundanceamong samples and mixes for the three carabid species. In red, before-PCR mixes. In bleu, the two not pooled individuals analyzed independently of mixes. Individuals range in decreasing order according total sequences' abundance.

Figure 5a. Comparison of the total abundance of plant sequences recovered in before-PCR and post-PCR mixes for each carabid species. Before-PCR abundance corresponds to the total number of sequences recovered in the mix. Post-PCR abundance corresponds to the average abundance of the ten-pooled individuals.

Figure 5b. Comparison of plant sequences richness between mixes for each carabid species. Before-PCR richness corresponds to the number of different sequences recovered in the mix. Post-PCR richness corresponds to the average richness of the ten-pooled individuals.

Figure 6. Cluster dendrogram on sequence dissimilarities between individuals (Jaccard), sequences data are considered as binary. Each number corresponds to a single sample (individual or mix). Samples 1-13 correspond to *P. melanarius*; samples 14-26 correspond to *P. cupreus*; samples 27-39 correspond to *A. similata*. Samples 13, 27 and 39 correspond to mixes.

Figure 7. Two-dimensional projection from the non-metric scaling analysis. Each number corresponds to a single sample (individual or mix). Samples 1-13 correspond to *P. melanarius*; samples 14-26 correspond to *P. cupreus*; samples 27-39 correspond to *A. similata*. Samples 13, 27 and 39 correspond to mixes. In red, plant taxa recovered in carabid samples.

Figure 1.

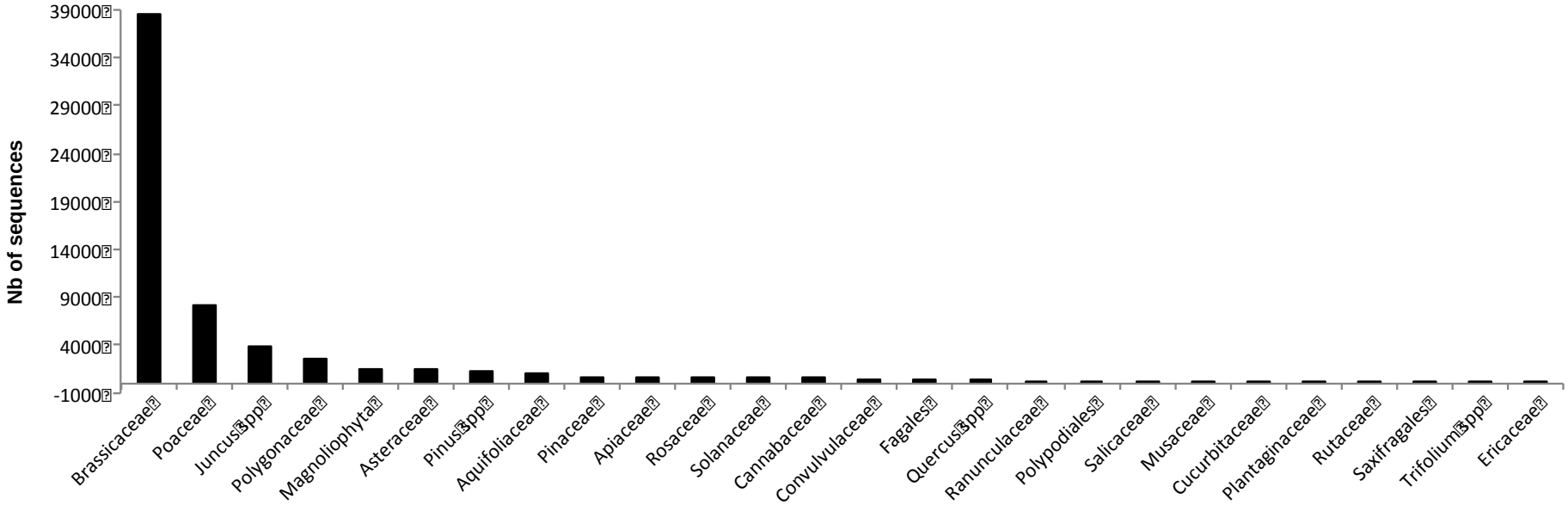

Nb of sequences
39000
34000
29000
24000
19000
14000
9000
4000
-1000
Brassicaceae
Poaceae
Juncus spp
Polygonaceae
Magnoliophyta
Asteraceae
Pinus spp
Aquifoliaceae
Pinaceae
Apiaceae
Rosaceae
Solanaceae
Cannabaceae
Convulvulaceae
Fagales
Quercus spp
Ranunculaceae
Polypodiales
Salicaceae
Musaceae
Cucurbitaceae
Plantaginaceae
Rutaceae
Saxifragales
Trifolium spp
Ericaceae

Figure 2.

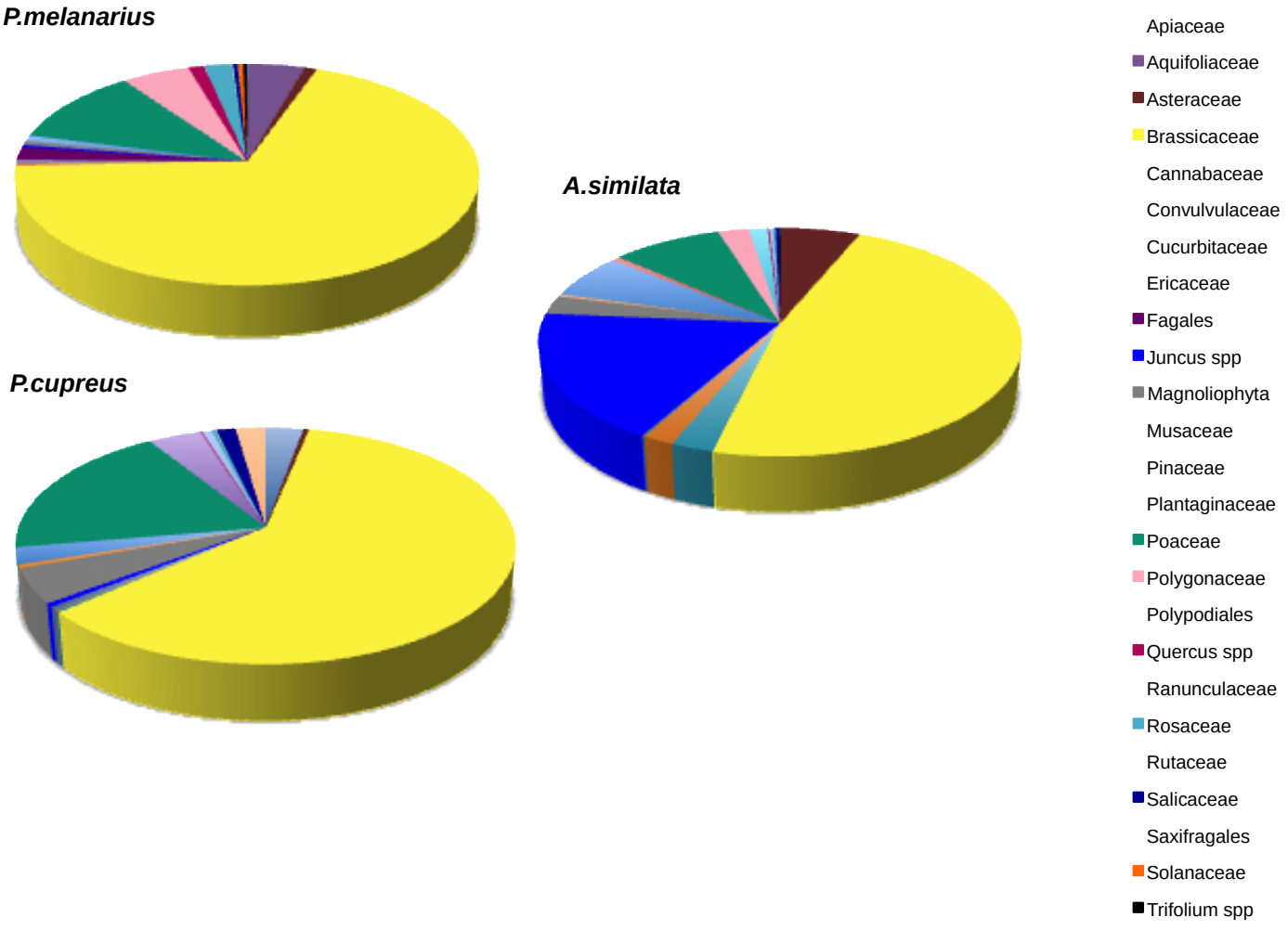

P.melanarius
A.similata
P.cupreus
Apiaceae
Aquifoliaceae
Asteraceae
Brassicaceae
Cannabaceae
Convulvulaceae
Cucurbitaceae
Ericaceae
Fagales
Juncus spp
Magnoliophyta
Musaceae
Pinaceae
Plantaginaceae
Poaceae
Polygonaceae
Polypodiales
Quercus spp
Ranunculaceae
Rosaceae
Rutaceae
Salicaceae
Saxifragales
Solanaceae
Trifolium spp

Figure 3.

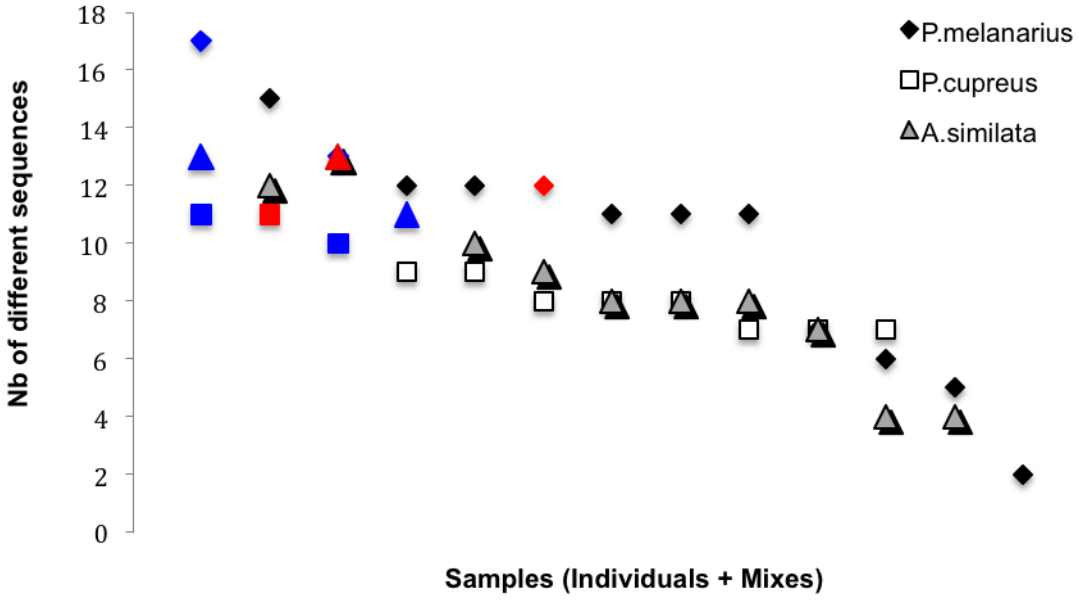

18
16
14
12
10
8
6
4
2
0
Nb of different sequences
Samples (Individuals + Mixes)
P.melanarius
P.cupreus
A.similata

Figure 4.

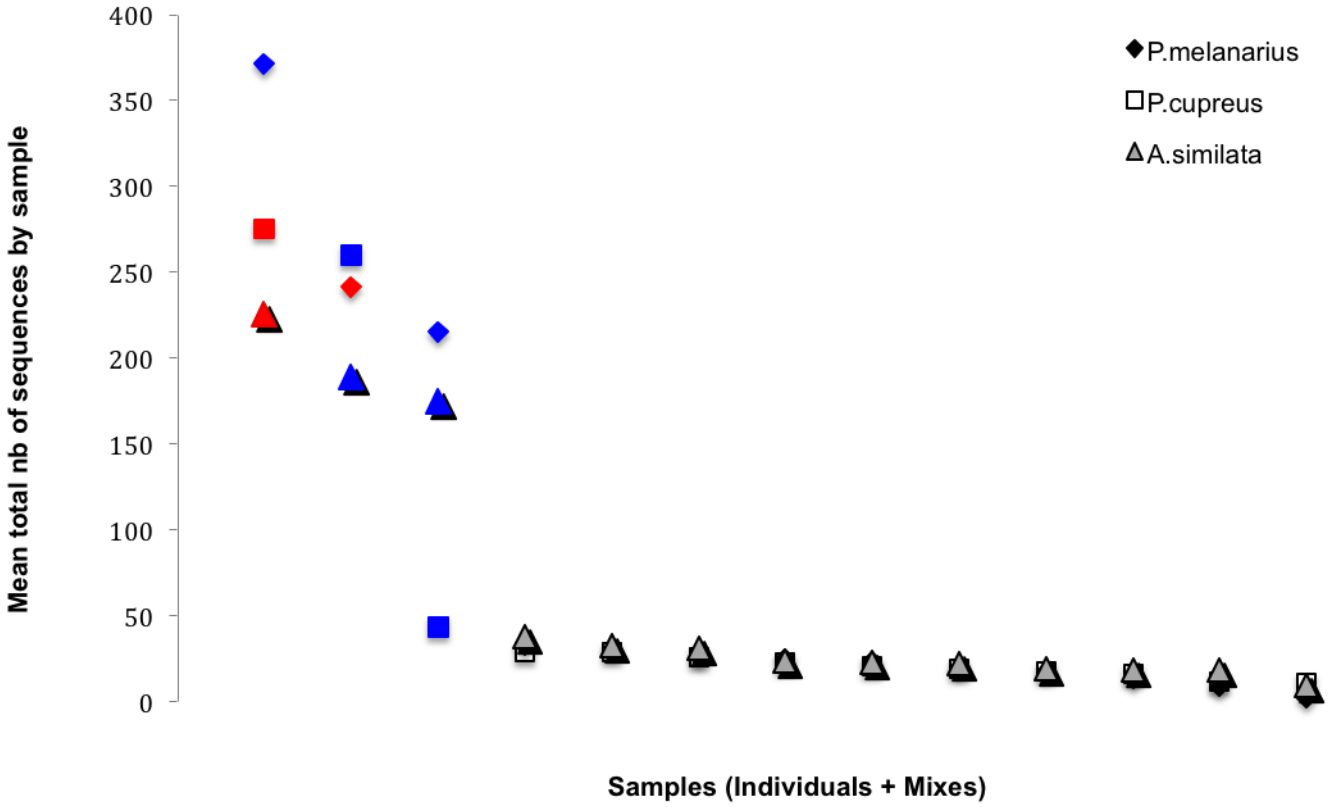

Mean total nb of sequences by sample
400
350
300
250
200
150
100
50
0
P.melanarius
P.cupreus
A.similata
Samples (Individuals + Mixes)

Figure 5a.

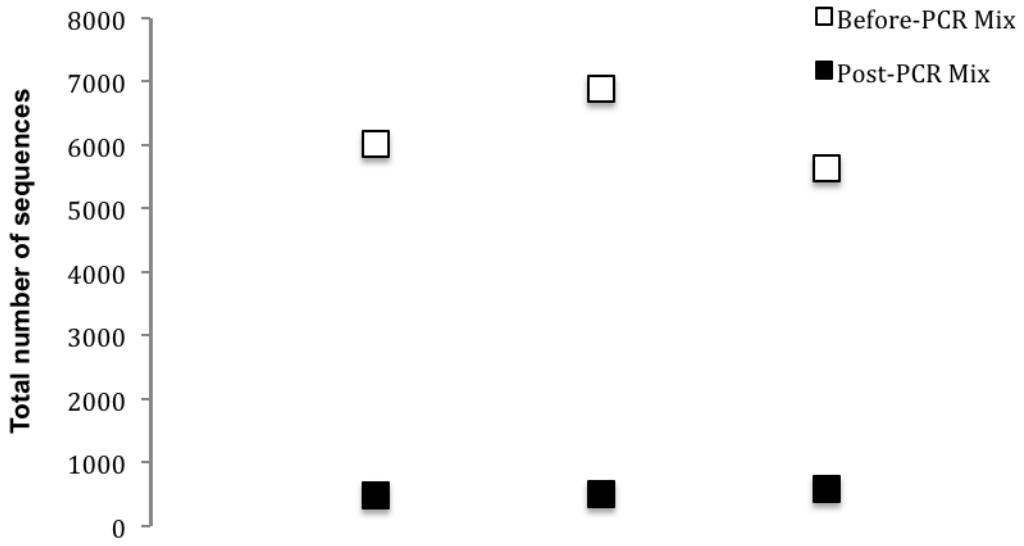


Figure 5b.

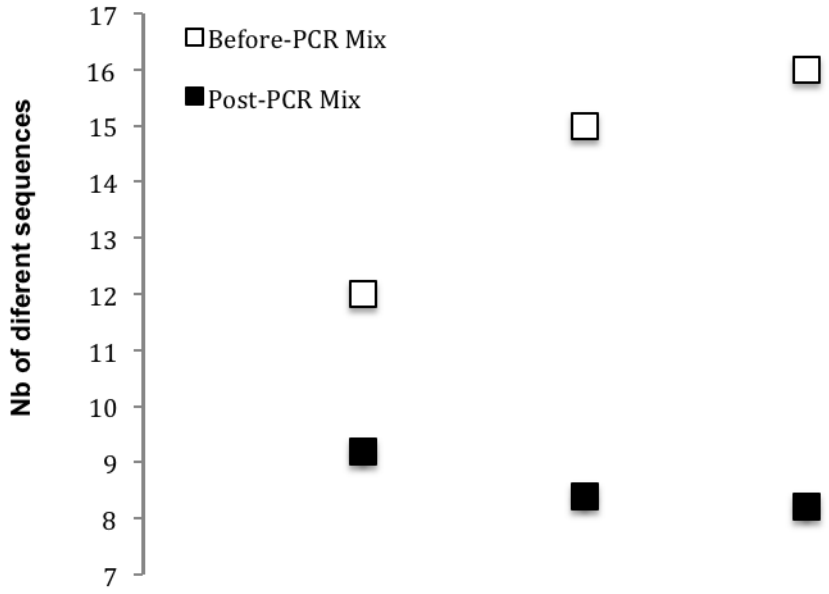


Figure 6.

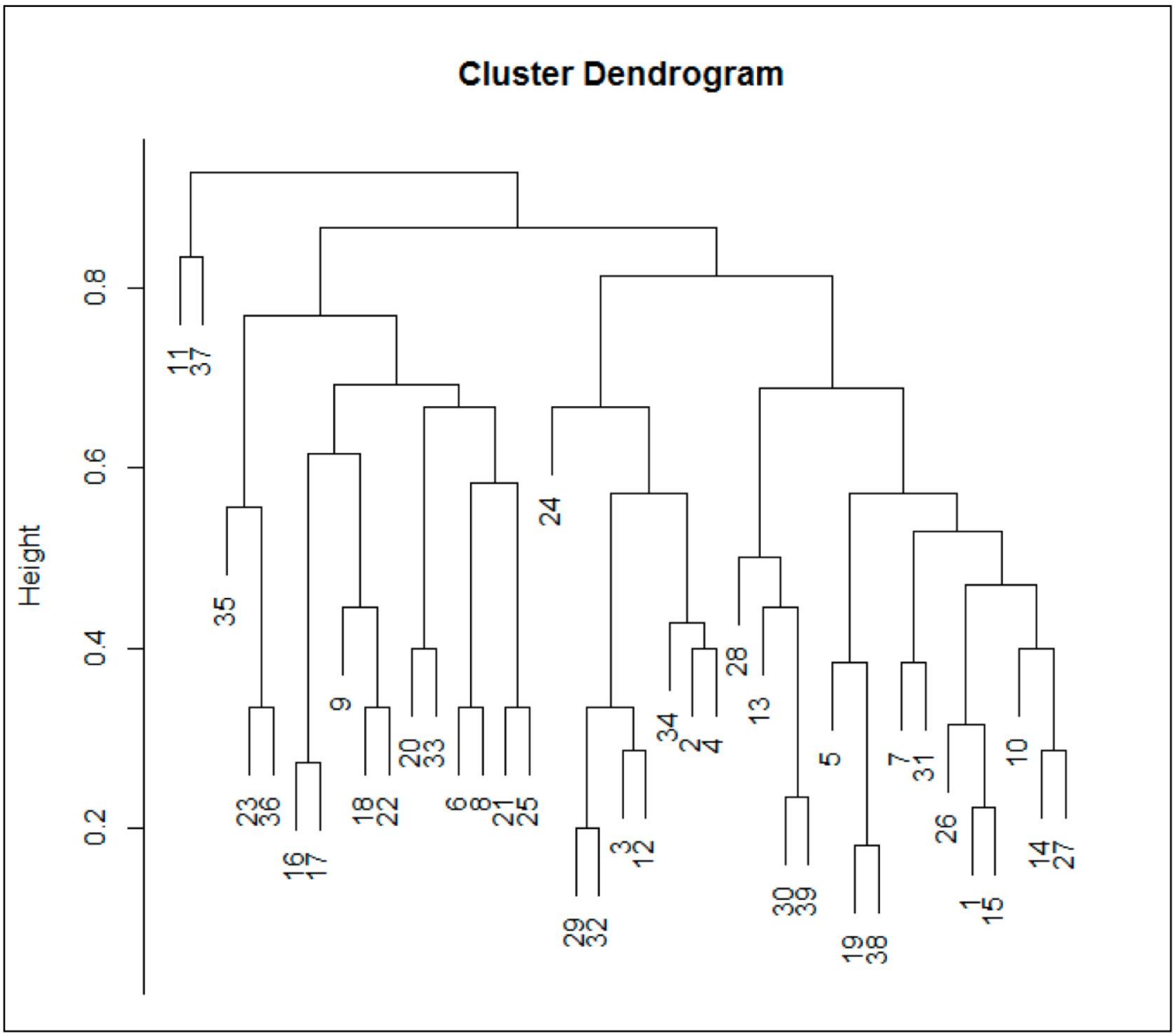
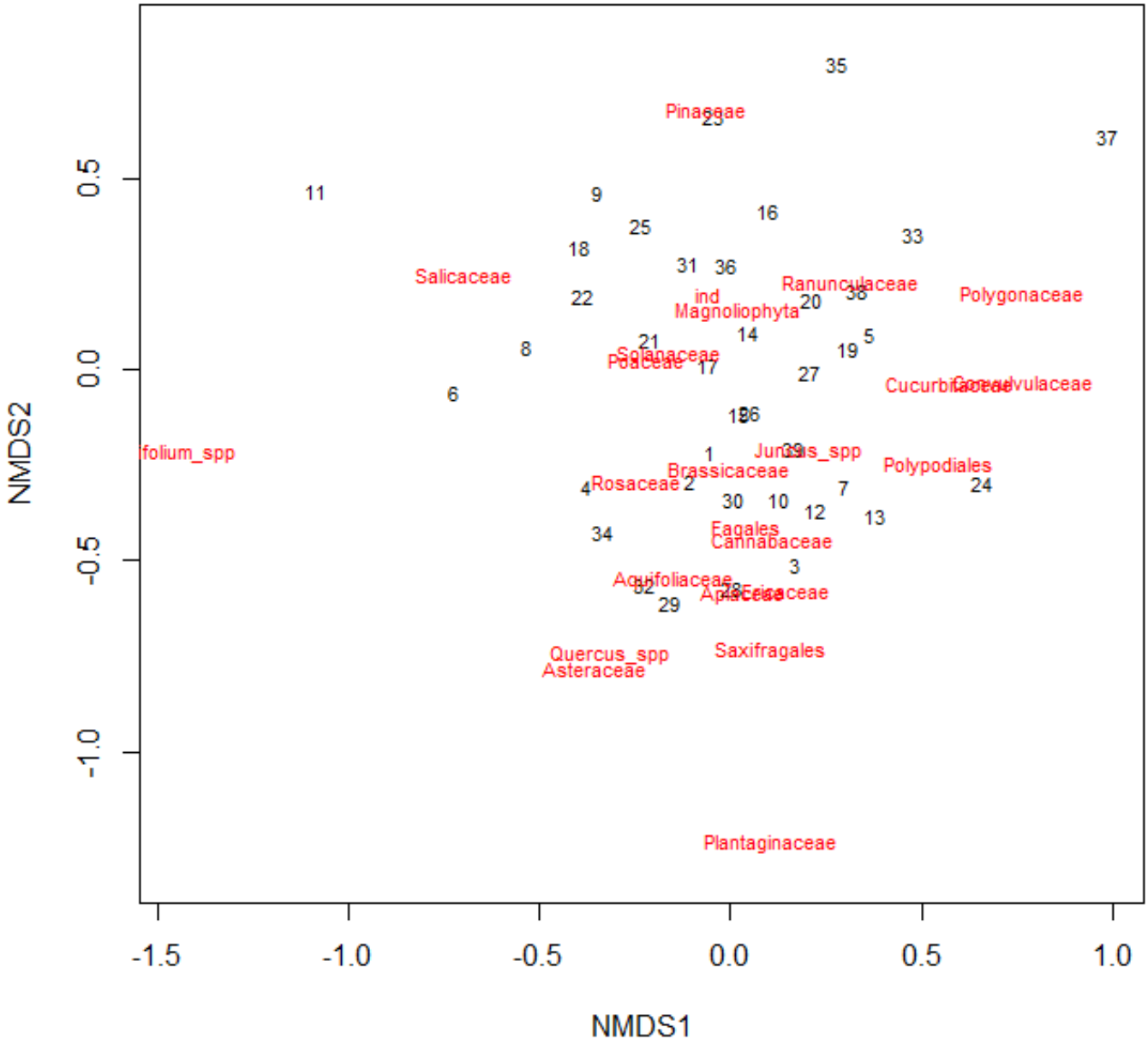

Cluster Dendrogram
Height
0.2
0.4
0.6
0.8
11
37
35
23
36
16
17
9
18
22
20
33
6
8
21
25
24
29
32
3
12
34
2
4
28
13
30
39
5
19
38
7
31
26
1
15
10
14
27

Figure 7.


NMDS1
NMDS2
-1.5
-1.0
-0.5
0.0
0.5
1.0
-1.0
-0.5
0.0
0.5
Pinaceae
Salicaceae
Magnoliophyta
Ranunculaceae
Polygonaceae
Solanaceae
Poaceae
Cucurbitaceae
Convolvulaceae
Brassicaceae
Rosaceae
Polypodiales
Fagales
Cannabaceae
Aquifoliaceae
Asteraceae
Saxifragales
Plantaginaceae

4) Annexe Chapitre 1

Liste des proies entrant dans le régime alimentaire des communautés de coléoptères carabiques des paysages agricoles. Cette liste a été établie à partir de 10 ouvrages de référence et de trois sites internet, référencés à la fin de l'annexe.

Tableau 1. Liste de 97 familles de proies animales consommées potentiellement par la communauté de carabes dans les champs agricole, après revue de la littérature. Les taxa soulignés sont notés comme des auxiliaires des cultures.

Embranchement	***Classe***	***Ordre***	***Famille***	***Genre***
Arthropodes	***Arachnida***	*Acari*	*Tetranychidae* *Tarsenomidae* *Epodidae* *Eriophyidae*	
		Araneae	*Phytoseiidae* *Trombidiidae* *Thomisidae* *Linyphiidae* *Lycosidae*	
		Opiliones		

Arthropodes	***Insecta***	*Collembola*	*Hypogastruridae*	
			Onychiuridae	
			Sminthuridae	
		Lepidoptera	*Geometridae*	
			Lasiocampidae	
			Noctuidae	
			Notodontidae	
			Pieridae	
			Pyralidae	
			Tortricidae	
			Yponomeutidae	
			Hepialidae	
			Lycaenidae	
			Plutellidae	
			Gelechiidae	
			Arctiidae	
		Diptera	*Cecidomyiidae*	
			Trypetidae	
			Anthomyidae	
			Chloropidae	
			Tipulidae	*Tipula*
			Tachinidae	
			Agromyzidae	
			Syrphidae	
		Homoptera	*Aphididae*	
			Aleyrodidae	
			Cicadellidae	
			Pemphigidae	
			Psyllidae	
		Isoptera	*Termitidae*	
		Coleoptera	*Cerambycidae*	
			Cantharidae	
			Chrysomelidae	
			Curculionidae	
			Scarabaeidae	
			Scolytidae	
			Nitidulidae	
			Tenebrionidae	
			Silphidae	
			Bruchidae	
			Elateridae	
			Staphylinidae	
			Coccinellidae	
			Lampyridae	
		Orthoptera	*Gryllotalpidae*	
			Blattidae	
			Catantopidae	
			Tettigoniidae	
			Acrididae	
		Hymenoptera	*Formicidae*	
			Siricidae	
			Eurytomidae	
			Tenthredinidae	
			Aphelinidae	
			Braconidae	
			Aphidiinae	
			Ichneumonidae	
			Trichogrammidae	
			Chalcidiens	
			Eulophidae	
		Hemiptera	*Pentatomidae*	
			Miridae	
			Pentatominae	
			Piesmidae	
			Tingidae	
			Anthocoridae	
			Nabidae	
		Thysanoptera	*Thripidae*	
		Dermaptera	*Forficulidae*	
		Neuroptera	*Chrysopidae*	

Arthropodes	***Myriapoda***	*Symphyla* *Diplopoda*	*Scutigerellidae* *Polydesmidae* *Blaniulidae* *Iulidae*	
Mollusca	***Gasteropoda***	*Pulmonata*	*Helicidae* *Arionidae* *Limacidae*	
Nematoda	***Secernentea***	*Aphelenchida* *Dorylaimida* *Tylenchida*	*Aphelenchidae* *Dorylaimidae* *Tylenchidae* *Heteroderidae* *Heteroderidae* *Heteroderidae* *Hoplolaimidae* *Hoplolaimidae*	*Aphelencoides* *Dorylaimus* *Ditylenchus* *Globodera* *Heterodera* *Meloidogyne* *Rotylenchus* *Pratylenchus*
Annelida	***Clitellata***	*Haplotaxida*	*Lumbricidae* *Enchytraeidae*	*Allolobophora* *Aporrectodea* *Lumbricus*

Tableau 2. Liste des plantes adventices dont les graines sont potentiellement présentes dans le régime alimentaire des carabes d'après la littérature (22 familles et 50 genres). Chaque genre est représenté par l'espèce ou l'une des espèces les plus communes en milieu agricole.

famille	*espèce*
Poaceae	*Avena fatua*
	Agropyrum repens
	Cynodon dactylon
	Digitaria sanguinalis
	Panicum(Echinochloa) Crus Galli
	Poa trivialis
	Lolium rigidum
	Setaria glauca
	Alopecurus agrestis
Asteraceae	*Achillea millefolium*
	Artemisia vulgaris
	Centaurea cyanus
	Cirsium arvensae
	Erigeron canadensis
	Sonchus oleraceus
	Matricaria chamomilla
	Taraxacum officinale
	Senecio vulgaris
	Tussilago farfara
Polygonaceae	*Polygonum aviculare*
	Polygonum convulvus
	Polygonum persicaria
	Rumex crispus
	Rumex acetosella
Brassicaceae	*Capsella bursa-pastoris*
	Lepidium draba
	Raphanus raphanistrum
	Sinapis arvensis
Urticaceae	*Urtica urens*
Chaenopodiaceae	*Chenopodium album*
Amarantaceae	*Amarantus retroflexus*
Caryophyllaceae	*Agrostemma githago*
	Spergula arvensis
	Stellaria media
Euphorbiaceae	*Euphorbia helioscopia*
	Mercurialis annua
Apiaceae	*Daucus carota*
	Scandix pecten veneris
Portulaceae	*Portulaca oleracea*
Renonculaceae	*Ranunculus acris*
Papaveraceae	*Papaver rhoeas*
Fumariaceae	*Fumaria officinalis*
Rosaceae	*Potentilla anserina*
Fabaceae	*Lathyrus aphaca*
Primulaceae	*Anagallis arvensis*
Convolvulaceae	*Convolvulus arvensis*
Solanaceae	*Solanum nigrum*
Scrofulariaceae	*Veronica hederoefolia*
Plantaginaceae	*Plantago major*
Rubiaceae	*Galium aparinae*

Tableau 3. Liste des 161 espèces de carabes ayant participé à l'établissement des deux listes d'espèces ci-dessus. La typologie du régime alimentaire a été notée lorsque les données étaient disponibles. Les espèces soulignées sont celles piégées régulièrement dans la zone-atelier « Armorique », Ille-et-Vilaine.

espèce	régime alimentaire
Abax ovalis	carnivore
Abax parallelepipedus	omnivore/carnivore
Abax parallelus	
Abax pyrenaeus	
Acinopus leavigatus	
Acinopus picipes	
Acupalpus exiguus	
Agonum ericeti	
Agonum fuliginosum	
Agonum gracilipes	
Agonum muelleri	carnivore
Agonum obscurum	
Agonum sexpunctatum	carnivore
Agonum viduum	carnivore/omnivore
Amara aenea	phytophage/omnivore
Amara sabulosa	
Amara alpina	
Amara apricaria	
Amara aulica	
Amara bifrons	
Amara chaudoiri	
Amara communis	phytophage
Amara consularis	omnivore
Amara convexior	omnivore
Amara convexiuscula	
Amara curta	
Amara equestris	
Amara erratica	
Amara erythrocnema	
Amara eurynota	phytophage
Amara famelica	
Amara familiaris	phytophage
Amara fodinae	
Amara fulva	omnivore
Amara fulvipes	omnivore
Amara gaubili	
Amara infima	
Amara ingenua	
Amara lunicollis	phytophage
Amara meridionalis	
Amara montivaga	
Amara nitida	
Amara ovata	phytophage
Amara pastica	
Amara plebeja	
Amara praetermissa	
Amara pyrenaea	
Amara quenseli	
Amara similata	phytophage/omnivore
Amara spreta	
Amara strenua	
Amara tricuspidata	
Anchomenus dorsalis	omnivore/carnivore
Anisodactylus binotatus	carnivore
Asaphidion flavipes	carnivore
Asaphidion pallipes	
Bembidion obtusum	
Bembidion aeneum	
Bembidion biguttatum	
Bembidion bipunctatum	
Bembidion bruxellense	
Bembidion celer	
Bembidion gilvipes	
Bembidion guttula	
Bembidion illigeri	carnivore
Bembidion laterale	
Bembidion litorale	
Bembidion lunulatum	carnivore
Bembidion monticola	
Bembidion nigricorne	
Bembidion nitidulum	
Bembidion obliquum	
Bembidion obtusum	
Bembidion pallidipenne	
Bembidion pygmaeum	
Bembidion quadrimaculatum	carnivore

espèce	régime alimentaire
Bembidion stephensi	
Bembidion tetracolum	
Bembidion ustulatum	
Bembidion varium	
Brachinus crepitans	carnivore
Bradicellus collaris	
Bradicellus harpalinus	
Bradycellus verbasci	carnivore
Broscus cephalotes	
Broscus punctatus	
Calathus fuscipes	omnivore
Calathus ambiguus	
Calathus circumseptus	
Calathus erratus	carnivore
Calathus melanocephalus	carnivore
Calathus micropterus	
Calathus piceus	
Calosoma inquisitor	
Calosoma sycophanta	
Calosoma auropunctatum	
Calosoma denticolle	
Carabus cancellatus	carnivore
Carabus nemoralis	carnivore
Carabus auratus	carnivore
Carabus coriaceus	carnivore/omnivore
Carabus intricatus	carnivore
Carabus granulatus	carnivore
Carabus problematicus	carnivore
Carabus violaceus	carnivore
Clivina fossor	omnivore
Cyrtonotus aulicus	
Demetrias atricapillus	carnivore
Dichirotrichus gustavii	
Harpalus affinis	omnivore
Harpalus tardus	omnivore
Harpalus caliginosus	
Harpalus azureus	phytophage/omnivore
Harpalus cupreus	
Harpalus atratus	
Harpalus dimidiatus	omnivore
Harpalus distinguendus	omnivore
Harpalus rubripes	phytophage
Hexagonia terminalis	
Lebia grandis	
Lebia scapularis	
Lebia bimaculata	
Lebia scapularis	
Loricera pilicornis	carnivore
Metallina lampros	omnivore
Metallina properans	carnivore
Microlestes maurus	
Microlestes minutulus	carnivore
Nebria brevicollis	carnivore
Notiophilus biguttatus	carnivore
Notiophilus palustris	carnivore
Notiophilus rufipes	carnivore
Ophonus calceatus	omnivore
Ophonus (Harpalus) pubescens	
Pelor spinipes	
Pelor inflatus	
Percos iaequestris	
Peryphus monticola	
Platisma nigrum	
Platysma vulgare	
Poecilus cupreus	omnivore
Pseudophonus (Harpalus) rufipes	omnivore
Pterostichus crenatus	crenatus
Pterostichus madidus	omnivore/carnivore
Pterostichus melanarius	omnivore/carnivore
Pterostichus niger	
Pterostichus nigrita	carnivore
Pterostichus oblongopunciatus	
Pterostichus strenuus	omnivore
Steropus madidus	
Trechus quadristriatus	carnivore
Zabrus tenebrioides	omnivore/phytophage

Annexe Chapitre 1 : références bibliographiques et internet.

Lewis T, 1997. Thrips as crop pests. CAB Oxon UK, 740pp.

Rasplus JY, Martinez M & Marcone A, 1992.Cent fiches ravageurs et auxiliaires des cultures. Editions INRA.

Carter W, 1962. Insects in relation to plant disease. Interscience Publishers, New York and London, 705pp.

Balachowsky AS, 1962. Entomologie appliquée à l'agriculture. Tome 1 et 2. Coléoptères, 1er volume. Masson et cie, 564pp.

Bonnemaison L, 1962. Les ennemis animaux des plantes cultivées et des forêts. Editions SEP Paris 1er, volumes 1, 2 et 3.

Cavalloro, R. Aphid Antagonists: Proceedings of a Meeting of the Ec Experts' Group, Portici, Italy, 23-24 November 1982. Rotterdam: Published for the Commission of the European Communities by A.A. Balkema, 1983.

Alford DV, 2003. Biocontrol of oilseed rape pests. Blackwell Science, 368pp.

Faune et flore auxiliaires en agriculture, Journées d'études et d'informations, ACTA Paris, 1983

Pollet M, Desender K (1985) Adult and larval feeding ecology in *Pterostichus melanarius* ILL. (Coleoptera, Carabidae). Mededelingen Faculteit Landbouwwetenschappen Rijksuniversiteit Gent. 50/2b.

Larochelle A, 1990. The Food of Carabid Beetles (Coleoptera: Carabidae, including Cicindelinae). Frabreries Supplément 5, 132pp.

Références internet:

ACTA - Instituts des filières animales et végétales: http://www.acta.asso.fr/

OEPP - Organisation Européenne et Méditerranéenne pour la Protection des Plantes : https://www.eppo.int/ABOUT_EPPO/about_eppo_fr.htm

SYNGENTA : http://www3.syngenta.com/country/fr/fr/pages/home.aspx

CHAPITRE 2 : Etude des relations trophiques et des mécanismes de coexistence chez les coléoptères carabiques : une approche isotopique

1) Les isotopes stables : trente ans au service des écologistes

1.1) Présentation et intérêt général de la technique

Les isotopes stables sont largement reconnus comme un outil informatif et facilement appropriable par les écologistes. A l'image des outils moléculaires, l'analyse des ratios isotopiques en écologie a largement dépassé le cadre d'un simple outil parmi d'autres. En effet, depuis la popularisation de cette technique suite aux travaux fondateurs de DeNiro & Epstein (1978) et de Fry et al. (1978), les isotopes stables ont rencontré une large palette d'applications permettant d'aborder des questions de recherche dans de nombreux domaines de l'écologie (Hobson et al. 1999; Ponsard & Arditi 2000; Soe et al. 2004; Malausa et al. 2005; Authier et al. 2012b). De plus, les questionnements méthodologiques autour des sources de variation et les façons d'interpréter les données isotopiques (Vanderklift & Ponsard 2003 ; Martínez del Rio et al. 2009 ; Boecklen et al. 2011) ont créé une véritable émulation scientifique conduisant à des avancées analytiques et conceptuelles importantes (Eggers & Jones 2000 ; Chikaraishi et al. 2011; Authier et al. 2012 ; Crotty et al. 2013). Après plus de trente ans d'investigations en matière d'analyse isotopique et de savoir-faire accumulé, il est relativement aisé aujourd'hui d'utiliser cette technique en écologie trophique. Par ailleurs, l'apport des isotopes stables pour l'étude des relations trophiques est considérable. L'approche par l'analyse des isotopes stables a contribué à mieux comprendre la complexité des réseaux trophiques du sol (Scheu & Falca 2000) ou les stratégies d'approvisionnement chez des organismes à comportement alimentaire complexe (Popa-Lisseanu et al. 2007 ; Reich et al. 2007), inaccessibles par d'autres méthodes. Même si l'utilisation de cette technique reste encore essentiellement confinée à l'étude des milieux aquatiques continentaux et marins, l'application des isotopes stables en milieu terrestre se popularise (Platner et al. 2012 ; Mestre et al. 2013 ; Staudacher et al. 2013).

L'avantage majeur de cette technique est qu'elle fournit une mesure intégrée des processus écologiques étudiés au cours du temps et qu'elle peut être utilisée pour des études à long terme. L'analyse des ratios en isotopes stables complète donc très

bien d'autres techniques en écologie, moins intégratives, comme les techniques moléculaires de type barcoding, par exemple.
En milieu agricole, les pressions actuelles pour mieux prédire la fourniture de services écologiques par les communautés d'auxiliaires et le besoin de conduire des études à grande échelle placent les isotopes stables au premier rang des techniques les plus adaptées (Traugott et al. 2013). En effet, la préparation rapide et relativement peu contraignante des échantillons permet un traitement haut-débit de grandes séries de données, tandis que l'amélioration des techniques de mesure implique une très faible quantité de tissu utilisé et permet, par conséquent, l'acquisition d'informations à l'échelle de l'individu, voire de l'organe, même pour les plus petites espèces (voir l'encadré). Ce dernier avantage est particulièrement intéressant lorsque l'on s'intéresse aux communautés d'arthropodes, constituées d'organismes de petite taille. Le principal facteur limitant reste le prix des analyses, encore relativement élevé (voir l'Encadré).

1.2) Principes de base et sources de variations

You are what you eat…or are you?

L'analyse de ratios isotopiques tire avantage d'un principe très simple : du fait de différences de masse atomique entre isotopes stables d'un même élément, les cinétiques réactionnelles et la stabilité des composés formés ne sont pas parfaitement identiques. Il en résulte un processus de fractionnement, c'est-à-dire un enrichissement préférentiel en isotopes lourds ou légers. Les mesures du rapport entre les abondances en isotopes légers et lourds, permettent ainsi d'inférer les processus ayant généré le fractionnement isotopique en question. Du fait des faibles différences relatives entre masses isotopiques et pour plus de facilités lors des comparaisons entre études, il est coutumier d'exprimer les différences de composition isotopique en termes de ratio δ (en ‰) par rapport à un standard international dont les valeurs sont stables et connues. Les éléments les plus étudiés sont le carbone (C), l'azote (N), l'oxygène (O), l'hydrogène (H) et le soufre (S).
Chez les organismes vivants, on observe globalement un enrichissement progressif en isotopes lourds le long de la chaîne trophique ou selon le type de métabolisme (Kelly 2000; Fry 2006). Cela résulte de ce que lors des réactions métaboliques, les produits d'excrétion sont enrichis en isotopes légers alors que les tissus le sont en isotopes lourds. Néanmoins, le processus de fractionnement est beaucoup plus

complexe et plusieurs sources de variation ont été identifiées (Vanderklift & Ponsard 2003; Martínez del Rio et al. 2009 ; Boecklen et al. 2011). Les recherches portant sur ce sujet concernent essentiellement les isotopes du carbone et de l'azote, car ils sont les plus utilisées, particulièrement en écologie trophique (voir l'Encadré). Ainsi, des études montrent que le facteur d'enrichissement en azote lourd (15N) diffère selon la forme sous laquelle l'azote est excrété (urée versus ammoniac), (Vanderklift & Ponsard 2003). Ainsi, des organismes possédant des métabolismes différents peuvent être difficilement comparables. De même, le type photosynthétique chez les plantes (C3 *vs* C4 ou CAM), le rapport d'enrichissement en carbone lourd (13C) n'est pas du tout le même (Jardine et al. 2006). D'autres facteurs comme le régime alimentaire, l'âge, le statut reproducteur ou encore le degré de satiété peuvent influencer la signature isotopique d'un organisme (Gannes et al. 1997 ; Webb et al. 1998 ; Vander Zanden & Rasmussen 2001 ; Vanderklift & Ponsard 2003) et doivent donc être pris en considération lors de l'interprétation des données d'analyse isotopique.

D'autre part, il existe des variations spatio-temporelles dans l'abondance naturelle des isotopes stables qui rendent les comparaisons entre régions ou au cours du temps difficiles (Jardine et al. 2006 ; Chouvelon et al. 2012). Généralement il est recommandé de mesurer la signature isotopique de la source putative en nutriment à la base du réseau trophique (le plus souvent les producteurs primaires).

Pour minimiser les sources de variations et supprimer la nécessité de définir une référence de base, des études récentes proposent l'analyse des ratios isotopiques, non pas des organismes entiers mais de constituants particuliers, qui reflètent plus fidèlement le processus de fractionnement, tels les acides gras (Ruess et al. 2002 ; 2004) ou les acides aminées (McClelland & Montoya 2002; Chikaraishi et al. 2009). Une telle approche semble fournir des informations beaucoup plus précises et répétables (Chikaraishi et al. 2011) à cause de l'absence des effets des facteurs de variation, mentionnés plus haut. Cependant, cette méthode est encore peu populaire et elle requiert encore des développements techniques pour être utilisée en routine.

Encadré : Utilisation des isotopes du carbone et de l'azote en écologie trophique

Le carbone et de l'azote sont les constituants principaux de la matière organique, et l'abondance de leurs formes isotopiques permet de les utiliser de façon très efficace comme des traceurs de la matière au sein des organismes et des écosystèmes. Le fractionnement prévisible de l'azote à travers la chaîne trophique et la propriété du carbone de refléter la ressource basale par sa quasi-absence de fractionnement rendent ces deux éléments très utiles pour inférer la position trophique des espèces. Malgré les variations reportées dans la littérature, entre 2.3 - 3.4 ‰ pour le δ15N, et entre 0.5 - 1‰ pour le δ13C, ces différences d'enrichissement suffisent pour permettre de classer les organismes selon leur niveau trophique (azote) ou selon leur ressource basale (carbone). De plus, les gradients naturels qui existent pour les valeurs du carbone entre localités géographiques, entre le milieu terrestre et aquatique, et entre le milieu marin et l'eau douce, permettent d'étudier l'écologie alimentaire d'organismes ayant des cycles de vie complexes (Akamatsu et al. 2004; Kiyashko et al. 2004; Navaro et al. 2013).

Les progrès techniques en termes de mesures autorisent aujourd'hui l'analyse simultanée des ratios 12C/13C et 14N/15N chez le même individu. 5µg de tissu seulement pour l'azote ou 10µg pour le carbone (Hood-Nowotny & Knols 2007) sont nécessaires pour obtenir des informations robustes. Le prix actuel varie entre 7 et 30 euros par échantillon selon le prestataire.

1.3) Mises en gardes méthodologiques

Lorsque l'on souhaite appliquer la technique des isotopes stables pour inférer l'écologie alimentaire d'un organisme, il semble pertinent d'essayer d'anticiper et minimiser les sources de variations indésirables. Cela implique une réflexion sur un certain nombre de choix à effectuer en amont. Tout d'abord, le choix du tissu ou de l'organe à analyser est important, à cause des différences éventuelles de turn-over métabolique ou de composition chimique (McCutchan et al. 2003; Boecklen et al. 2011). Ainsi, le tissu adipeux et la chitine sont appauvris respectivement en carbone et en azote lourd (Newsome et al. 2010; Schimmelmann 2011) et toute variation dans la quantité de ces tissus peut conduire à des interprétations biaisées (Post et al. 2007). La délipidation chimique des échantillons avant analyse isotopique a été proposée comme une solution à ce problème (Boecklen et al. 2011). Cependant, suite

à la mise en évidence d'effets sur les ratios en isotope de l'azote chez les individus délipidés chimiquement, il semble plus approprié de corriger les taux de lipides grâce à des formules adaptées, basées sur le ratio C:N (Sweeting et al. 2006; Logan et al. 2008). Une autre source de biais potentiel dans l'interprétation des données isotopiques est la présence de proies dans le tractus digestif des organismes. Dans ce cas, la signature des proies peut perturber l'estimation de celle du prédateur. Il est donc recommandé de systématiquement faire jeûner les individus ou disséquer leur contenu stomacal. Le mode de préservation des échantillons avant les analyses isotopiques peut également être une source importante de variation. Il a été démontré que selon le type de préservation ou selon l'état de dégradation d'un échantillon, sa signature isotopique peut être altérée (Hobson et al. 1997 ; Ponsard & Amlou 1998). Actuellement, il est recommandé de congeler ou de lyophiliser les échantillons très rapidement après leur collecte pour s'assurer qu'aucun processus de dégradation bactérienne ou autre, ne vienne altérer leur composition isotopique (Ponsard & Amlou 1998).

2) Questions de recherche et stratégie d'analyse

2.1) Problématique de recherche

Dans ce chapitre, et en complément des outils moléculaires haut-débit, nous avons appliqué l'analyse des ratios isotopiques du carbone et de l'azote à l'étude des relations trophiques au sein de la communauté de carabes dans les champs agricoles. Dans un premier temps, nous avons exploré le partitionnement trophique des espèces au sein de la communauté, et dans un deuxième temps nous nous sommes intéressés aux effets de l'environnement immédiat (le type de culture) sur ce partitionnement, en comparant les mêmes communautés de carabes dans deux cultures différentes (blé et colza). D'un point de vue fondamental, notre objectif était de comprendre dans quelle mesure le partitionnement de la ressource est un facteur autorisant la coexistence des espèces. D'un point de vue appliqué, l'objectif était d'identifier des patterns dans le comportement alimentaire des carabes pour mieux prédire le service de contrôle biologique qu'ils pourraient fournir. Pour cela nous avons analysé 48 espèces de carabes, prélevés dans deux champs agricoles (blé et colza) dans un paysage agricole en gestion conventionnelle.

Les principaux résultats des analyses isotopiques réalisées sur la communauté de carabes, typique d'un paysage agricole breton sont présentés en fin de chapitre, sous la forme d'un article, préparé pour soumission à la revue *Journal of Applied Ecology.*

2.2) Problématique méthodologique

Au préalable de cette étude, nous avons mené une réflexion méthodologique afin d'évaluer les sources de variation pouvant potentiellement biaiser les interprétations des signatures isotopiques chez les carabes. Il était donc nécessaire de choisir un tissu à analyser, à la fois, intégrant fidèlement l'écologie alimentaire chez toutes les espèces, et présentant peu de biais en termes d'enrichissement en azote et en carbone lourds. Etant donné qu'il n'existe pas de littérature sur ces problématiques chez les arthropodes, nous nous sommes basés sur les raisonnements menés sur les autres modèles d'études. Ainsi, nous avons testé les deux plus grandes sources de variation sur les ratios isotopiques : le type de tissu et le taux de lipides.
Dans un premier temps, nous avons comparé les ratios isotopiques dans trois types de tissus différents chez une espèce de carabe pour évaluer quel est le type de tissu présentant le moins de biais dans l'enrichissement en 13C et 15N. Dans un deuxième temps, nous avons comparé les ratios 12C/13C et 14N/15N d'individus délipidés et non-délipidés chez deux espèces de carabes. Nous avons également comparé deux méthodes de délipidation : une délipidation chimique et une correction mathématique.
La démarche générale et les résultats de ces mises au point sont présentés ci-dessous.

Matériel & Méthode

1) Effets du type de tissu sur les ratios 12C/13C et 14N/15N

Pour comparer les signatures isotopiques dans les différents types de tissus et pour évaluer les différences entre tissus et l'individu entier, nous avons mesuré les signatures isotopiques en carbone et azote de la tête, du thorax et de l'individu entier chez l'espèce *Carabus nemoralis*. Pour cela des individus ont été collectés en janvier 2011 dans quatre localités proches, dans le département des Deux-Sèvres (Tableau 1). La tête et le thorax ont été disséqués et analysés séparément pour quatre individus. Un individu a été analysé entier. Deux individus ont été analysés entiers mais découpés sur la longueur en deux parties égales et chaque moitié a été

analysée comme une répétition indépendante. Les individus vivants ont jeûné au laboratoire pendant 5 jours avant d'être congelés à -20°C. Après dissection, les carabes ont été lyophilisés et analysés par un spectromètre de masse (Delta Plus, Thermo Fisher) couplé à un analyseur élémentaire (Flash EA 1112, Thermo Fisher), à la Station Biologique de Roscoff. Les ratios isotopiques de l'air atmosphérique (pour l'azote) et du Pee Dee Belemnite (pour le carbone) ont été utilisés comme référence.
Les données ont été analysées par des modèles linéaires généralisés mixtes (GLMM) avec la fonction *lme4* sous R version 3.0.2 (R Development Core Team 2013), avec une famille de distribution gaussienne et un lien logit identité. La localité a été prise en compte en tant que facteur aléatoire dans le modèle.

Tableau 1. Répartition du nombre d'individus de *Carabus nemoralis* analysés, selon le type de tissu et selon la localité d'échantillonnage.

		Localisations d'échantillonnage			
		A	B	C	D
		Bois de Magot	Bois de la Coudre	Bois de Talbant	Bois de Soudan
Type de tissu	Demi-individus (*2)	1	-	1	-
	Tête & Thorax	2	2	-	-
	Entier	-	-	-	1

2) Effets de la délipidation chimique sur les ratios 12C/13C et 14N/15N

Pour évaluer l'intérêt de la délipidation dans l'analyse des ratios 12C/13C et 14N/15N sur les carabes ainsi que son effet possible sur la signature isotopique de l'azote, nous avons comparé des individus avec et sans délipidation chimique chez deux espèces de carabes de taille contrastée (*Pterostichus melanarius*, 12-19 mm et *Metallina lampros*, 3-4.5 mm). Les individus ont été piégés en juillet 2011 sur le domaine expérimental de l'INRA Le Rheu, Ille-et-Vilaine (48°6'N, 1°48'O). Tous les individus ont été lyophilisés, et la moitié d'entre eux ont été broyés entiers, dans un mortier. Le mortier a été décontaminé à l'acétone entre chaque individu. Les lipides ont été extraits au chloroforme-méthanol selon le protocole décrit dans Logan et al.

(2008). Les signatures en C et N ont été mesurées au spectromètre de masse (Delta Plus, Thermo Fisher), couplé à un analyseur élémentaire (Flash EA 1112, Thermo Fisher), à la Station Biologique de Roscoff. L'effet de la délipidation mécanique a été comparé à la correction estimée par la formule proposée par Kiljunen et al. (2006) et appliquée aux valeurs mesurées sur les individus non délipidés. Les valeurs obtenues sur les individus « délipidés », « non délipidés » et celles calculées sur ces derniers par la formule de Kiljunen ont été analysées par GLMM (gaussian distrubition family, logit link identity) avec la fonction *lme4* sous R.

Résultats

1) Effets du type de tissu sur les ratios 12C/13C et 14N/15N

Lorsque l'on analyse la tête et le thorax séparément, le thorax présente un ratio δN15 plus élevé que la tête (fig. 1) même si une très grande variabilité est observée chez les individus de la localité A (fig. 1). Les mesures indépendantes des deux parties du corps des mêmes individus étaient parfaitement répétables (fig. 1). Les résultats des GLMM, en prenant en compte la localité en tant que facteur aléatoire, n'ont pas montré d'effet significatif du type de tissu sur les ratios en carbone (p=0.393) et en azote (p=0.604).

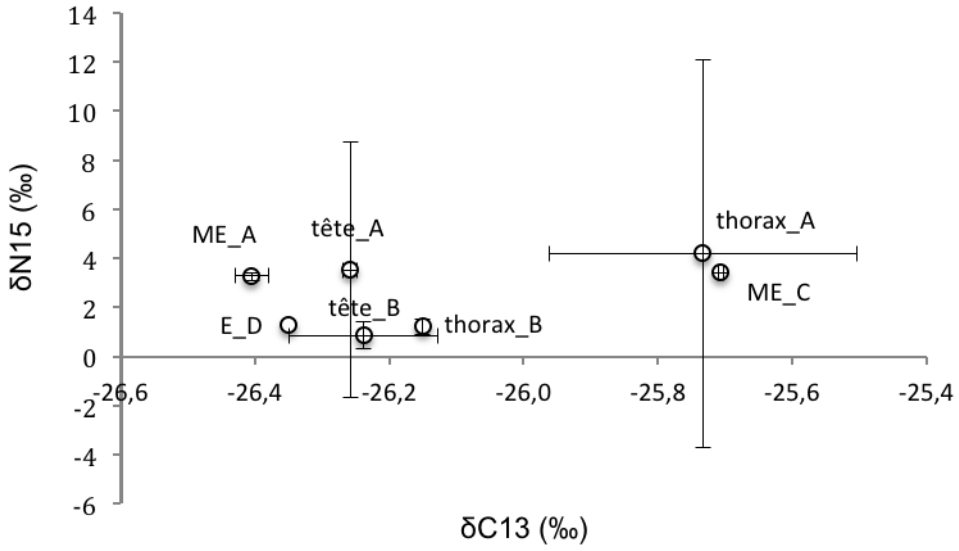


Figure 1. Comparaison des ratios δ15N et δ13C entre les différents types de tissus chez *Carabus nemoralis* (ME± variance). Les lettres A, B, C ou D indiquent les différentes localités. ME = individu entier coupé en deux moitiés ; E = individu entier.

2) Effets de la délipidation chimique sur les ratios 12C/13C et 14N/15N

Aucun effet significatif de la délipidation par chloroforme-méthanol n'a été observé pour les ratios isotopiques du carbone (p=0.434) chez les deux espèces. En ce qui concerne, l'effet de la délipidation sur les ratios isotopiques de l'azote, un appauvrissement significatif a été observé chez *P. melanarius* (p<0.001) mais pas chez *M. lampros* (p=0.393).

L'effet de la correction mathématique sur les ratios isotopiques du carbone a été significative pour les deux espèces (p<0.001). Après correction, on observe un enrichissement de signatures isotopiques du carbone (fig. 2), avec *M. lampros* étant plus enrichi que *P. melanarius*.

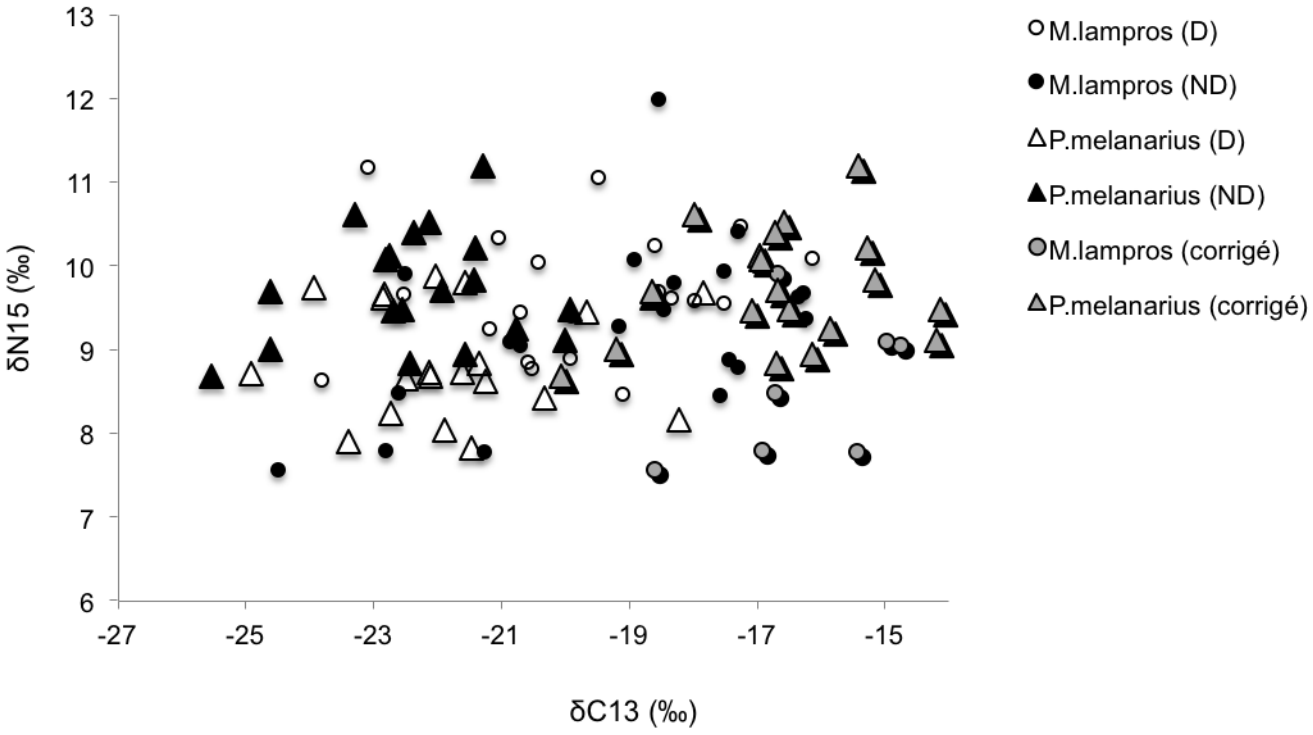


Figure 2. Distribution des ratios δ15N et δ13C des individus de *P. melanarius* et *M. lampros,* selon le type de traitement lipidique. D = délipidé; ND = non délipidé; corrigé = correction mathématique sur les valeurs δ13C des individus non délipidés.

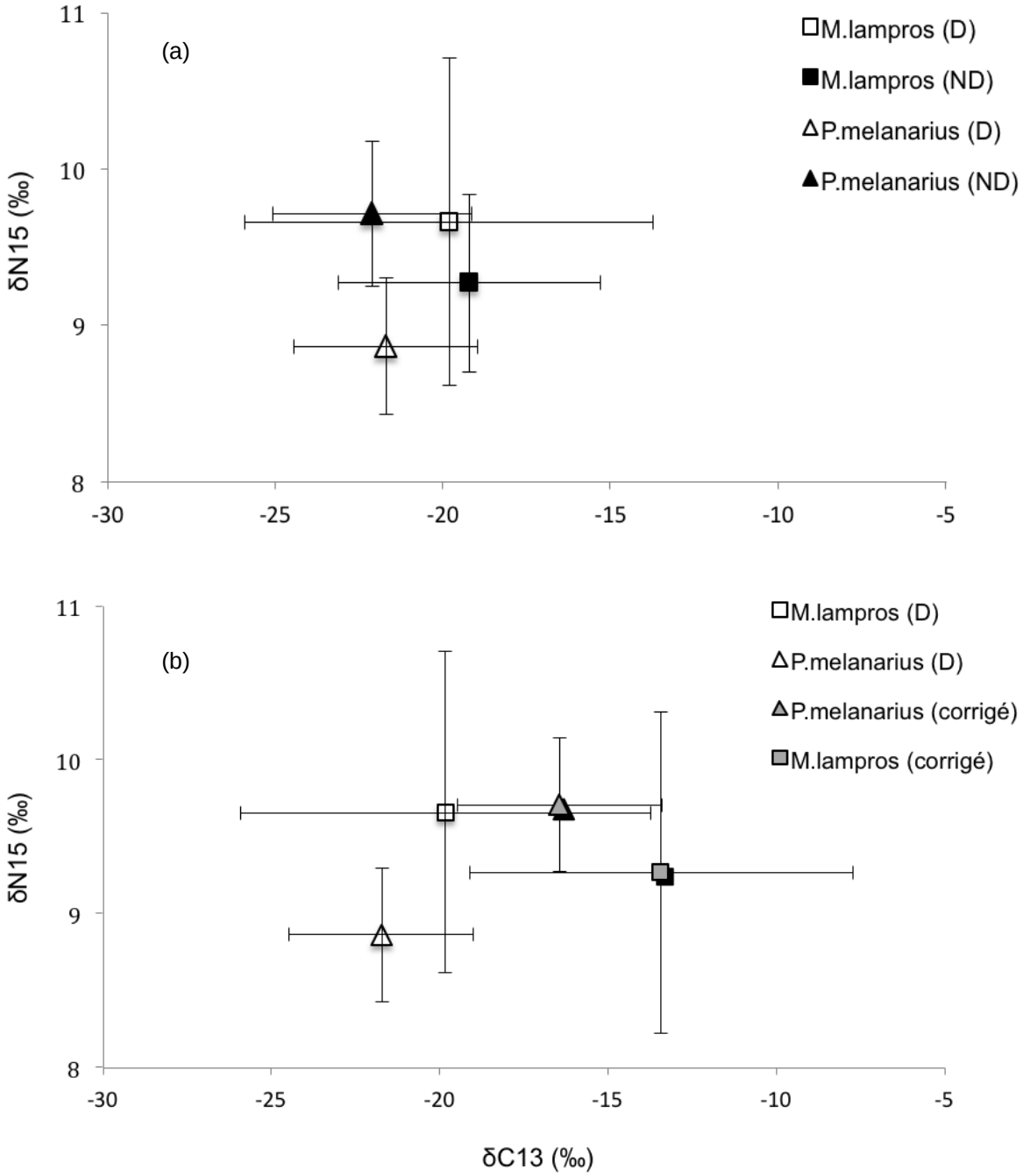


Figure 3. Comparaison des ratios δ15N et δ13C chez *P. melanarius* et *M. lampros* selon le type de traitement lipidique (ME±variance). (a) individus délipidés chimiquement (D) et individus non-délipidés (ND). (b) individus délipidés chimiquement (D) et individus corrigés par formule mathématique (corrigé).

Conclusions

1) Effets du type de tissu sur les ratios 12C/13C et 14N/15N

Il est admis généralement que les muscles ont un turn-over plus important que les autres types de tissus (McCutchan et al. 2003). Avec un taux de métabolisme plus élevé, le nombre de réactions d'incorporation d'isotopes lourds augmente et par conséquent, proportion d'azote lourd également. L'enrichissement relatif du muscle en 15N s'explique aussi par les différences de ratios protéines/lipides, comparé aux autres types de tissus. Chez le muscle la proportion de protéines est généralement plus importante comparé aux autres constituants (McCutchan et al. 2003). Cependant, aucune différence significative de signature isotopique entre le tissu musculaire et les autres tissus n'était observée dans notre cas, il semble donc difficile de conclure. La tête analysée seule n'était pas non plus significativement différente et il n'existe pas non plus informations précises en ce qui concerne les effets du métabolisme du cerveau sur l'enrichissement en 15N et en 13C chez les insectes.
Cependant, l'analyse séparée des différents tissus semble introduire plus de variabilité, et potentiellement de biais dans les interprétations, comparé aux individus entiers. Par conséquent, nous avons décidé, qu'en ce qui concerne la communauté de carabes, nous analyserons les individus entiers. Cela est d'autant plus justifié que pour un certain nombre d'espèces de petite taille, le prélèvement d'un tissu particulier, en quantité suffisante, aurait été difficile.

2) Effets de la délipidation chimique sur les ratios 12C/13C et 14N/15N

Nous n'avons pas démontré d'effet significatif des lipides chez les deux espèces de carabes analysées. En contre partie, nous avons démontré des inconvénients majeurs dans les deux méthodes de délipidation, la délipidation, mécanique et la procédure de correction mathématique. Dans le cas de la délipidation mécanique, les ratios isotopiques en azote sont modifiés chez *P. melanarius*, la plus grosse des deux espèces. Cette altération est déjà connue dans la littérature et l'explication le plus souvent avancée est que les solvants utilisés dans les protocoles de délipidation, éliminent également les lipoprotéines qui sont généralement appauvris en 15N (Bodin et al. 2006). Une élimination importante en lipides appauvris en 15N pourrait en conséquence faire augmenter les ratios δN15 mesurés (Sotiropoulos et al. 2004 ; Sweeting et al. 2006). Cependant, dans notre cas nous avons observé l'effet inverse : un appauvrissement des ratios de l'azote chez *P. melanarius* qui semble difficile à

expliquer. En réalité, il n'existe pas de travaux explorant les efftes de la délipidation sur le ratio d'azote, chez les arthropodes. La seule exception sont les études menées chez un crustacé marin, le crabe-araignée (*Maja brachydactyla*), indiquant que la délipidation mécanique entraîne une augmentation des proportions en 15N mais uniquement pour les tissus riches en lipides comme l'hépatopancréas (Bodin et al. 2006). Une tendance à l'enrichissement en 15N est observée chez l'espèce *M. lampros* mais l'effet n'est pas significatif. Globalement, les protocoles de délipidation chimique sont recommandés uniquement si on travaille avec les ratios de carbone seul ou bien lorsque l'organisme d'intérêt présente des taux de lipides particulièrement élevés comme dans le cas de certains poissons migrateurs (Pinnegar & Polunin 1999; Sotiropoulos et al. 2004 ; Sweeting et al. 2006). Ainsi, les effets de délipidation sur les valeurs de l'azote peuvent être interprétés comme des variations de la position trophique si les individus présentent une forte variabilité dans les taux de lipides. Et même si dans notre cas, ces effets sont visibles uniquement chez l'une des espèces, vu l'absence d'effet significatif sur les ratios de carbone, il semble plus intéressant de ne pas appliquer cette méthode dans le cas des carabes.

Toutefois, il serait intéressant d'approfondir les investigations sur le sujet dans le cas des arthropodes. Cela se justifie d'autant plus que chez les insectes en particulier, la diversité et les proportions de lipides d'une espèce à l'autre semblent extrêmement variables (Cerkowniak et al. 2013). Cela peut poser problème lors des comparaisons de ratios isotopiques entre plusieurs espèces, surtout si elles sont taxonomiquement éloignées.

En ce qui concerne la correction mathématique, elle a pour effet de mimer un enrichissement significatif de nos échantillons en 13C sans altérer l'azote qui ne rentre pas dans le calcul. Néanmoins, la correction mathématique semble surestimer le taux d'appauvrissement en 13C puisque les échantillons sont encore plus enrichis en 13C comparé aux individus délipidés mécaniquement (fig. 2 ; 3a, b). Les mêmes résultats ont été aussi observés dans l'étude expérimentale, mentionnée plus haut, visant la comparaison entre délipidation mécanique et correction mathématique chez le crabe-araignée (Bodin et al. 2006). Ces résultats suggèrent que les formules proposées dans la littérature ne sont pas forcément adaptées à tous les groupes taxonomiques. En effet, le taux d'appauvrissement en C13 des lipides (6‰), utilisé dans les formules de correction, a été estimé à partir de mesures effectuées sur des organismes marins, essentiellement vertébrés. Il serait intéressant d'effectuer des mesures expérimentales pour évaluer le taux d'appauvrissement en 13C des lipides chez les arthropodes, d'autant plus que la très grande diversité au sein ce groupe implique de différences physiologiques aussi très importantes.

En conclusion, nos résultats indiquent que dans le cas des carabes, il semble plus raisonnable de mener l'analyse des ratios isotopiques sur les individus entiers, sans délipider et sans appliquer une correction mathématique.

Il est à noter que, de part son appauvrissement en 15N, la chitine peut créer des biais dans l'interprétation des ratios d'azote, similaires à ceux décrits pour les lipides sur le carbone. Toutefois, comme il semble difficile de comparer les effets de la chitine en laboratoire, nous avons décidé d'éliminer par dissection et dans la mesure du possible la chitine (e.g. les élytres, les pattes, etc) lorsque nous avons appliqué l'analyse isotopique sur la communauté de carabes.

3) ARTICLE: Resource overlapping and resource partitioning in carabid beetles, a community-scale stable isotope analysis

Stefaniya Kamenova[1,2*], Cedric Leroux[3], Sarah E. Polin[1] and Manuel Plantegenest[1]

[1]Centre d'Etudes Biologiques de Chizé, 79360 Villiers-en-Bois, France ; [2]UMR 1349 Institut de Génétique, Environnement et Protection des Plantes, 35042 Rennes, France ; [3]Station Biologique de Roscoff, Place Georges Teissier 29680 Roscoff, France

Summary

1. Disentangle complex trophic interactions among species is important for understanding underlying processes and predicting achievement of ecological functions.
2. Carabid beetles are species-rich and abundant community in arable landscapes, and they potentially provide essential ecosystem services as pest control. But their generalist feeding behavior hinders predictions for their real contribution.
3. In order to evaluate carabid's potential for pest regulation we compare simultaneously the trophic position of several species in two different crop types using stable isotope analysis.
4. Despite apparent overlapping of trophic niches, we demonstrate several distinct trophic positions and spatially structured resource partitioning, with species dependent on local resources, and others who seem to be mobile foragers.
4. *Synthesis and applications.* Predicting delivering of ecosystem services, as biological control, is crucial for achieving productive and sustainable agriculture. We demonstrate that stable isotopes are valuable and affordable technique for inferring trophic position of carabid beetles. Together their generalist feeding behavior and their diversified trophic strategies, greatly suggest that carabids have the potential to regulate both animal and plant pests. This means that maintaining carabid beetles' diversity in arable fields should be an important component of future management strategies.

Key-words: Carabidae, biological control, trophic position, oilseed rape, agriculture, biodiversity, stable isotopes, niche

*Correspondence author. E-mail: stefaniya.kamenova@gmail.com

Introduction

Many natural communities evince intriguing levels of biodiversity, and the origin and the maintenance of this biodiversity is a central question in ecology. Nevertheless, the complexity of interactions among species challenged theoretical and methodological achievements, especially with regards to trophic networks (Cohen *et al*. 1993; Memmott 2009). Although, disentangling trophic relationships between species is critical for better predict ecosystem functioning (Thébault & Loreau 2005).

Carabid beetles are an important and diversified guild of generalist predators in arable lands (Kromp 1999). For more than a century, their trophic ecology is a focal object of investigation by ecologists (Forbes 1883; Lindroth 1992; Davies 1953; Sunderland 1975; Hengeveld 1980b; Loreau 1983; Pollet & Desender 1985b; King *et al*. 2010; Okuzaki *et al*. 2010; Davey *et al*. 2013). This substantial interest on carabids' trophic preferences was mainly justified by their potential contribution to the natural regulation of pests (Thiele 1977; Luff 1987; Sunderland *et al*. 1997). Interest was also justified by the striking opportunistic feeding behavior of this species-rich group of coleopterans. Indeed, numerous studies based on a variety of methods have demonstrated not only significant consumption of pests but also of a large range of taxa, across large geographic ranges (Larochelle 1990). However, despite this diversity of approaches and huge quantity of data available on their diet, carabids' trophic position remains widely uncertain (Kotze *et al*. 2011). Nevertheless, predicting trophic niche of carabid species is essential for measuring their involvement in ecosystem services as pest control and for successfully managing their populations in crop fields (Symondson *et al*. 2002).

From a theoretical point of view the coexistence of so many species with so similar requirements, as carabid beetles, remains puzzling (Gause 1932), especially in habitats characterized by the scarcity of resources and their low diversity as are agricultural lands (Matson *et al*. 1997). Some authors suggested that temporal variation of activity according to seasons (Sota 1985a; Loreau 1986) or circadian rhythms (Kamenova *et al*. *submitted*) should reduce direct interferences, and thus relax competition. However, Western European climate does not allow a wide range of seasonal activity and a high number of insects are constrained to develop and reproduce during the spring-summer period (Kotze *et al*. 2011). Consequently, carabid beetles are forced to forage on relatively similar resources during the same time. Some carabid genera could be more or less specialized on particular food resources (Zetto-Brandmayr 1990; Toft & Bilde 2002; Honek *et al*. 2003), thus potentially limiting diet overlapping with the other species. But given carabids' trophic plasticity it is not

clear yet in literature, which are herbivorous species and which are not (Kotze *et al*. 2011). For assessing the trophic position of generalist consumers as carabid beetles, a more integrative estimation of diet is required. In trophic ecology, stable isotope analysis is a particularly relevant technique for determining resource utilization over an extended time period (Traugott et al. 2013). Indeed, naturally occurring stable isotopes are incorporated into consumers' tissues during metabolism with a net preference for heavier isotopes (isotopic fractionation) (Ehleringer & Rundel 1988). So changes in heavy-to-light isotope ratios in organisms' tissues may reflect its feeding history. The isotopic ratios the most frequently used by trophic ecologists are those of the carbon ($^{13}C/^{12}C$), and of the nitrogen ($^{15}N/^{14}N$). It is generally admitted that carbon fractionation across the food chain is very weak, and thus that $^{13}C/^{12}C$ ratio is a proxy of the base food sources (Gannes *et al*. 1997, 1998). On a contrary, enrichment in about 3,4‰ per trophic level is admitted for nitrogen ratios; thus, $^{15}N/^{14}N$ ratio indicates the trophic position (Eggers & Jones 2000; Ponsard & Arditi 2000). Post-feeding metabolism of isotopes is time-lasting process, so the stable isotope analysis is a valuable technique for exploring the trophic niche of a species at lifetime scale. We conducted community-wide stable isotope analysis searching for steady patterns of trophic niche differentiation between co-occurring carabid beetles in a typical agricultural landscape. We also compare trophic positions between two common crop types, oilseed rape and wheat, and we further investigate the relationship in $^{13}C/^{12}C$ ratios with these baselines.

Material and Methods

COLLECTION AND SAMPLE PREPARATION

Carabid beetles were collected alive in empty pitfall traps in two arable fields (one wheat and one oilseed rape) in the *LTER* area 'Armorique' (http://osur.univ-rennes1.fr/za-armorique/), Ille-et-Vilaine, France (48° 36′ N, 1° 32′ W). For maximizing captures 51 (wheat) and 53 (oilseed rape) pitfall traps were placed. Traps were emptied every 24 hours, twice a week, between April and May 2012. To avoid any temporal shift in isotopic signatures, only individuals caught between 03 and 23 May 2012 were processed. Living individuals were sorted out at the laboratory, freeze-killed at -20°C and identified to the species level. Stems and leafs from both cultures, oilseed rape (*Brassica napus* L., 1753 var. *napus*, Capparales: Brassicaceæ) and

wheat (*Triticum aestivum* L., 1753, Cyperales: Poaceæ) were sampled to settle a baseline reference for assessing trophic positions. Carabids and plants were freeze-dried, and gut contents and chitinous elytra were removed from carabid beetles to avoid bias in isotope signatures. The smallest species (2.5-4.5mm) as *Phyla obtusa*, *Metallina lampros*, *Metallina properans*, *Syntomus foveatus* and *Syntomus obscuroguttaus* were not dissected. Dissected individuals and plants were ground into fine powder manually. Tin capsules containing between 1 and 2 mg of tissue of each individual were processed with isotope-ratio mass spectrometer. The stable isotopic composition of element X (δX) was expressed as a relative ratios, in parts per thousand, to an international standard: $\delta X = [(R_{sample}/R_{standard}) - 1]*1000$, where R_{sample} is the absolute isotopic ratio (heavy/light) of the sample and $R_{standard}$ is the correspondent ratio in the standard (Peterson & Fry 1987; Ehleringer & Rundel 1988). The international standards used were Pee Dee Belemnite for $\delta^{13}C$ and atmospheric nitrogen for $\delta^{15}N$.

STATISTICAL ANALYSIS

Statistical analyses were run with the R software (R Core Team 2013). Interspecific and inter-crop variations in $\delta^{13}C$ and $\delta^{15}N$ isotopic signatures were tested with a two-way ANOVA. Species represented by less than 2 individuals were not taken into account in statistical analyses but they were projected on graphical outputs. For further investigating the relationship between carabid isotopic signatures and the baseline (wheat or oilseed rape), thereafter we selected all species present in both cultures and we realized a GLM with the glm function in Rversion 3.0.2 (gaussian distrubition family, logit link identity) for testing if differences of carabid $\delta^{13}C$ ratios were significantly different from $\delta^{13}C$ difference between the two cultivated plants (wheat and oilseed rape). Consequently, species were grouped as they differed significantly or not from $\delta^{13}C$ difference between wheat and oilseed rape.

Results

COMMUNITY-WIDE ISOTOPIC RATIOS

A total of 45 species from 26 different genera (Table 1) were obtained. Globally, a higher number of species and of individuals were caught in oilseed rape field than in wheat field. Twenty-eight species were common in both cultures. The sample size comprised between 1-16 individuals per species. For plants, 5 (wheat) and 8 (rape)

measures of a mix of several plant stems were realized. Values of carbon ratios were more spread in wheat and values of nitrogen ratios were more spread in rape (fig. 1a, b). Means of $^{13}C/^{12}C$ ratios assessed in carabids ranged in wheat between -14.3‰ (*Harpalus rubripes*) and -29.4‰ (*Amara familiaris*), and between -22.8‰ (*Ocydromus tetracolus*) and -30.8‰ (*Nebria salina*) in oilseed rape. Means of $^{15}N/^{14}N$ ratios ranged between 2.8‰ (*Loricera pilicornis*) and 11.3‰ (*Pterostichus vernalis*) in wheat, and between 1.2‰ (*Amara lunicollis*) and 12.2‰ (*Pterostichus melanarius*) in oilseed rape. Thus, the nitrogen values encompassed more than three trophic levels (3.4‰) (fig. 1a, b).

Differences between species, between crop types and their interaction explained a significant part of the variance for carbon and nitrogen (Table 2). Isotopic signature of the baseline (plants) was significantly different between wheat and rape for carbon (ANOVA, $p < 0.01$) but not for nitrogen (ANOVA, $p = 0.13$).

SPATIAL PATTERN OF VARIATION IN $^{13}C/^{12}C$ RATIOS

Concerning the relation with the isotopic ratios of cultures, two different patterns were identified. In some of them, the $^{13}C/^{12}C$ ratio was fixed and independent from the field of collection (fig. 2a). In the others, the $^{13}C/^{12}C$ ratios differed between fields from a value not significantly differing from the difference in $^{13}C/^{12}C$ ratio observed between the two cultivated plants (wheat and oilseed rape) (fig. 2b).

Discussion

COMMUNITY-WIDE ISOTOPIC RATIOS

Isotopic ratios across carabid community ranged over three trophic levels for nitrogen and over potentially multiple base sources for carbon. The considerable overlapping of signatures between species suggests a wide diet spectrum for carabid species. However, despite overlap, carabids seem to partition their isotopic niches and they do not all feed on the same trophic position. The majority of species analyzed in our study occupied a trophic position in accordance with data from literature, thus suggesting that isotopic ratio are good predictors for carabids' trophic niche. And although apparent differences in trophic positions for some species between the two crop types, the relative ranking of species and the number of trophic levels remain substantially the same.

The lowest $^{15}N/^{14}N$ level was occupied by species belonging to the *Amara* genus, indicating a predominantly herbivorous diet. However, a large range of variation in $^{15}N/^{14}N$ ratios was recorded among the *Amara* species and three species (*Amara similata*, *Amara ovata* and *Amara familiaris*) exhibited high $^{15}N/^{14}N$ ratios suggesting a high position in the trophic chain. Surprisingly, whilst *Amara* species were almost entirely lacking in wheat, they formed a diversified and abundant group in oilseed rape. One might expect that these phytophagous feeders preferentially forage on energy-rich and easy available rape pollen and seeds. Albeit, numerous studies also demonstrated carnivorous feeding habits for some *Amara* species (Hengeveld 1980a; Larochelle 1990) and the value of a mixed diet throughout life or in particular stages of its life cycle (Sasakawa *et al*. 2010). Our results suggest that different degree of trophic specialization is occurring in the *Amara* genus with individuals almost exclusively phytophagous towards more carnivorous ones.

Pterostichus species appeared to be always at the upper space of the isotopic landscape. These species are famous with their generalist and voracious behavior (Sunderland 2002), especially the case of *Pterostichus melanarius,* which are the biggest top predator dominating summer-autumn carabid communities (Symondson *et al*. 2000). Records for *Pterostichus* species suggest that they are able to feed on at least four different phyla and several tens of families (Larochelle 1990; Sunderland 2002), and they are particularly prone to intraguild predation and even cannibalism (Holland 2002). Our study confirms the predacious nature of these species and thus, their position of top predators in agricultural fields.

The two species from the genus Harpalus (*Harpalus affinis* and *Harpalus rubripes*) showed a markedly extreme carbon values. Harpalini tribe is known to be granivorous generalists according to literature (Zetto Brandmayr 1990). And even if they seem to consume animal preys too, seeds appear as the optimal food for their development (Hurka & Jarošík 2003; Jørgensen & Toft 1997a; Saska & Jarošík 2001). The extreme δ13C signatures for these *Harpalus* species indicate that they feed on a very different source of carbon compared to the culture. Previous observations point out a significant preference of *Harpalus* spp. for Asteraceae seeds (Lindroth 1992; Thiele 1977). In our study area, these plant species were mainly present in the field margins and given the limited number of *Harpalus* beetles caught in the crops, it will be not surprising if they forage preferentially out of cultivated fields.

All other carabid species distributed across the $\delta^{13}C$ and $\delta^{15}N$. Their intermediate positions and high degree of overlap could confirm the generally admitted omnivorous trophic behavior in carabid beetles.

We demonstrate that there is a strong relationship between the isotopic signatures of the baseline (plants) and some carabid species. Species whose isotopic ratios where dependent on the plant isotopic ratio seem to feed locally, whereas species with independent ratios seem respond to other factors in their feeding choices. Among species with carbon isotopic signatures independent of local baseline, *Amara* species formed a very coherent group. Apparently, these species seem to be structured by their carbon resource despite the fact that they range over several trophic positions for nitrogen. One plausible explanation is that oilseed rape determines both their feeding resources and their spatial distribution. Indeed, in our study *Amara* were mainly encountered in oilseed rape fields and only occasional captures were realized in the other crops. For example, we collected only one or two individuals per *Amara* species in wheat field for the month of May, and the number of species was limited. Even if some species as *A. similata* or *A. ovata* exhibit more predacious behavior as adults, all these species are dependent on plant consumption for larva or for adults during reproduction (Jørgensen & Toft 1997b; Hurka 1998; Saska & Jarošík 2001). According to literature, in laboratory conditions, *Amara* species exhibit net preferences for Brassicaceae species if multiple plant species are offered (Thiele 1977). If is the case in the field, cultivated oilseed rape fields could constitute abundant and valuable resource in agricultural landscapes for these carabid species.

Loricera pilicornis and *Brachinus sclopeta* shared the same behavior as *Amara* spp. and external factors seem determine their feeding habits. These two species are not known to be plant feeders, contrariwise *L. pilicornis* is well-adapted Collembola specialist (Bauer 1986) and *B. sclopeta* is recorded as carnivorous (Larochelle 1990). Both species are equally abundant in wheat and oilseed rape fields. And as for *L. pilicornis* we found hardly explanation, the case of *B. sclopeta* is particularly interesting. Recent studies demonstrated the ectoparasitoidic behavior of species from the genus *Brachinus* (Weber *et al*. 2008). The early instar larvae of species as *B. crepitans*, *B. explodens* and *B. elegans* were shown to parasitize pupae of *Amara* species in laboratory conditions (Saska & Honek 2004; Makarov & Bokhovko 2005). As this particular strategy implies to optimize encounter with host, it is understandable if adults *B. sclopeta* forage in areas they deposit their eggs.

Some other species seemed to respond in a similar manner as *Amara* species regarding their relation to the baseline ratios but it is difficult to draw conclusions, as only one individual was collected in wheat compared to oilseed rape (*Asaphidion flavipes*, *Pterostichus strenuus*, *Agonum afrum*). Although, this suggests that these

species do not occur in wheat translating indirectly potentially a preferential foraging for these species.

Pterostichus melanarius and *Ocydromus tetracolus* were both independent from the baseline in their $\delta^{13}C$ ratios but they seemed to be apart from the *Amara* group. Both species were pointed as predators. *P. melanarius* is a generalist top predator and its feeding behavior has been studied extensively (Larochelle 1990; Sunderland 2002). Investigations reveal that this species exhibit non-random predation strategies (Sunderalnd 2002) and that its spatial distribution is dynamically dependent on the distribution of the prey (Bohan *et al*. 2000; Winder *et al*. 2001). This aggregative behavior on high-density patches of a given prey could explain the independence from the baseline for some carabid species.

Conclusion

Despite apparent trophic opportunism in carabid community, we demonstrate that in co-occurring species resource utilization is partitioned across several tropic levels and this partitioning is structured spatially. It is plausible that such an adjustment of trophic preferences has been set up for reducing potential competition among species (Loreau 1986; Niemelä 1993). By an original and relatively simple analytical procedure, we also show that isotopic ratios could be a good predictor for complex foraging strategies in some carabid species. These findings confirm the usefulness of stable isotope analysis in trophic ecology. From applied point of view, evidence for resource partitioning in carabid communities presents a considerable agronomical interest. Highly diverse carabid assemblages should optimize resource utilization and thus, potentially natural pests' regulations (Kruess & Tscharntke 1994; Snyder *et al*. 2006). The diversity of trophic strategies exhibited by carabid beetles should guarantee control of both, animal and plant injurious organisms. Of course, prospective consumption of oilseed rape by some *Amara* species implies further investigations about potential damages they could cause. However, their impact should be rather limited by the processes of natural regulation occurring in the field (e.g. potential ectoparasitoidism and potential predation by other carabid species). Our findings confirm the necessity of management efforts for preserving biodiversity in arable land. Finally, we recommend combining approaches and methodologies in order to shed light on this obvious complexity of trophic interactions among farmland invertebrate communities.

Acknowledgements

We greatly thank persons that helped with field collection of carabid beetles: Frédéric Hamelin, Nolwenn Génuit, Maël Dugué, Kévin Tougéron, Théo Vantsteenkeste, Frédérique Mahéo, Lucie Mieuzet, Nathalie Leterme, Jean-François Le Gallic, Bernard Chaubet and Sarah Polin. We also thank the *LTER* area 'Armorique' for provided infrastructures and the farmers for allowing us to sample in their fields. This study was funded by the French ANR project 'Landscaphid' (French National Research Agency, ANR-09-STRA-05). SK was partially funded by the Région Poitou-Charentes, France during her PhD thesis.

References

Bauer, T. (1986) How to capture springtails on the soil surface. The method of *Loricera pilicornis* F. *Feeding Behaviour and Accessibilify of Food for Carabid Beetles* (eds P.J. Boer, L. Griim & J. Szyszko), pp. 43-48. Agricultural University Press, Warsaw.

Bohan, D.A., Bohan, A.C., Glen, D.M., Symondson, W.O.C., Wiltshire, C.W. & Hughes, L. (2000) Spatial dynamics of predation by carabid beetles on slugs. *Journal of Animal Ecology*, **69**, 367-379.

Cohen, J.E., Beaver, R.A., Cousins, S.H., Deangelis, D.L., Goldwasser, L., Heong, K.L., Holt, R.D., Kohn, A.J., Lawton, J.H., Martinez, N., Omalley, R., Page, L.M., Patten, B.C., Pimm, S.L., Polis, G.A., Rejmanek, M., Schoener, T.W., Schoenly, K., Sprules, W.G., Teal, J.M., Ulanowicz, R.E., Warren, P.H., Wilbur, H.M. & Yodzis, P. (1993) Improving food webs. *Ecology*, **74**, 252–258.

Davies, M.J. (1953) The contents of the crops of some British carabid beetles. *Entomologist's Monthly Magazine*, **89**, 18-23.

Davey, J.S., Vaughan, I.P., King, R.A., Bell, J.R., Bohan, D.A., Bruford, M.W., Holland, J.M., & Symondson, W.O.C. (2013) Intraguild predation in winter wheat: prey choice by a common epigeal carabid consuming spiders. *Journal of Applied Ecology*, **50**, 271-279.

Eggers, T. & Jones, T.H. (2000) You are what you eat…or are you? *Trends in Ecology and Evolution*, **15**, 265-266.

Ehleringer, J. R. & Rundel, P. W. (1988) Stable isotopes: history, units and instrumentation. *Stable Isotopes in Ecological Research* (eds P.W. Rundel, J.R. Ehleringer & K.A. Nagy), pp. 2–15. Springer-Verlag, New York,

Forbes, S.A. (1883) The food-relation of the Carabidae and Coccinellidae. *Illinois State Laboratory Natural History Bulletin*, **1**, 33–47.

Gannes, L.Z., O'Brien, D.M. & Martínez des Rio, C. (1997) Stable isotopes in animal ecology: assumptions, caveats, and a call for more laboratory experiments. *Ecology*, **78**, 1271-1276.

Gannes, L.Z., Martínez del Rio, C. & Koch, P. (1998) Natural abundance variations in stable isotopes and their potential uses in animal physiological ecology. *Comparative Biochemistry and Physiology*, **119A**, 725-737.

Gause, G.F. (1932) Experimental studies on the struggle for existence: I. Mixed population of two species of yeast. *The Journal of Experimental Biology*, **9**, 389–402.

Hengeveld, R. (1980a) Qualitative and quantitative aspects of the food of ground beetles (Coleoptera: Carabidae): a review. *Netherlands Journal of Zoology*, **30**, 557-563.

Hengeveld, R. (1980b) Polyphagy, oligophagy and food specialisation in ground beetles (Coleoptera, Carabidae). *Netherlands Journal of Zoology*, **30**, 564-84.

Holland, J.M. (2002) *The Agroecology of Carabid Beetles*. Intercept, Andover, UK.

Honek, A., Martinkova, Z. & Jarošík, V. (2003) Ground beetles (Carabidae) as seed predators. *European Journal of Entomology*, **100**, 531–544.

Hurka, K. (1998) Larval taxonomy, development and diet of *Amara (Amara) famelica*, *A. (A.) littorea* and *A. (A.) proxima* (Coleoptera: Carabidae: Amarina). *Acta Societatis Zoologicae Bohemicae*, **62**, 105-113.

Hurka, K. & Jarošík, V. (2003) Larval omnivory in *Amara aenea* (Coleoptera: Carabidae). *European Journal of Entomology*, **100**, 329–335.

Jørgensen, H.B. & Toft, S. (1997a) Food preference, diet depedent fecundity and larval development in *Harpalus rufipes* (Coleoptera: Carabidae). *Pedobiologia*, **41**, 307-315.

Jørgensen, H.B. & Toft, S. (1997b) Role of granivory and insectivory in the life cycle of the carabid beetle *Amara similata*. *Ecological Entomology*, **22**, 7-15.

King, R.A., Vaughan, I.P., Bell, J.R., Bohan, D.A. & Symondson, W.O.C. (2010) Prey choice by carabid beetles feeding on an earthworm community analysed using species- and lineage-specific PCR primers. *Molecular Ecology*, **19**, 1721-1732.

Kotze, D.J., Brandmayr, P., Casale, A., Dauffy-Richard, E., Dekoninck, W., Koivula, M., Lövei, G.L., Mossakowski, D., Noordijk, J., Paarmann, W., Pizzolotto, R., Saska, P., Schwerk, A., Serrano, J., Szysko, J., Taboada, A., Turin, H., Venn, S., Vermeulen, R. & Zetto, T. (2011) Forty years of carabid beetle research in Europe – from taxonomy, biology, ecology and population studies to bioindication, habitat assessment and conservation. *ZooKeys*, **100**, 55–148.

Kromp, B. (1999) Carabid beetles in sustainable agriculture: a review on pest control efficacy, cultivation impacts and enhancement. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, **74**, 187–228.

Kruess, A. & Tscharntke, T. (1994) Habitat fragmentation, species loss, and biological control. *Science*, **264**, 1581–1584.

Larochelle, A. (1990) *The Food of Carabid Beetles*. Fabreries Supplement 5.

Lindroth, C.H. (1992) Ground Beetles (Carabidae) of Fennoscandia – A Zoogeographical Study.Translation by J. Adis & T.L. Erwin of Lindroth, C.H. (1945, 1949). *Die Fennoskandischen Carabidae*. Smithsonian Institution.

Loreau, M. (1983) Le régime alimentaire de huit carabides (Coleoptera) communs en milieu forestier. *Acta Oecologica*, **4**, 331-343.

Loreau, M. (1986) Niche differentiation and community organization in forest carabid beetles. *Carabid Beetles: Their Adaptations and Dynamics* (eds P.J. den Boer, M.L. Luff, D. Mossakowski & F. Weber), pp. 465–487. Gustav Fischer, Stuttgart, Germany.

Luff, M.L. (1987) Biology of polyphagous ground beetles in agriculture. *Agricultural Zoology Reviews*, **2**, 237–278.

Makarov, K.V. & Bokhovko, E.E. (2005) Continuity of chaetom pattern in *Brachinus* larvae developing with hypermetamorphosis (Coleoptera: Carabidae). *Russian Entomological Journal*, **14**, 263–274.

Matson, P.A., Parton, W.J., Power, A.G. & Swift, M.J. (1997) Agricultural intensification and ecosystem properties. *Science*, **277**, 504-509.

Memmott, J. (2009) Food webs: a ladder for picking strawberries or a practical tool for practical problems? *Philosophical Transactions of The Royal Society of London, Series B*, **364**, 1693–1699.

Niemelä, J. (1993) Interspecific competition in ground-beetle assemblages (Carabidae): What have we learned? *Oikos*, **66**, 325–335.

Okuzaki, Y., Tayasu, I., Okuda, N. & Sota, T. (2010) Stable isotope analysis indicates trophic differences among forest floor carabids in Japan. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **135**, 263–270.

Peterson, B. J. & Fry, B. (1987) Stable isotopes in ecosystem studies. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **18**, 293–320.

Pollet, M. & Desender, K. (1985b) Adult and larval feeding ecology in *Pterostichus melanarius* Ill. (Coleoptera, Carabidae). *Mededelingen Faculteit Landbouwwetenschappen Rijksuniversiteit Gent*, **50/2b**, 581-594.

Ponsard, S. & Arditi, R. (2000) What can stable isotopes (δ15N and δ13C) tell about the food web of soil macro-invertebrates? *Ecology*, **81**, 852–864.

R Core Team (2013) R: A language and environment for statistical computing. *R Foundation for Statistical Computing*, Vienna, Austria. URL http://www.R-project.org/.

Sasakawa, K., Ikeda, H. & Kubota, T. (2010) Feeding ecology of granivorous carabid larvae: a stable isotope analysis. *Journal of Applied Entomolology*, **134**, 116-122.

Saska, P. & Honek, A. (2004) Development of the beetle parasitoids, *Brachinus explodens* and *B. crepitans* (Coleoptera: Carabidae). *Journal of Zoology*, **262**, 29–36.

Saska, P. & Jarošík, V. (2001) Laboratory study of larval food requirements in nine species of Amara (Coleoptera: Carabidae). *Plant Protection Science*, **37**, 103-110.

Snyder, W.E., Snyder, G.B., Finke, D.L. & Straub, C.S. (2006) Predator biodiversity strengthens herbivore suppression. *Ecology Letters*, **9**, 789–796.

Sota, T. (1985a) Activity patterns, diets and interspecific interactions of coexisting spring and autumn breeding carabids: *Carabus yaconinus* and *Leptocarabus kumagaii* (Coleoptera, Carabidae). *Ecological Entomology*, **10**, 315–324.

Sunderland, K.D. (1975) The diet of some predatory arthropods in cereal crops. *Journal of Applied Ecology*, **12**, 507-515.

Sunderland, K.D., Axelsen, J.A., Dromph, K., Freier, B., Hemptinne, J.-L., Holst, N.H., Mols, P.J.M., Petersen, M.K., Powell, W., Ruggle, P., Triltsch, H. & Winder, L. (1997) Pest control by a community of natural enemies. *Arthropod Natural Enemies in Arable land III. The Individual, the Population and the Community* (ed W. Powell). *Acta Jutlandica*, **72**, 271–326.

Sunderland, K.D. (2002) Invertebrate pest control by Carabids. *The Agroecology of Carabid Beetles* (ed. by J.M. Holland), pp. 165 – 214. Intercept, Andover, UK.

Symondson, W.O.C., Glen, D.M., Erickson, M.L., Liddell, J.E. & Langdon, C.J. (2000) Do earthworms help to sustain the slug predator *Pterostichus melanarius* (Coleoptera: Carabidae) within crops? Investigations using monoclonal antibodies. *Molecular Ecology*, **9**, 1279-1292.

Symondson, W.O.C., Sunderland, K.D. & Greenstone, M.H. (2002) Can generalist predators be effective biocontrol agents? *Annual Review of Entomology*, **47**, 561–94.

Thébault, E. & Loreau, M. (2005) Trophic Interactions and the relationship between species diversity and ecosystem stability. *The American Naturalist*, **166**, 95-114.

Thiele, H.U. (1977) *Carabid Beetles in Their Environments*. Berlin/Heidelberg, Springer.

Toft, S. & Bilde, T. (2002) Carabid diets and food value. *The Agroecology of Carabid Beetles* (ed. by J.M. Holland), pp. 81–110. Intercept, Andover, UK.

Traugott, M., Kamenova, S., Ruess, L., Seeber, J. & Plantegenest, M. (2013) Empirically characterising trophic networks: what emerging DNA-based methods, stable isotope and fatty acid analyses can offer. *Advances in Ecological Research*, **49**, 175-222.

Weber, D., Saska, P. & Chaboo, C. (2008) Carabid beetles (Coleoptera: Carabidae) as parasitoids. *Encyclopedia of Entomology* (ed J.L Capinera), pp. 719–721.Springer, New York, Berlin, Heidelberg, Tokyo.

Winder, L.H., Alexander, C.J., Holland, J.M., Woolley, C. & Perry, J.N. (2001) Moddeling the dynamic spatio-temporal response of predators to transient prey patches in the field. *Ecology Letters*, **4**, 568-576.

Zetto Brandmayr, T. (1990) Spermophagous (seed-eating) ground beetles: First comparison of the diet and ecology of the Harpaline genera Harpalus and Ophonus (Col., Carabidae). *The Role of Ground Beetles in Ecological and Environmental Studies* (ed N. Stork), pp. 307–316. Andover, Intercept.

Fig. 1 $\delta^{13}C$ and $\delta^{15}N$ isotopic ratios (mean±SD) of plants and carabid species; 36 species in (a) wheat and 38 species in (b) oilseed rape carabid. For species codes, see table 1. Data without error bars represent single individuals.

Fig. 2 The 26 species shared by both cultures, grouped according to their $\delta^{13}C$ difference with the baseline in (a) wheat, and (b) oilseed rape. Species independent of the baseline (full circles) are significantly different from the difference between wheat and oilseed rape. Species dependent of the baseline (empty circles) do not differ significantly from the differences between wheat and oilseed rape.

Figure 1a.

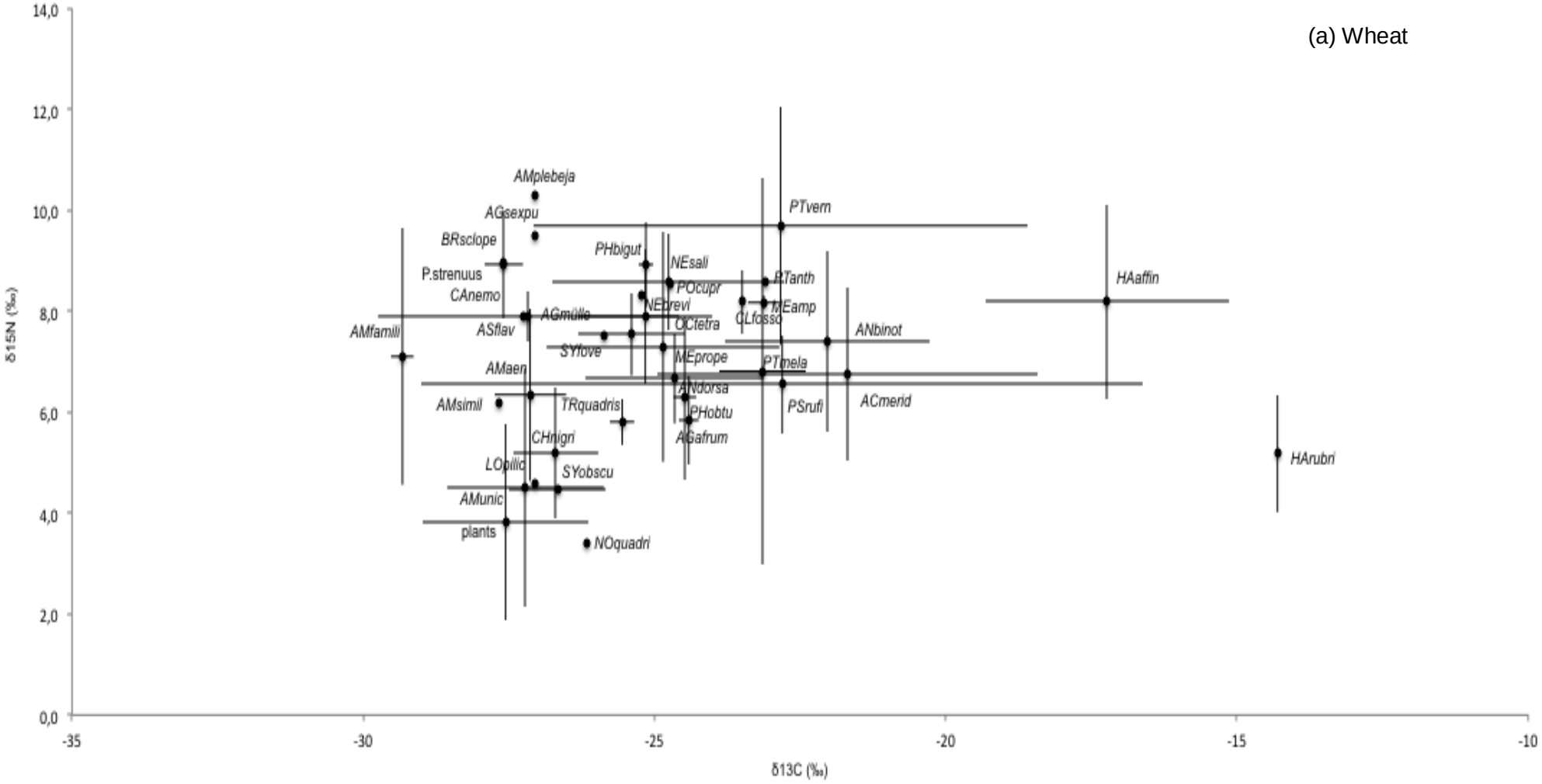
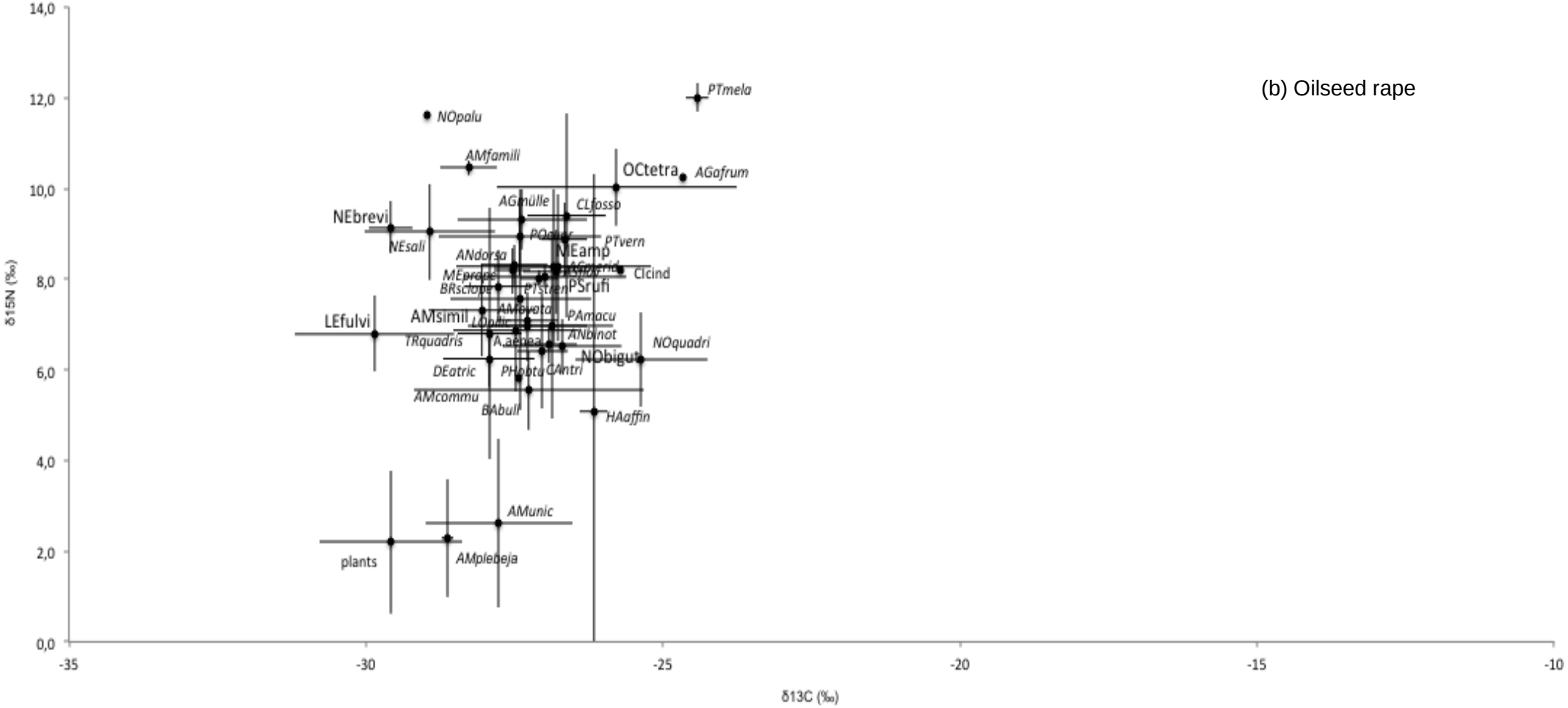

(a) Wheat
14,0
12,0
10,0
8,0
6,0
4,0
2,0
0,0
δ15N (‰)
-35
-30
-25
-20
-15
-10
δ13C (‰)
AMplebeja
AGsexpu
BRsclope
P.strenuus
CAnemo
AMfamili
ASflav
AGmülle
AMaen
AMsimil
TRquadris
CHnigri
LOpilio
SYobscu
AMunic
plants
NOquadri
PHbigut
NEsali
POcupr
NEbrevi
SYfove
OCtetra
MEprope
ANdorsa
PHobtu
AGafrum
PTvern
PTanth
MEamp
CLfosso
PTmela
PSrufi
ANbinot
ACmerid
HAaffin
HArubri

Figure 1b.



(b) Oilseed rape

Figure 2a.

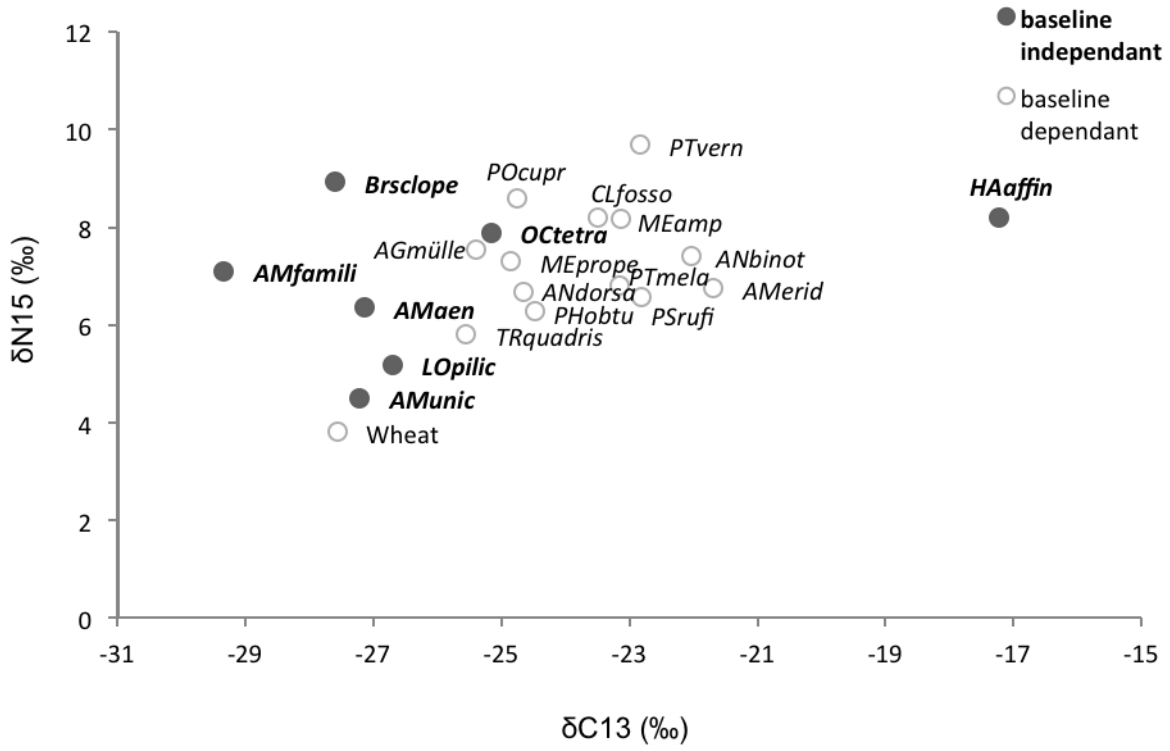


Figure 2b.

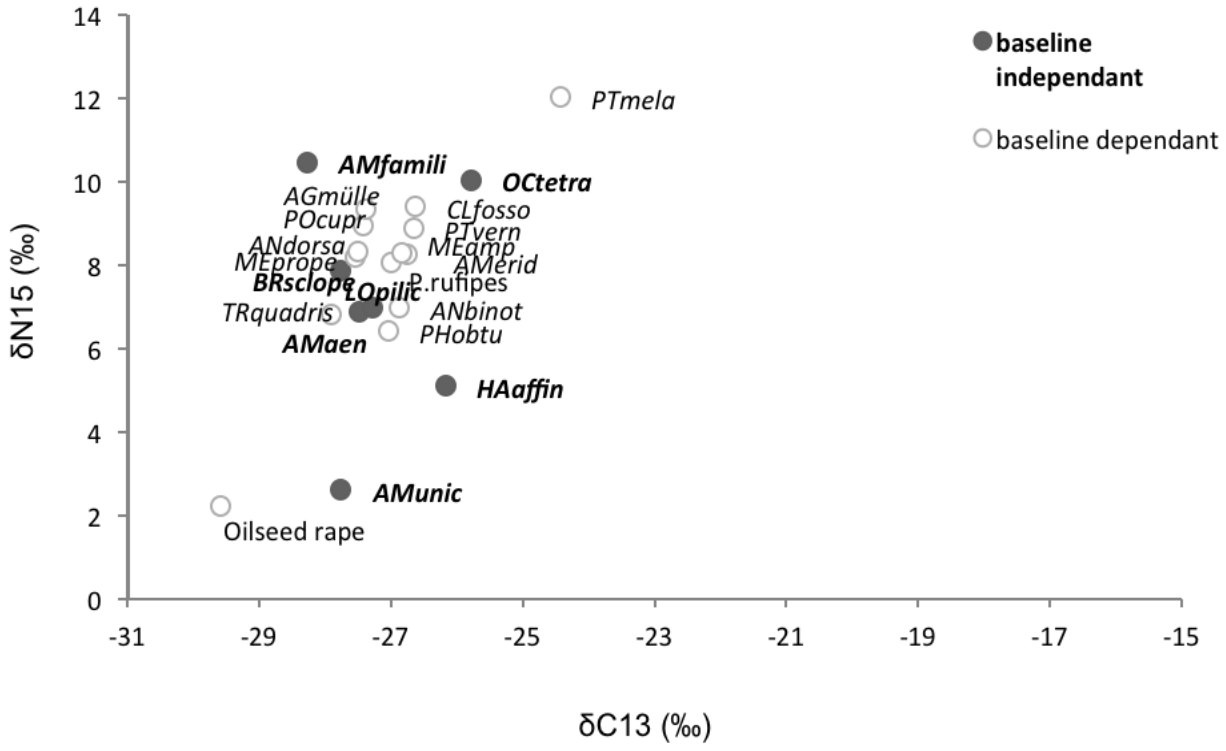


Table 1. Carabid species and their codes used in fig. 1 and 2. Underlined: species present in both types of cultures. * indicates species present only in oilseed rape (38); ** indicates species present only in wheat (36). Informations on subfamily and tribe belonging are given.

code	species		subfamily	tribe
ACmerid	*Acupalpus*	*meridianus*	*Harpalinae*	*Stenolophini*
AGmülle	*Agonum*	*muëlleri*	*Platyninae*	*Platynini*
AGafru	*Agonum*	*afrum*	*Platyninae*	*Platynini*
AGsexpu	*Agonum*	*sexpunctatum**	*Platyninae*	*Platynini*
AMaen	*Amara*	*aenea*	*Pterostichinae*	*Zabrini*
AMcommu	*Amara*	*communis**	*Pterostichinae*	*Zabrini*
AMfamili	*Amara*	*familiaris*	*Pterostichinae*	*Zabrini*
AMunic	*Amara*	*lunicollis*	*Pterostichinae*	*Zabrini*
AMovata	*Amara*	*ovata**	*Pterostichinae*	*Zabrini*
AMplebej	*Amara*	*plebeja*	*Pterostichinae*	*Zabrini*
AMsimil	*Amara*	*similata*	*Pterostichinae*	*Zabrini*
ANbinot	*Anisodactylus*	*binotatus*	*Harpalinae*	*Anisodactylini*
ASflav	*Asaphidion*	*flavipes*	*Trechinae*	*Bembidiini*
BBulla	*Badister*	*bullatus**	*Licininae*	*Licinini*
BRsclope	*Brachinus*	*sclopeta*	*Brachininae*	*Brachinini*
CAntri	*Carabus*	*intricatus**	*Carabinae*	*Carabini*
CAnemo	*Carabus*	*nemoralis***	*Carabinae*	*Carabini*
CHnigri	*Chlaenius*	*nigricornis***	*Licininae*	*Chlaeniini*
CIcindel	*Cicidella*	*spp**	*Cicindelinae*	*Cicindelini*
CLfosso	*Clivina*	*fossor*	*Scaritinae*	*Clivinini*
DEatric	*Demetrias*	*atricapillus**	*Lebiinae*	*Lebiini*
HAaffin	*Harpalus*	*affinis*	*Harpalinae*	*Harpalini*
HRubri	*Harpalus*	*rubripes***	*Harpalinae*	*Harpalini*
LFulvi	*Leistus*	*fulvibarbis**	*Nebriinae*	*Nebriini*
LOpilic	*Loricera*	*pilicornis*	*Loricerinae*	*Loricerini*
MEamp	*Metallina*	*lampros*	*Trechinae*	*Bembidiini*
MEprope	*Metallina*	*properans*	*Trechinae*	*Bembidiini*
NEbrevi	*Nebria*	*brevicollis*	*Nebriinae*	*Nebriini*
NEsali	*Nebria*	*salina*	*Nebriinae*	*Nebriini*
NObigut	*Notiophilus*	*biguttatus**	*Nebriinae*	*Notiophilini*
NOpalu	*Notiophilus*	*palustris**	*Nebriinae*	*Notiophilini*
NOquadri	*Notiophilus*	*quadristriatus*	*Nebriinae*	*Notiophilini*
OCtetra	*Ocydromus*	*tetracolus*	*Trechinae*	*Bembidiini*
PAmacu	*Parophonus*	*maculicornis**	*Harpalinae*	*Harpalini*
PHbigut	*Philochthus*	*biguttatus*	*Trechinae*	*Bembidiini*
PHobtu	*Phyla*	*obtusa*	*Trechinae*	*Bembidiini*
POcupr	*Poecilus*	*cupreus*	*Pterostichinae*	*Pterostichini*
PSrufi	*Pseudophonus*	*rufipes*	*Harpalinae*	*Harpalini*
PTanthra	*Pterostichus*	*anthracinus***	*Pterostichinae*	*Pterostichini*
PTmela	*Pterostichus*	*melanarius*	*Pterostichinae*	*Pterostichini*
PTstren	*Pterostichus*	*strenuus*	*Pterostichinae*	*Pterostichini*
PTvern	*Pterostichus*	*vernalis*	*Pterostichinae*	*Pterostichini*
SYfovea	*Syntomus*	*foveatus***	*Lebiinae*	*Lebiini*
SYobscu	*Syntomus*	*obscuroguttatus***	*Lebiinae*	*Lebiini*
TRquadris	*Trechus*	*quadristriatus*	*Trechinae*	*Trechini*

Table 2. Effects of species, culture and their interaction on δ13C and δ15N values (two-way ANOVA).

	δ13C		δ15N	
species	F=12.39	p<0.001	F=12.11	p<0.001
culture	F=141.39	p<0.001	F=32.82	p<0.001
interaction	F=8.04	p<0.001	F=3.27	p<0.001

4) Conclusion générale

Dans ce chapitre, les résultats obtenus par l'analyse des ratios en isotopes stables suggèrent que les différentes espèces de carabes se placent sur un continuum trophique allant d'herbivores stricts à carnivores stricts, incluant probablement des superprédateurs (*Pterostichus melanarius*), avec une proportion élevée d'espèces omnivores. Nous avons ainsi montré qu'un partitionnement de la ressource s'opère au sein de la communauté, lorsque toutes les espèces sont échantillonnées à la même date, et que ce partitionnement est structuré spatialement.

Nos résultats confirment ce qui a été déjà observé dans la littérature pour des espèces particulières. Les espèces du genre *Amara* sont très dépendantes des ressources disponibles dans le colza tandis que des espèces comme *Pterostichus melanarius* semblent avoir une alimentation indépendante du type de culture ou de la localité. Nos résultats confirment aussi l'importance de prendre en compte les interactions entre espèces à l'échelle de la communauté dans les stratégies de gestion. Nous apportons ici une vision plus générale des stratégies alimentaires des carabes ouvrant des perspectives pour l'élaboration de typologies d'espèces potentiellement manipulables via la disponibilité ou la localisation de leurs resources basales.

Nous avons également observé pour un certain nombre d'espèces coexistant dans la même parcelle et à la même période, un chevauchement important des signatures isotopiques, suggérant un recouvrement potentiel du spectre alimentaire. Or, d'après les prédictions théoriques (Volterra 1926 ; Gause 1934), la coexistence de ces espèces nécesite qu'elles se différencient sur au moins l'un des axes de leur niche. Afin d'élucider ces observations, nous avons mené une étude expérimentale au laboratoire pour investiguer si le comportement pouvait moduler une différentiation de niche à une échelle spatio-temporelle plus fine, entre des espèces écologiquement similaires. Les résultats sont présentés dans le chapitre 3.

5) Annexe Chapitre 2

Les figures 3a et 3b présentent les signatures isotopiques en carbone et azote de la communauté de carabes (a) dans le blé et (b) dans le colza, en fonction de la taille relative des espèces et de leur régime alimentaire d'après la littérature. La couleur des cercles indique le régime alimentaire. La taille des cercles est proportionnelle à la taille des espèces. Les espèces *Harpalus affinis* et *Harpalus rubripes*, présentes dans le blé (a) sont omises sur cette figure. Ces deux espèces présentent des valeurs très enrichies en carbone (-16‰ et -15‰ respectivement). En ce qui concerne l'azote, *H. affinis* est plutôt omnivore (8.2‰) tandis que *H. rubripes*, plutôt phytophage (5.2‰).

Figure 3a (Blé)

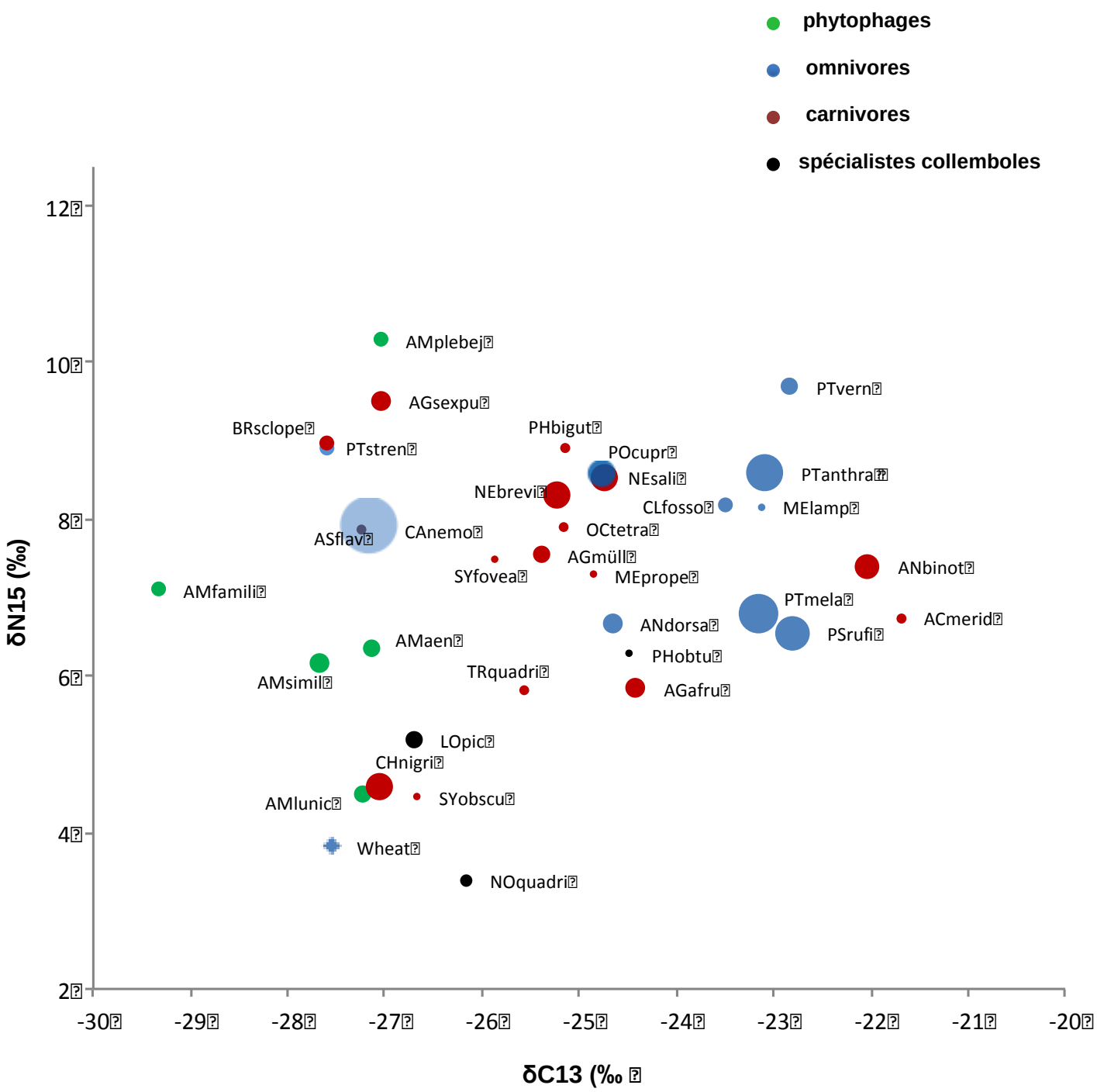
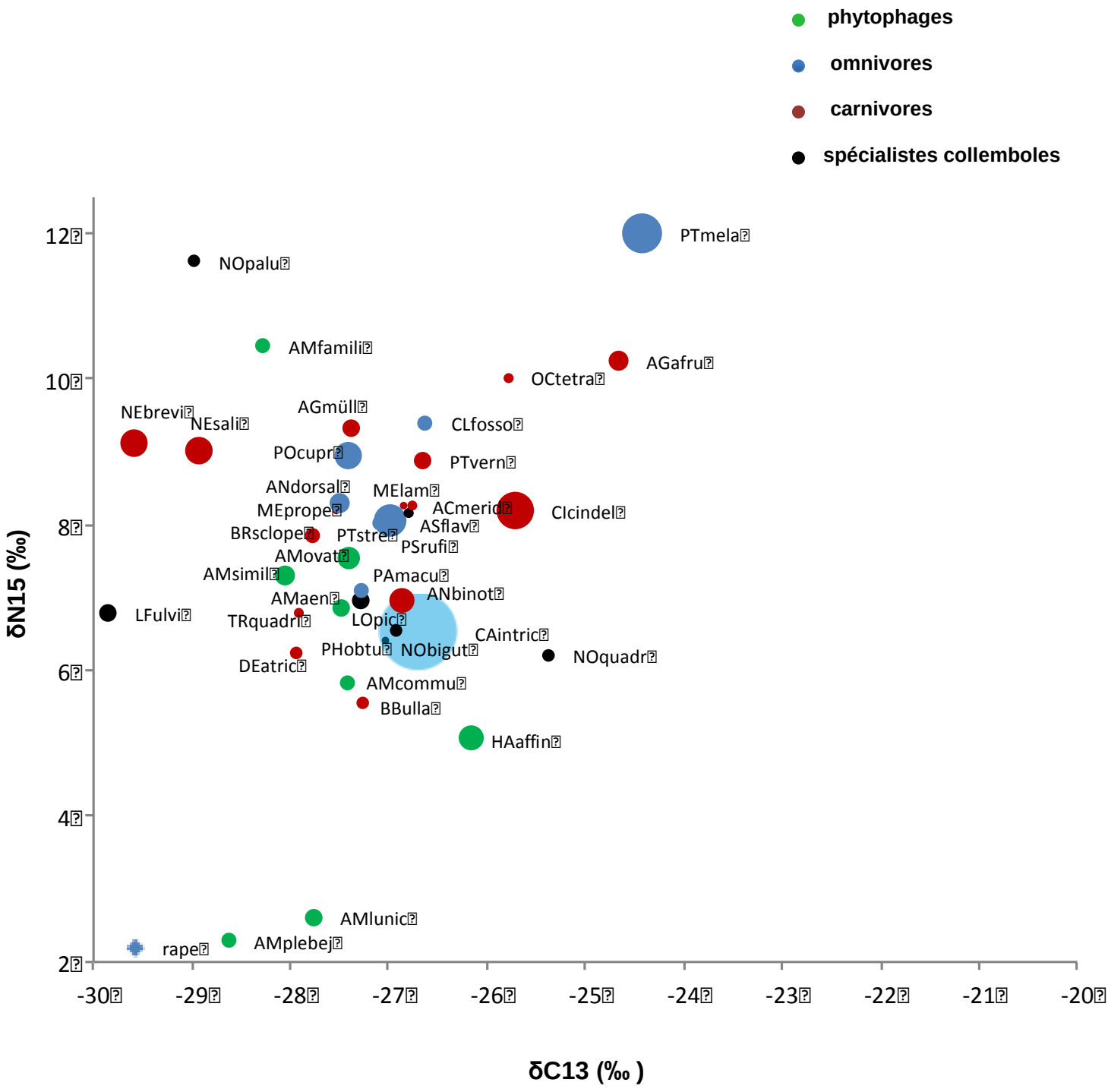


Figure 3a (Colza)



CHAPITRE 3 : Aspects comportementaux de la différentiation de niche et mécanismes de coexistence chez les coléoptères carabiques

Ce chapitre se réfère à notre deuxième question de recherche, présentée à la fin de la partie introductive. Nous avons déjà constaté dans l'introduction et dans le chapitre 2, la grande diversité de traits chez les carabes ainsi que leur comportement apparemment opportuniste. Néanmoins, et malgré la diversité des stratégies de vie chez les carabes, un grand nombre d'espèces possèdent des exigences écologiques assez similaires, notamment en termes de niche trophique comme nous le suggère l'analyse des isotopes stables dans le chapitre précédent. Ces espèces partagent les mêmes ressources alimentaires mais également le même habitat et la même période d'activité. Il paraît donc intéressant d'essayer de comprendre les mécanismes permettant cette coexistence d'espèces écologiquement très similaires. Pour cela, nous avons évalué au laboratoire l'activité et les préférences alimentaires de deux espèces de carabes très similaires pour leurs traits de vie et présents en abondance en un même lieu et à une même période. Nous avons émis l'hypothèse qu'une micro-différentiation de niche trophique et/ou à une échelle spatio-temporelle plus fine que la parcelle ou la saison d'activité, pouvait pour partie expliquer les patrons d'associations d'espèces, observés chez les carabes des paysages agricoles.

Les résultats de ces travaux sont présentés sous la forme d'un article, soumis à la revue *Journal of Applied Entomology*.

ARTICLE: **Behavioral-driven micro-scale niche differentiation in carabid beetles (Coleoptera: Carabidae)**

Running title: Behavioral niche differentiation in carabid beetles

S. Kamenova[1,2], K. Tougeron[2], M. Cateine[2], A. Marie[2] & M. Plantegenest[2]

[1]Centre d'Etudes Biologiques de Chizé, Villiers-en-Bois, France
[2] UMR 1349 Institut de Génétique, Environnement et Protection des Plantes, Rennes, France

Correspondence
Manuel Plantegenest (corresponding author)
UMR 1349 IGEPP INRA-Agrocampus Ouest, 65, rue de Saint-Brieuc, CS 84215 35042 Rennes, France
E-mail: plantage@agrocampus-ouest.fr

Keywords
Bembidion, *Phyla*, video monitoring, coexistence, agroecosystems, behavioral plasticity

Abstract

Carabid beetles form rich and abundant community in arable landscapes. Their generalist feeding behavior and similar environmental requirements questioned about mechanisms allowing the coexistence of so specious assemblages. We hypothesized that niche partitioning is coming into play by spatial, temporal or trophic differentiation between species. For testing this, we performed experimental and video camera observations on the behavior of two sympatric and very similar carabid species, *Bembidion quadrimaculatum* and *Phyla obtusa*. We compared carabid plant climbing behavior, daily activity patterns and trophic preferences for beetles alone or in presence of a heterospecific. While no difference in trophic preferences was observed, our results suggest temporal niche differentiation at nychthemeron scale, one of the species being rather diurnal and the second one, rather nocturnal, and a spatial differentiation in their habitat use at the plant stratum scale. This micro-scale spatio-temporal niche differentiation is probably mediated by high behavioral plasticity of these two carabid species. Such a plastic behavior suggests a high adaptive

potential of carabid beetles in intensively managed agricultural areas. Implications of these findings for enhanced biological control are discussed.

Introduction

Agricultural intensification and its major impacts on biodiversity and human health are strongly questioned about the sustainability of these systems (Krebs et al. 1999; Tilman 1999; Hole et al. 2005). Indeed, the consequent loss of ecosystem services in intensively managed monocultures could undermine long-term food security (Godfray et al. 2010). Several studies have evidenced the significance of species richness and diversity for ecosystem functioning (Naeem and Li 1997; Cardinale et al. 2012). It has been stated that species-rich communities generate temporal and spatial complementarity for a given function thus ensuring constant delivering of ecological services (Cottingham et al. 2001; Loreau et al. 2003). These findings brought back particular attention to arthropod communities in arable landscapes and recent studies have evidenced that diversified communities of natural enemies best supply natural regulation of pests (Tscharntke 1992b; Cardinale et al. 2003; Trichard et al. 2013). As a consequence, several proposals have been suggested to enhance auxiliary biodiversity and abundance by appropriate management strategies, like the extensive management of field margins (Marshall and Moonen 2002), or the establishment of wildflower strips (Balmer et al. 2013) and of beetle banks (MacLeod et al. 2004) inside cultivated areas.

Carabid beetles assemblages have been widely studied by ecologists for years because their diversity and abundance patterns are supposed to reflect environmental conditions and habitat quality (Kromp 1999; Cameron and Leather 2012; Kaltsas et al. 2012). In agricultural landscapes especially, carabid beetles are of particular interest because they are the most numerous and diversified community of large arthropods and many species are suspected to be biological control agents (Kromp 1999). Their generalist feeding behavior offers a real advantage over specialists because they can be present in the field from the early stage of colonization by pests (Ekbom et al. 1992). From a theoretical point of view, carabid guild provides an interesting model for investigating mechanisms of co-existence at community scale. Indeed, carabids exhibit highly abundant and easy-to-catch populations and can count near two hundred species co-occurring in the same agricultural area during the active season (Roger et al. 2012). With regard to relatively homogenous and disturbed agricultural areas (Matson et al. 1997), such diversity remains puzzling. According to the predictions of the principle of competitive exclusion (Gause 1932), and if resources

are limited, the most competitive species should eliminate lower competitors. However, a review of the literature concludes that competitive exclusion in carabid populations is not observed (Niemelä 1993). One plausible explanation is that present diversity patterns of carabids in agricultural landscapes are the resultant of past competitive interactions, which led to niche differentiation. Thus, co-occurring carabid species are expected to differ significantly in at least one dimension of their niche (MacArthur and Levins 1969; Schoener 1974). Body size is one very common proxy of niche because it usually reflects trophic habits and competitiveness (Hutchinson 1959). Although size range varies considerably in carabid communities (between 2-40mm according to species), there are still many species similar in size, sharing the same habitat and the same feeding habits. Moreover, carabid beetles are generally referred as nocturnal generalist predators (Luff 1978; Lövei and Sunderland 1996; Meyhöfer 2001) irrelevant to their body size. However, it has been demonstrated that sympatric species, sharing the same resources, are able to adjust their spatial or temporal activity via behavioral plasticity (Chao et al. 2013; Navaro et al. 2013) resulting in niche partitioning.

In this work, we aimed at assessing whether apparently “twin” species of carabid beetles observed in crop fields actually exhibit niche differentiation at fine temporal or spatial scale and/or in their use of available trophic resources. To achieve this purpose, we checked whether two species similar in size and food regime, caught in the same field at the same period exhibited in the laboratory any differentiation in their microhabitat preferences, in their food preferences and/or in their circadian rhythms of activity. We had an original approach by combining experimental settings and video recordings on carabid spatio-temporal activity and on their feeding behavior.

Materials & Methods

For this study, we focused on two small carabid species *Bembidion quadrimaculatum* (Linnaeus 1761) and *Phyla obtusa* (Audinet-Serville 1821). They were chosen as being very abundant in the place and at the period of sampling, a group of fields monitored during spring 2013 near Le Rheu (Bretagne, France) seemingly sharing the same habitat at medium temporal (season) and spatial (field) scale, and sharing the same trophic regime according to the literature. Adults of both species are considered as diurnal spring breeders (Holland 2002; Matalin 2007) and are similar in body size (3-4mm for *B. quadrimaculatum* and 2-3mm for *P. obtusa*). *B. quadrimaculatum* is considered as carnivorous and *P. obtusa* as omnivorous (Roger et al. 2012). Both

species are then expected to mostly feed on small arthropods with *P. obtusa* more inclined to complete its regime with plant material.

The two carabid species were sampled by active visual day searching at the soil surface and caught by hands until the number of required individuals was completed. Trapping sessions occurred in May 2013 in experimental fields of INRA Le Rheu (Ille-et-Vilaine, France, 48°6'N, 1°48'S). The cover crop was made of a mixture of ryegrass and red clover. All caught living beetles were brought back to the laboratory where they were identified to the species level and individually placed in small plastic Petri dishes (Ø5cm). Beetles were continuously provided with water and shelter, and they were maintained on the four experimental prey items: grains of oilseed rape (*Brassica napus* Linnaeus 1753 var. *napus*, Capparales: Brassicaceæ) and wheat (*Triticum aestivum* Linnaeus 1753, Cyperales: Poaceæ), freeze killed adults and larvae of pea aphids (*Acyrthosiphon pisum,* Hemiptera: Aphididæ) and freeze killed larvae of *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidæ). All individuals were sexed under binocular microscope.

In order to investigate potential differentiation in carabid spatial patterns of habitat use at small scale, we focused on foraging behavior. In these two species foraging behavior consists in prospecting the ground and the upper vegetation especially when prey is detected (Chiverton 1987). Thus, we tested patterns of climbing behavior for both carabid species in experimental setting with aphid-infested plants. Rectangular plastic boxes (35x25x15 cm) were filled with loam and four faba bean plants (*Vicia faba*) were placed. Each plant was about 10cm in height. On each plant, twenty adult pea aphids were settled. Immediately after, 4 individuals of *B. quadrimaculatum* or of *P. obtusa* were released and their climbing behavior monitored for 2 hours. After 2 hours, carabids were replaced with four other individuals for each species. This experimental setting was repeated 10 times, for a total of 40 observations per species.

Differentiation in circadian activity patterns and in trophic preferences was investigated using two high-definition and high-sensitivity video cameras (*Opto Vision AP-B9511-SRTL*). Cameras were connected to an infrared light source (*DC-Infra*), in order to visualize nocturnal carabids' behaviors without disturbing them (Allema et al. 2012). Infrared light was automatically set on with the decrease of daylight. Each camera was connected to a DVR recorder (*AverMedia-3104H*®) equipped with a hard disk (500 Go). All video recordings were displayed with the software *USB Playback* Console (*AVerMedia-3104H*®).

For all experiments, individuals were placed in a new plastic Petri dish. When species was tested alone, one individual per species and per Petri dish was present. When species were tested together, two individuals were present in the same Petri dish (one

individual of each species). For control trials (only *B. quadrimaculatum*), two individuals of the same species were placed in the same Petri dish. Petri dishes were filled with Fontainebleau sand. Shelter, water and food were provided. Each camera allowed recording four individual Petri dishes in the same time. Eight individuals were tested per 24 hours, for a total of twenty individuals per species tested.

Beetles were exposed on L12:D12 artificial photoperiod, with 615-lux luminosity during daytime. One hour of twilight were simulated at the beginning and at the end of the day (25 lux). Experimental light conditions reflected natural luminosity conditions experienced by beetles in the fields during the same period. Whole 24-hours video recordings were visualized during 10 minutes every 30 minutes. During this period, individuals were considered as actives when they were observed feeding or moving around the Petri dish. When an activity event occurred, we also recorded the duration time spend feeding or moving. For feeding trials, each Petri dish was provided with one grain of each plant (*Brassica napus* and *Triticum aestivum*) and one freeze killed individual of each animal (*Acyrthosiphon pisum* and *Tenebrio molitor*). Food items were considered as consumed when they had been handled for several seconds by the beetle. To confirm consumption, at the end of each video recording, prey items were examined for bite marks under a binocular microscope.

We performed General Linear Models (GLM) to test for differences in climbing behavior between the two species. Distribution of circadian activity within each species and between individuals set alone and these set with a heterospecific was compared using non-parametric Wilcoxon Rank-Sum tests. Differences in total time spent in activity and total time spent in feeding between individuals within the species were assessed using non-parametric Wilcoxon Rank-Sum tests. Differences in circadian activity, in total time spent in activity and time spent in feeding between the two species were compared using Mann-Whitney tests.

The number of prey items consumed by each species was compared using non-parametric Wilcoxon Rank-Sum tests. The number of prey items consumed was compared between the two species using Mann-Whitney tests. Mann-Whitney tests for each prey item were carried out for testing for differences in food choices between species. All tests were run with the R software (R Core Team 2013).

Results

Experiments on foraging behavior indicated that both species were able to climb plants and to feed on deposited aphids but *P. obtusa* showed significantly more climbing behaviors (fig. 1, $p<0.01$). **Please, insert fig.1 here.**

Video monitoring of circadian activity evidenced differentiation in patterns when species were observed alone (fig. 2a, b). *B. quadrimaculatum* was mostly day-active (59% of total circadian activity between 08:00am and 08:00pm, W=146, p=0.14) but differences in day/night activity were non significant. When alone, *P. obtusa* was significantly more night-active (74% of total circadian activity between 08:00pm and 08:00am, W=338, p<0.001). *B. quadrimaculatum* seems to exhibit the same activity duration when alone or when in presence of a heterospecific (fig. 2b), both day (V=136, p=0.1) and night (V=87, p=0.3). *P. obtusa* was significantly more active in presence of heterospecific than alone (fig. 2b) during day-time (V=153, p<0.05) but not during night-time (V=79, p=0.77). **Please, insert fig. 2a, b here.**

P. obtusa alone had more extended activity period than *B. quadrimaculatum* alone (Mean±SE: 03h10±40mn *vs* 02h10±36mn, W=54, p<0.001), fig. 4a, but together they spent the same amount of time in activity (W=131, p=0.33). In control observations, there was not significant difference in global night activities between *B. quadrimaculatum* alone and *B. quadrimaculatum* with a congener (T=660, p=0.16) (fig. 3) but differences in global day activity pattern were significant (T=435, p=0.003). **Please, insert fig. 3 here.**

Differences in interspecific (*B. quadrimaculatum vs P. obtusa*) global activity patterns and intraspecific global activity patterns (*B. quadrimaculatum vs B. quadrimaculatum*) were always significant (T=900, p=0.0005 and T=585, p<0.0001 for daily and night activities respectively). Although mean activity time was higher for both species when set together than alone (*P. obtusa*, V=282, p<0.001; *B. quadrimaculatum,* V=288, p<0.001), both species spent the same time on feeding, individually (W=158, t=0.92) or together (W=143, p=0.55), fig. 4b. **Please, insert fig. 4a, b here.**
The two carabid species consumed all prey types offered. If alone, *B. quadrimaculatum* and *P.obtusa* consume significantly more mealworms than all other preys (Table 1). **Please, insert Table 1 here.**

There are no differences in prey choices between the two species, if fed alone (fig. 5a, Table 1). In the presence of a heterospecific, *B. quadrimaculatum* feed mostly on mealworm and oilseed rape, and *P.obtusa* feed always mostly on mealworm, both results are significant (fig. 5b, Table 1). No differences in prey choice are observed for both species, alone or together (fig. 5a, b; Table 1). **Please, insert fig. 5a, b here.**

Discussion

Experimental results showed no clear trophic differentiation between the two species exhibiting similar preferences. The two carabid beetles consumed all the four food items. However, both seemed to prefer animal source of food with a preference to *Tenebrio molitor* compared to aphids. Though being considered carnivorous, *B. quadrimaculatum*, accepted both type of seeds evidencing an omnivorous regime. The proportion of vegetal food appeared slightly higher in *P. obtusa*, the previously considered omnivorous species, but it was not significant. Consequently, in the experimental conditions and for the range of food items proposed the regimes of the two species are not divergent. Obviously, this can be different in field conditions where the potential available resources are much more diversified (Symondson et al. 2002) but experimental results are a strong indication that fundamental trophic niche of the two species are widely overlapping.

On the contrary, searching behavior of the two species appeared clearly divergent. Though both showed their ability to climb plants in search for prey, *B. quadrimaculatum* appeared being much more reluctant and *P. obtusa* being more prone to express such behavior. In the field, this micro-scale habitat differentiation would probably result in strong contrasts in some prey accessibility for the two species. It would notably allow *P. obtusa* to access much more easily to aphids, an important resource for entomophagous predators in most crop fields (Sopp and Chiverton 1987; Sunderland et al. 1987).

Finally, though both species are considered diurnal, a strong differentiation in their circadian rhythms of activity was recorded. Though the two species can be active all day long, *P.obtusa* showed a strong preference for nocturnal activity when *B. quadrimaculatum* exhibited a less marked circadian rhythm of activity with some diurnal tendency. This micro-scale temporal niche differentiation should result in the field in a strong reduction of direct competitive interactions, but also very likely in a reduction of indirect competitive interactions (competitive interactions resulting from the exploitation of a common resource) as the range of animal preys available during day and during night could be quite different (den Boer et al. 1986; Bauer and Kredler 1993).

Consequently, despite the fundamental (potential) trophic niches of the two species been widely overlapping, their realized trophic niches are very likely much more differentiated promoting the coexistence of the two species. Sasakawa et al. (2010) had been previously suspected such a small-scale, subtle niche differentiation, in two co-occurring species of the *Amara* genus. It is noticeable that in any case niche

differentiation arose from strict behavioral differentiation but rather from contrasted preferences. This evidences a large behavioral plasticity in the three studied niche dimensions (trophic, spatial and temporal). Such plasticity confers to both species a high adaptive potential to environmental changes. It raises the question of the stability of niche differentiation and in what extent the partial behavioral specialization we observed may result from the local interactions between species and would vanish in the absence of competitors. This question is of importance as it determines the exchangeability of species and the sensitivity of the ecological function to the loss of a particular species. On one hand, species plasticity suggests that the loss of a species may be partly compensated by a niche enlargement in remaining species. On the other hand, species plasticity allowing niche differentiation may result in a fine complementarity of species and guarantees a positive relationship between biodiversity and functional efficiency provided by the entire community.

Although, one should be cautious before drawing general conclusions because, significant pattern of differentiation in daily activity was observed in our control experiments. When confronted to a congener, *B. quadrimaculatum* tends to differentiate temporal activity. And even if only daily pattern is modified, antagonistic interferences seem to occur between congener. Similar conspecific avoidance has been already demonstrated in the case of carabid beetles (Guy et al. 2008) where experimental observations evidenced the avoidance even of own odor. One might assume that the same process is operating in our case too. Another plausible explanation is that artificial experimental conditions create a bias in our observations by altering carabid behavior. Carabid beetles are known to exhibit thigmotaxis in captivity (Symondson 2002). Thus, more realistic experimental settings would be required. For example, it could be interesting to assess functional plasticity at the community level by comparing species niche-width in communities varying in species richness in order to estimate more accurately the plasticity of behavioral preferences. Indeed, the inconsistency of the literature concerning carabid traits could be symptomatic of their large plasticity and rapid evolvability (Lövei and Sunderland 1996; Kotze et al. 2011). Finally, the potential of species to quickly change their behavior to match the environmental conditions and the available resources could account for the large success of carabids to adapt to environmental changes provoked by agriculture.

These findings give us precious insights into the mechanisms governing species interactions in an important guild of natural enemies. Carabid communities present in agricultural areas are susceptible to regulate a wide range of pests via species complementarity. Moreover, their plastic feeding behavior insures potential supply in

biocontrol via species redundancy even in intensively managed agro-systems where biodiversity is highly reduced. Successfully managing such a natural potential of regulation is a valuable pledge to maximize the ecosystem service of crop protection.

Acknowledgements

This study was funded by the two French ANR projects 'Landscaphid' (ANR-09-STRA-05) and 'Peerless'. SK was partially funded by the Région Poitou-Charentes during her PhD thesis. AM was funded by the Région Bretagne and by the French National Institute for Agricultural Research, INRA.

References

Allema AB, Rossing WH, van der Werf W, Heusinkveld BG, Bukovinszky T, Steingröver E, van Lenteren JC, 2012. Effect of light quality on movement of *Pterostichus melanarius* (Coleoptera: Carabidae). J. Appl. Entomol. 136, 793-800.

Balmer O, Pfiffner L, Schied J, Willareth M, Leimgruber A, Luka H, Traugott M, 2013. Noncrop flowering plants restore top-down herbivore control in agricultural fields. Ecol. Evol. 3, 2634-2646.

Bauer T, Kredler M. 1993.Morphology of the compound eyes as an indicator of life-style in carabid beetles. Can. J. Zool. 71, 799-810.

Den Boer PJ, Griim L, Szyszko J, 1986. Feeding Behaviour and Accessibilify of Food for Carabid Beetles. Warsaw Agricultural University Press, Warsaw.

Bonacci T, Brandmayr P, Giglio A, Massolo A, Mazzei A, Odoguardi R, Romeo M, Talarico FF, Brandmayr TZ, 2006. Agonistic behaviour of *Scarites buparius* (Forster, 1771) (Coleoptera: Carabidae) in relation to body size. Entomol. Fenn. 17- 340-344.

Cameron KH, Leather SR, 2012. How good are carabid beetles (Coleoptera, Carabidae) as indicators of invertebrate abundance and order richness? Biodivers. Conserv. 21, 763-779.

Cardinale BJ, Harvey CT, Gross K, Ives AR, 2003. Biodiversity and biocontrol: emergent impacts of a multi-enemy assemblage on pest suppression and crop yield in an agroecosystem. Ecol. Lett. 6, 857–865.

Cardinale BJ, Duffy GA, Hooper DU, Perrings C, Venail P, Narwani A, Mace GM, Tilman D, Wardle DA, Kinzig AP, Daily GC, Loreau M, Grace JB, Larigauderie A, Srivastava DS, Naeem S, 2012. Biodiversity loss and its impact on humanity. Nature 486, 59-67.

Chao A, Simon-Freeman R, Grether G, 2013. Patterns of niche partitioning and alternative reproductive strategies in an East African dung beetle assemblage. J. Insect Behav. 26, 525-539.

Chiverton PA, 1987. Predation of *Rhopalosiphum padi* (Homoptera: Aphididae) by polyphagous predatory arthropods during the aphids' pre-peak period in spring barley. Ann. App. Biol. 11, 257-269.

Cottingham KL, Brown BL, Lennon JT, 2001. Biodiversity may regulate the temporal variability of ecological systems. Ecol. Lett. 4, 72-85.

Ekbom BS, Wiktelius S, Chiverton PA, 1992. Can polyphagous predators control the bird cherry-oat aphid (*Rhopalosiphum padi*) in spring cereals? A simulation study. Entomol. Exp. Appl. 65, 215-223.

Hole DG, Perkins AJ, Wilson JD, Alexander IH, Grice PV, Evans AD, 2005. Does organic farming benefit biodiversity? Biol. Conserv. 122, 113-130.

Holland JM, 2002.The Agroecology of Carabid Beetles. Intercept, Andover, United-Kingdom.

Hutchinson GE, 1959. Homage to Santa Rosalia or why are there so many kinds of animals? Am. Nat. 93, 145-159.

Gause GF, 1932. Experimental studies on the struggle for existence: I. Mixed population of two species of yeast. J. Exp. Biol. 9, 389–402.

Godfray HCJ, Beddington, JR, Crute IR, Haddad L, Lawrence D, Muir JF, Pretty J, Robinson S, Thomas SM, Toulmin C, 2010 Food security: the challenge of feeding 9 billion people. Science 327, 812–818.

Guy AG, Bohan DA, Powers SJ, Reynolds AM, 2008. Avoidance of conspecific odour by carabid beetles: a mechanism for the emergence of scale-free searching patterns. Anim. Behav. 76, 585-591.

Kaltsas D, Trichas A, Mylonas M, 2012. Temporal organization patterns of epigean beetle communities (Coleoptera: Carabidae, Tenebrionidae) in different successional stages of eastern Mediterranean maquis. J. Nat. Hist. 46, 495-515.

Kotze DJ, Brandmayr P, Casale A, Dauffy-Richard E, Dekoninck W, Koivula M, Lövei GL, Mossakowski D, Noordijk J, Paarmann W, Pizzolotto R, Saska P, Sch- werk A, Serrano J, Szysko J, Taboada A, Turin H, Venn S, Vermeulen R, Zetto T, 2011. Forty years of carabid beetle research in Europe – from taxonomy, biology, ecology and population studies to bioindication, habitat assess- ment and conservation. ZooKeys 100, 55–148.

Krebs JR, Wilson JD, Bradbury RB, Siriwardena GM, 1999. The second silent spring? Nature 400, 611–612

Kromp B, 1999. Carabid beetles in sustainable agriculture: a review on pest control efficacy, cultivation impacts and enhancement. Agric. Ecosyst. Environ. 74, 187–228.

Loreau M, Mouquet N, Gonzales A, 2003. Biodiversity as spatial insurance in heterogeneous landscapes. Proc. Natl Acad. Sci. USA 100, 12765–12770.

Lövei GL, Sunderland KD, 1996. Ecology and Behavior of Ground Beetles (Coleoptera: Carabidae). Annu. Rev. Entomol. 41, 231-256.

Luff ML,1978. Diel activity patterns of some field Carabidae. Ecol. Entomol.3, 53-62.

MacArthur R, Levins R, 1967. The limiting similarity, convergence, and divergence of coexisting species. Am. Nat. 101, 377-385.

MacLeod A, Wratten SD, Sotherton NW, Thomas MB, 2004. 'Beetle banks' as refuges for beneficial arthropods in farmland: long-term changes in predator communities and habitat. Agr. Forest Entomol. 6, 147-154.

Marshall EJP, Moonen AC, 2002. Field margins in northern Europe: their functions and interactions with agriculture. Agric. Ecosyst. Environ. 89, 5-21.

Matalin AV, 2007. Typology of life cycles of ground beetles (Coleoptera, Carabidae) in Western Palaearctic. Entomol. Rev. 87, 947-972.

Matson PA, Parton WJ, Power AG, Swift MJ, 1997. Agricultural intensification and ecosystem properties. Science 277, 504-509.

Meyhöfer R, 2001. Intraguild predation by aphidophagous predators on parasitised aphids: the use of multiple video cameras. Entomol. Exp. Appl. 100, 77-87.

Naeem S, Li S, 1997. Biodiversity enhances ecosystem reliability. Nature 390, 507-509.

Navaro J, Votier SC, Aguzzi J, Chiesa J, Forero MG, Phillips RA, 2013. Ecological segregation in space, time and trophic niche of sympatric planktivorous petrels. PLoS ONE 8(4): e62897.

Niemelä J, 1993. Interspecific competition in ground-beetle assemblages (Carabidae) – what have we learned ? Oikos 66, 325-335.

R Core Team, 2013. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL http://www.R-project.org/.

Roger JL, Jambon O, Bouger G, 2012. Clé des Carabidae des paysages agricoles du Nord-ouest de la France.

Sasakawa, K, Ikeda H, Kubota T, 2010. Feeding ecology of granivorous carabid larvae: a stable isotope analysis. J. Appl. Entomol. 134, 116-122.

Schoener TW, 1974. Resource partitioning in ecological communities. Science 185, 27-39.

Sopp PI, Chiverton PA, 1987. Autumn predation of cereal aphids by polyphagous predators in southern England: a ‘first look’ using ELISA. Bull. SROP/WPRS. 1, 103–108.

Sunderland KD, Crook NE, Stacey DL, Fuller BJ, 1987. A study of feeding by polyphagous predators on cereal aphids using elisa and gut dissection. J. Appl. Ecol. 24, 907–933.

Symondson WOC, 2002b. Molecular identification of prey in predator diets. Mol. Ecol. 11, 627-641.

Symondson WOC, Sunderland KD, Greenstone MH, 2002a. Can generalist predators be effective biocontrol agents? Annu. Rev. Entomol. 44, 561-594.

Tilman D, 1999. Global environmental impacts of agricultural expansion: The need for sustainable and efficient practices. Proc. Natl Acad. Sci. USA 96, 5995-6000.

Trichard A, Alignier A, Biju-Duval L, Petit S, 2013. The relative effects of local management and landscape context on weedseed predation and carabid functional groups. Basic Appl. Ecol. 14, 235-245.

Tscharntke T, 1992b.Coexistence, tritrophic interactions and density dependence in a species-rich parasitoid community. J. Anim. Ecol. 61, 59–67.

Figure legends

Fig. 1 Total number of climbs for *B. quadrimaculatum* (black) and *P. obtusa* (white). For each species, *N*=40. *** $p<0.001$, ** $p<0.01$, * $p<0.05$.

Fig. 2 Proportion of active individuals at each hour of the day (24 hours) for species alone (a) or species together (b), *B. quadrimaculatum* (dark lines) and *P. obtusa* (grey lines). Scotophase from 08:00pm to 07:00am, photophase from 08:00am to 07:00pm. Vertical lines represent the beginning and the end of twilight periods: from 07:00am to

08:00am and from 07:00pm to 08:00pm. At every hour, for (a) and (b), *B. quadrimaculatum* (*N*=20) and *P. obtusa* (*N*=20).

Fig. 3 Proportion of active individuals at each hour of the day (24 hours) for *B. quadrimaculatum* alone (dark line), in presence of *P. obtusa* (drak grey lines) and *B. quadrimaculatum* in presence of another individual of the same species (e.g. control, light grey line). BQ = *B. quadrimaculatum*; PO= *P. obtusa*.

Fig. 4 Average length of circadian activity recorded during ten minutes every thirty minutes (mean±SE), for species alone (a), or species together (b). In grey, the average length of time spent in feeding. For (a) and (b), *B. quadrimaculatum* (*N*=20) and *P. obtusa* (*N*=20). *** $p<0.001$, ** $p<0.01$, * $p<0.05$, NS = not significant.

Fig. 5 Average time spent feeding recorded during ten minutes every thirty minutes (mean±SE), for species alone(a) or species together (b). Oilseed rape (black), wheat (dark grey), aphid (light grey), mealworm (white). For (a) and (b), *B. quadrimaculatum* (*N*=20) and *P. obtusa* (*N*=20).

Fig. 1

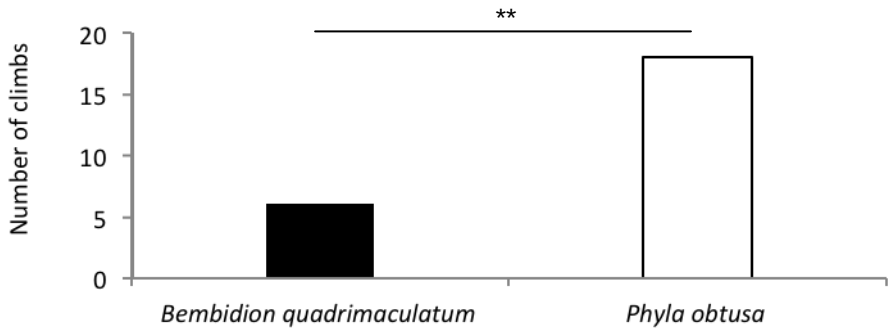

**
Number of climbs
20
15
10
5
0
Bembidion quadrimaculatum
Phyla obtusa

Fig. 2

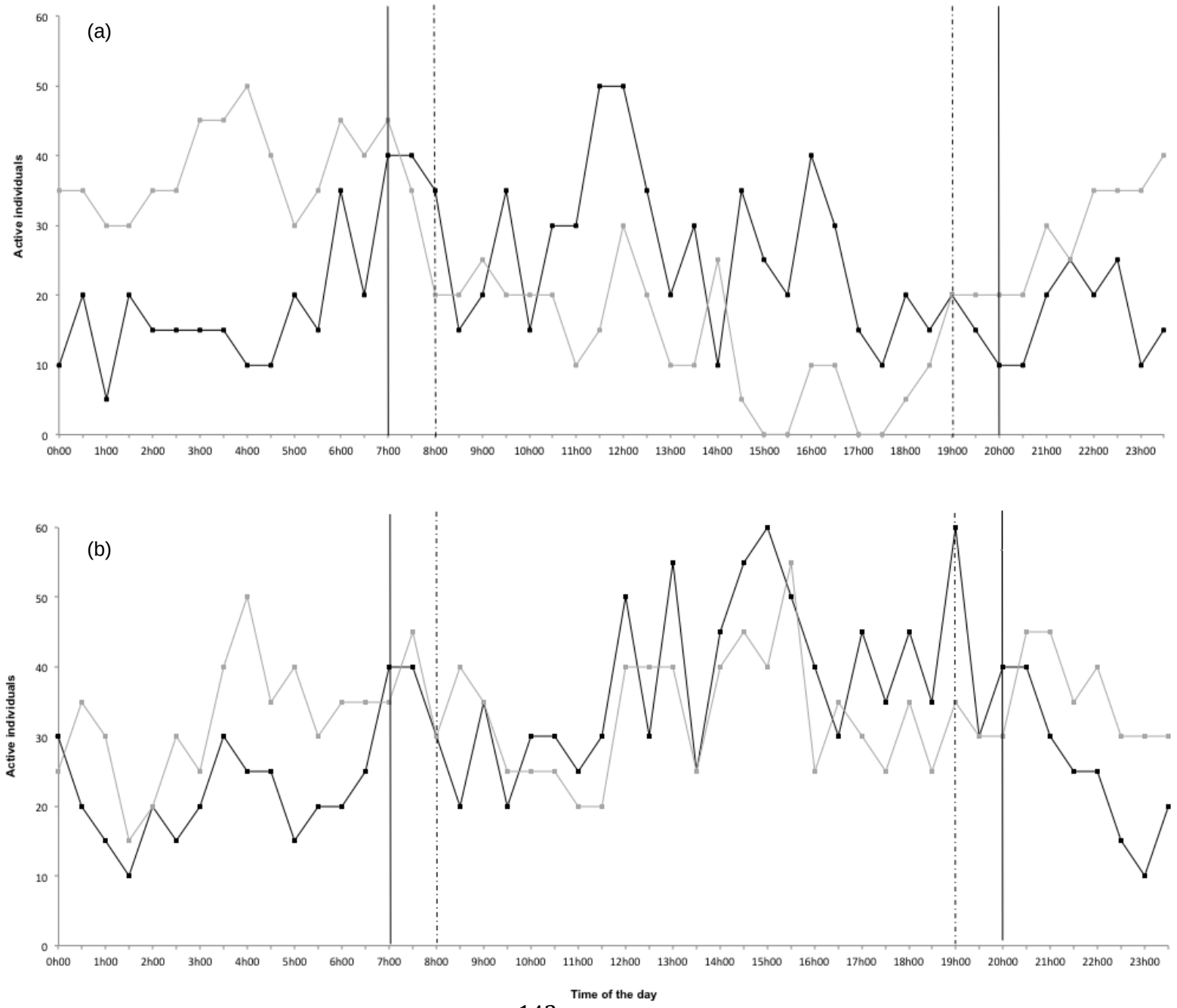

(a)
(b)
Active individuals
Time of the day
0h00
1h00
2h00
3h00
4h00
5h00
6h00
7h00
8h00
9h00
10h00
11h00
12h00
13h00
14h00
15h00
16h00
17h00
18h00
19h00
20h00
21h00
22h00
23h00
0
10
20
30
40
50
60

Fig. 3

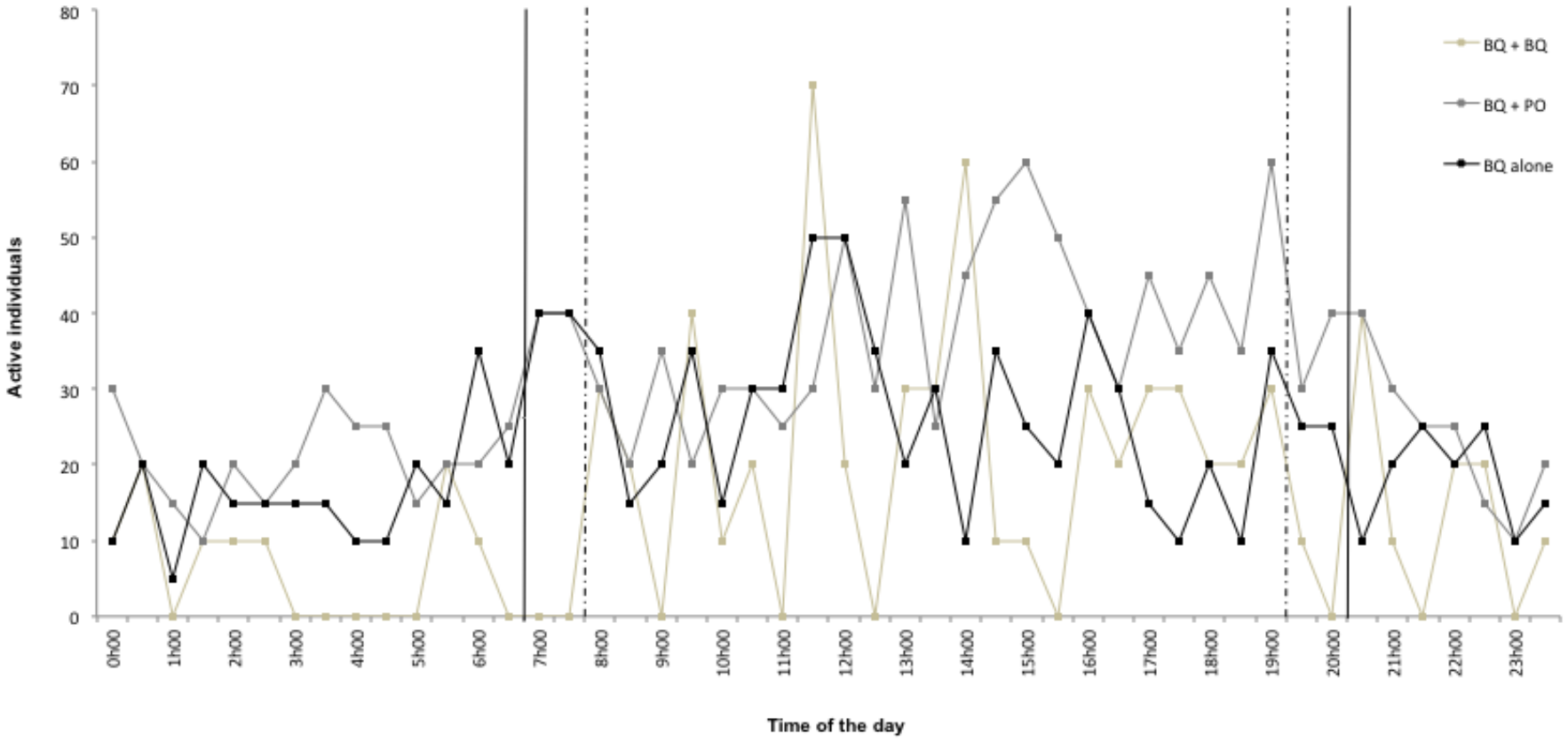

Active individuals
80
70
60
50
40
30
20
10
0
0h00
1h00
2h00
3h00
4h00
5h00
6h00
7h00
8h00
9h00
10h00
11h00
12h00
13h00
14h00
15h00
16h00
17h00
18h00
19h00
20h00
21h00
22h00
23h00
Time of the day
BQ + BQ
BQ + PO
BQ alone

Fig. 4

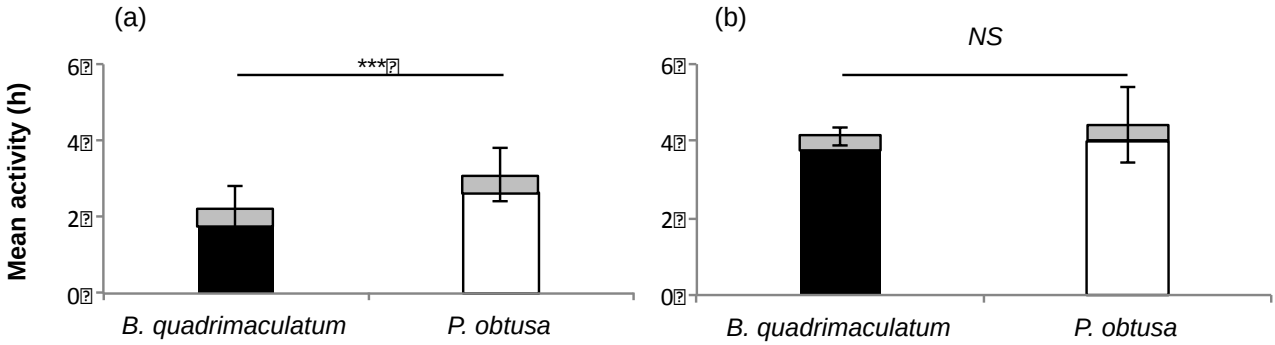

(a)
(b)
Mean activity (h)
6
4
2
0
***
NS
B. quadrimaculatum
P. obtusa
B. quadrimaculatum
P. obtusa

Fig. 5

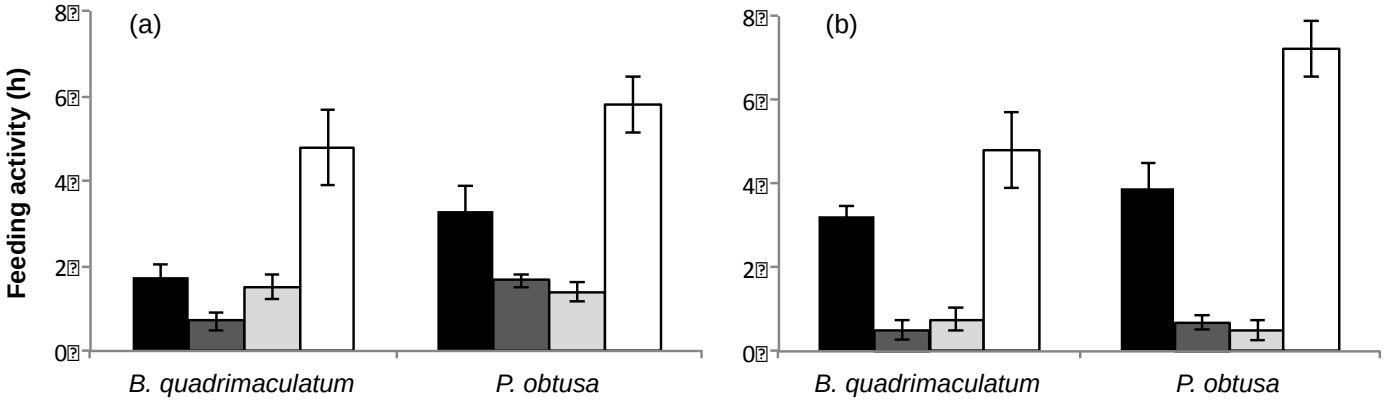

Feeding activity (h)
8
6
4
2
0
(a)
B. quadrimaculatum
P. obtusa
(b)
B. quadrimaculatum
P. obtusa

Table 1 Wilcoxon and Mann-Whitney Tests on the intra- and interspecies comparisons for time spent in feeding on every prey type. For each modality, *B. quadrimaculatum* (*N*=20) and *P. obtusa (N*=20). In bold, significant results (α<0,05).

Modality		Prey type	Rape	Wheat	Aphid	Mealworm
Species alone	*B.quadrimaculatum*	Rape	/			
		Wheat	**p=0,01**	**/**		
		Aphid	p=0.5	**p=0.04**	**/**	
		Mealworm	**p= 0.02**	**p=0.00**	**p=0.01**	**/**
	P. obtusa	Rape	**/**			
		Wheat	**p=0.05**	**/**		
		Aphid	**p=0.04**	**p=0.7**	**/**	
		Mealworm	**p=0.03**	**p=0.01**	**p=0.00**	**/**
	Between species		p=0.4	p=0.1	p=0.2	p=0.1
Species together	*B. quadrimaculatum*	Rape	**/**			
		Wheat	**p=0.00**	**/**		
		Aphid	**p=0.01**	p=0.6	**/**	
		Mealworm	p=0.7	**p=0.00**	**p=0.01**	**/**
	P. obtusa	Rape	**/**			
		Wheat	p=0.06	**/**		
		Aphid	**p=0.00**	**p=0.1**	**/**	
		Mealworm	**p=0.01**	**p=0.01**	**p=0.00**	**/**
	Between species		p=0.9	p=0.2	p=0.9	p=0.1

6) Conclusion générale

Par une approche comportementale, nous avons démontré dans ce chapitre que les interactions entre deux espèces de carabes comparables par leur taille, leur période et lieu de présence et leur type d'alimentation, *B. quadrimaculatum* et *P. obtusa* étaient limitées par la différentiation de leur niche à une fine échelle spatio-temporelle. Ces résultats suggèrent que le mécanisme de partitionnement de niche à petite échelle pourrait expliquer la co-occurrence d'un grand nombre d'espèces de carabes écologiquement très similaires. De plus, nous avons démontré que ce mécanisme de partitionnement est surtout modulé par la plasticité plutôt que par une stricte différentiation de comportement et que cette plasticité pourrait être à l'origine du manque de consensus général dans la littérature en ce qui concerne la variabilité des différents traits de vie chez les carabes. Le rôle de la compétition dans la structuration des communautés de carabes a été largement débattu dans la littérature (Niemelä 1993). Les conclusions généralement avancées sont que les associations d'espèces au sein des communautés de carabes sont déterminées essentiellement par les facteurs environnementaux, plutôt que par les interactions interspécifiques comme la compétition (Thiele 1977; den Boer 1980; Andersen 1988). Cependant, des analyses des dynamiques spatio-temporelles des communautés de carabes, montrent une forte ségrégation dans leur répartition et régime alimentaire, suggérant encore une fois la prépondérance des processus comme la compétition et le partage de niche par rapport aux facteurs environnementaux (résultats présentés en annexe à la fin du manuscrit de thèse). Par ailleurs, d'autres travaux empiriques ont aussi démontré une différentiation de niche en réponse à la compétition chez les carabes (Erikstad et al. 1989) et des études expérimentales récentes ont souligné l'importance de la compétition et des interactions antagonistes dans la structuration des associations entre prédateurs généralistes (Reznikova & Dorosheva 2004; Hawes et al. 2013). La plasticité phénotypique n'a jamais été étudiée explicitement dans le cas des carabes et dans ce chapitre nous démontrons le potentiel de ce mécanisme à structurer la diversité spécifique et fonctionnelle au sein des assemblages de carabes. Dans ce contexte, nos résultats apportent aussi des éléments intéressants pour mieux comprendre la fourniture du service de contrôle biologique par ce groupe d'auxiliaires.

CHAPITRE 4 : Caractérisation moléculaire haut-débit du régime alimentaire des coléoptères carabiques en milieu agricole

1) Introduction

Ce chapitre constitue le prolongement des travaux de mise au point du séquençage haut-débit, que nous avons déjà présentés dans le chapitre 1. Ici, nous appliquons la méthode de métabarcoding à l'analyse du régime alimentaire de la communauté de carabes dans 2 paysages agricoles européens typiques. Avec cette démarche nous cherchons à répondre à la première question de recherche, énoncée en début du manuscrit. En effet, en appliquant la technique de séquençage haut-débit à l'étude du régime alimentaire des carabes, nous avons la possibilité d'analyser simultanément un grand nombre d'échantillons de plusieurs espèces. Avec un tel jeu de données, nous pourrons ensuite reconstruire le réseau trophique à l'échelle de la communauté et inférer les interactions directes et indirectes entre espèces. Nous pouvons également évaluer en temps réel la consommation potentielle de ravageurs par plusieurs espèces de carabes directement au champ. Pour cela, nous avons réalisé un échantillonnage sur deux paysages agricoles contrastés et éloignés géographiquement, le premier situé dans le département Ille-et-Vilaine, le second situé dans le département des Deux-Sèvres. Au sein de chaque site, nous avons échantillonné la communauté de carabes dans plusieurs champs agricoles de grande culture.

Suite à notre expérience préalable, nous avons adapté la démarche générale afin de maximiser le succès de la méthode. Ainsi, nous avons décidé de travailler sur les contenus stomacaux plutôt que sur les fèces. Nous avons choisi de congeler les nombreux échantillons immédiatement après récolte pour effectuer les dissections *a posteriori*, plutôt que de trier les carabes vivants. Nous avons également constitué une base de référence locale des espèces d'invertébrés et de plantes les plus communes dans notre zone d'étude. Par ailleurs, nous avons évalué et comparé *in silico* la spécificité et la couverture taxonomique de plusieurs paires d'amorces afin de choisir les plus performantes. Pour constituer la base de référence, nous avons séquencé les fragments COI et 16S, amplifiés par les amorces barcoding LCO/HCO et MAV/CACI respectivement, et le fragment trnL, amplifié par les amorces g/h chez les plantes. Pour évaluer l'efficacité des amorces, nous avons sélectionné plusieurs jeux d'amorces publiés et nous les avons comparés à la performance des amorces

MAV, utilisées précédemment. Enfin, nous avons réalisé des arbres phylogénétiques avec les séquences, amplifiées *in silico* avec les amorces choisies afin de faciliter l'identification des séquences générées à partir des contenus stomacaux des carabes pour les taxa pour lesquels il manquerait des références dans les bases publiques.

2) Matériel & Méthode

2.1) Evaluation *in silico* des amorces métabarcoding

Nous avons cherché dans la littérature tous les jeux d'amorces susceptibles de nous intéresser dans le cadre de cette étude (recherche avec les mots-clés « barcoding » et « universal primers » sur Web of Knowledge entre janvier et mars 2012). Après sélection des amorces d'intérêt, elles ont été évaluées *in silico* avec le logiciel AmplifX version 1.6.2 (Nicolas Jullien, CNRS, Aix-Marseille Université, http://crn2m.univ-mrs.fr/pub/amplifx-dist). Pour cela, les mitochondries complètes ou à défaut les fragments COI standard (>658pb) ont été téléchargés depuis GenBank pour un spectre de proies représentatif des ordres et des familles des deux grands embranchements susceptibles d'être consommés par les carabes (Arthropodes, Mollusques). Une PCR *in silico* a été réalisée pour chaque jeu d'amorces et pour chaque séquence téléchargée. La proportion d'amplifications positives a été notée. Après l'évaluation *in silico*, les jeux d'amorces les plus performants ont été choisis et les fragments amplifiés par ces amorces ont été alignés avec le logiciel MEGA version 5.2.2 (Tamura et al. 2007), en utilisant l'algorithme ClustalW. A partir de ces alignements, un arbre phylogénétique a été généré avec la méthode du maximum de vraisemblance pour chaque jeu d'amorces.

2.2) Echantillonnage

Sur le site de Rennes (département Ille-et-Vilaine), nous avons échantillonné six parcelles (3 parcelles de blé et 3 parcelles de colza) choisies aléatoirement le long d'un gradient d'intensification agricole au sein de la zone-atelier « Armorique » (48° 36′ N, 1° 32′ O). Les individus ont été capturés vivants dans des pots-pièges enterrés au ras du sol, sans liquide conservateur. Pour garantir la bonne conservation des contenus stomacaux, les pots ont été relevés toutes les 24h, huit fois consécutives

entre le 11 avril et le 23 mai 2012. Entre 38 et 55 pots par parcelle et par date ont été posés (mean 48 ± SD 4.4) afin d'assurer un nombre important de captures.
Sur le site de Chizé (département des Deux-Sèvres), nous avons échantillonné dix parcelles (5 parcelles de céréales et 5 parcelles de colza), choisies aléatoirement le long d'un gradient de boisement au sein de la zone-atelier « Plaine et Val de Sèvre » (46° 08′ N, 0° 24′ O). Les individus ont été capturés vivants dans des pots-pièges enterrés au ras du sol, sans liquide conservateur. Pour garantir la bonne conservation des contenus stomacaux, les pots ont été relevés toutes les 24h, trois fois consécutives entre le 07 et le 12 juin 2012. Entre 4 et 10 pots (en moyenne 5.4 pots par parcelle et par date) ont été posés.

2.3) Choix des individus

Les individus vivants ont été ramenés au laboratoire et congelés immédiatement dans les pots-pièges à -20°C. Ensuite, les carabes ont été triés, identifiés à l'espèce et le sexe de toutes les espèces de >6mm a été déterminé. Pour choisir les individus à séquencer nous avons comparé toutes les dates de collecte et nous avons choisi la date à laquelle le plus d'individus d'un nombre élevé d'espèces ont été capturés dans toutes les parcelles (1671 individus de 47 espèces sur les 61 espèces collectées au total sur l'ensemble des sessions de piégeage). Pour les espèces abondantes, dix individus par parcelle ont été choisis par tirage aléatoire. Pour les espèces dont les effectifs étaient inférieurs, tous les individus ont été prélevés.

2.4) Constitution de la base de référence

Tous les invertébrés présents dans les pots-pièges lors de la collecte des carabes, ont été gardés et congelés immédiatement après récolte à -20°C. Ces invertébrés ont été triés par morpho-espèces pour constituer la base de référence. Ces morpho-espèces ont été identifiées à l'espèce, au genre ou à la famille selon les taxa. Des sessions d'échantillonnage supplémentaires ont été organisées pour récolter des spécimens de mollusques et faire un inventaire des espèces de plantes autour des sites d'échantillonnage des carabes. Les mollusques ont été recherchés visuellement à l'intérieur des champs, et dans les bordures et les zones boisées autour des champs échantillonnés. Limaces et escargots ont été collectés à la main le 21 juin 2012 et congelés à la fin de la journée à -20°C. En ce qui concerne les plantes, toutes les espèces de plantes et d'arbres présentes dans les bordures des six champs

échantillonnés, ont été identifiées à l'espèce. Un morceau de tissu a été prélevé sur un ou plusieurs spécimens par espèce et stocké immédiatement dans un tube individuel rempli d'alcool à 96°. Tous les tubes ont été congelés le soir même à -20°C au laboratoire. Les espèces de plantes les plus abondantes ont été notées. Nous avons également séquencé la majorité des espèces de carabes, présentes dans les deux zones-ateliers (« Armorique » et « Plaine et Val de Sèvre »). Les spécimens de carabes ont été prélevés dans le cadre de différents projets de recherche entre 2010 et 2012 mais seuls les individus en bon état de conservation ont été gardés pour la base de référence. Tous les carabes ont été identifiés à l'espèce.

Pour les extractions d'ADN des arthropodes et des mollusques, nous avons utilisé un protocole non-destructif permettant la re-examination des spécimens si nécessaire. L'ADN de chaque individu a été extrait avec le kit DNeasy Blood & Tissue de Qiagen. Après dosage, l'ADN a été amplifié avec les amorces 16S MAV et CACI selon le protocole décrit en chapitre 1. Nous avons également amplifié le fragment standard barcoding de 658pb avec les amorces LCO/HCO (Folmer et al. 1994) en rajoutant une queue M13 (M13F(-21) TGTAAAACGACGGCCAGT/M13R(-27) CAGGAAACAGCTATGAC) en 5' de chaque amorce afin d'améliorer la qualité du séquençage par la suite. L'ADN des plantes a été extrait avec le kit DNeasy Plant Kit de Qiagen après broyage dans de l'azote liquide. L'ADN extrait a été dosé et amplifié avec les amorces g/h (Taberlet et al. 2007).

Les produits PCR ont été visualisés après migration sur un gel d'agarose (1.5%) pour les amorces MAV, CACI et trnL ou sur un E-Gel® (Invitrogen™) pour les amorces LCO/HCO. Tous les produits PCR ont été séquencés directement au Centre National de Séquençage (Evry, France) avec un séquenceur capillaire ABI3730XL.

2.5) Séquençage haut-débit

Les carabes choisis ont été placés dans des tubes Eppendorf individuels stériles et ils ont été nettoyés à l'eau de Javel selon le protocole décrit dans Greenstone et al. (2012). Après lavage, les contenus stomacaux de tous les individus de >4mm ont été disséqués dans des conditions stringentes. Entre chaque individu la paillasse a été nettoyée avec DNA AWAY™ (Thermo Scientific™ Molecular BioProducts) et les pinces de dissections ont été passées à la flamme. Chaque intestin a été placé dans un nouveau tube Eppendorf stérile et re-congelé à -20°C avant l'extraction de l'ADN. Les individus de taille <4mm ont été broyés entiers dans un broyeur à billes (Thermo Scientific™). Pour cela deux billes en inox ont été placées dans chaque tube avec du

tampon de lyse et broyés juste avant l'extraction. Les billes ont été lavées à l'eau de Javel et rincées à l'eau ultra-pure Milli-Q avant broyage. Toutes les extractions d'ADN ont été réalisées avec le DNeasy Blood & Tissue Kit (Qiagen), selon les instructions fournies. L'ADN extrait de chaque échantillon a ensuite été dosé avec le NanoDrop ND-1000 UV-Vis Spectrophotometer (NanoDrop Technologies) et amplifié simultanément avec les quatre paires d'amorces choisies. Toutes les PCRs ont été réalisées dans un volume final de 25 µL avec 5 µL d'ADN dans un mix contenant en concentrations finales 1.0 U de taq polymérase GoTaq® Flexi DNA Polymerase (Promega), tampon 1x, 2 mM MgCl2, 2.5mM dNTPs mélangés, 20mg/mL albumine de sérum bovin (BSA) et 0,2 mM de chaque amorce. Une amorce de blocage « vertébrés » pour les amorces MAV a été rajoutée en concentration finale de 2mM. Pour les deux jeux d'amorces 16S (ewB/E et MAV) et pour les amorces trnL (g/h), 50 cycles de PCR ont été réalisés (10 min de dénaturation initiale à 95°C, 30 sec à 95°C, 30 sec d'hybridation à 55°C (MAV) et 58°C (ewE/B), 30 sec d'élongation à 72°C et 10 min d'élongation finale à 72°C). Pour les amorces COI (ZBJ-ArtF1c/ZBJ-ArtR2c), nous avons respecté les conditions PCR spécifiées dans Zeale et al. (2011). Un témoin négatif PCR ont été réalisé tous les 70 individus environ. Chaque individu a été étiqueté avec une combinaison unique de deux séquences différentes d'une longueur de 14 nucléotides (tags), une en *forward* et une en *reverse*. Pour créer suffisamment de variabilité en début de chaque séquence, la proportion de chacune des bases A, T, G et C n'excédait pas 25% sur les 6 premières positions en 3', et pour l'ensemble des tags utilisés.

Les produits PCR ont été visualisés après migration sur gel d'agarose (2%) et mélangés en proportions équimolaires par amorce, selon une gamme d'intensité des bandes de migration. Ensuite, nous avons fait migrer sur gel d'agarose (2%) les mélanges équimolaires pour chaque amorce afin de récupérer uniquement les fragments de taille attendue. Les bandes de migration ont été découpées à la main en changeant de scalpel entre chaque amorce. L'ADN a été séparé du gel et purifié avec le QIAquick Gel Extraction Kit (Qiagen). L'ADN ainsi purifié a été dosé avec NanoDrop ND-1000 UV-Vis Spectrophotometer (NanoDrop Technologies) et les produits amplifiés par les quatre jeux d'amorces mélangés en proportions équimolaires. Ce mélange final a été dosé par Nanodrop et envoyé pour séquençage. Les échantillons ont été séquencés avec la technologie Illumina Miseq pair-end (2x150bp) par Fasteris SA (Switzerland).

2.6) Analyses

Après séquençage, les pair-ends obtenus ont été assemblés avec l'algorithme *illuminapairend* (OBITOOLS, http://metabarcoding.org//obitools/doc/index.html), développé par le Laboratoire d'Ecologie Alpine, Grenoble. Les séquences ont été assignées aux échantillons grâce à la combinaison unique de tags avec l'algorithme *ngsfilter* (OBITOOLS, http://metabarcoding.org//obitools/doc/index.html). Toutes les séquences strictement identiques ont été regroupées. Les séquences vues une seule fois et/ou d'une longueur <8 pb ont été écartées du jeu de données. Ensuite, les séquences ont été alignées et regroupées par des clusters de séquences similaires, et les erreurs de PCR putatives supprimées avec l'algorithme *obiclean* (OBITOOLS, http://metabarcoding.org//obitools/doc/index.html). Les séquences représentatives de chaque cluster ont ensuite été comparées par BLAST avec un seuil d'identité de 95%. Si plusieurs taxa présentaient la même séquence de barcode, elle a été assignée au niveau taxonomique le plus bas incluant les deux taxa, en se basant sur la taxonomie de NCBI (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/taxonomy).

Nous avons ensuite aligné les séquences identifiées dans les intestins des carabes avec les séquences amplifiées *in silico* avec le logiciel MEGA version 5.2.2 (Tamura et al. 2007) utilisant l'algorithme ClustalW. Ensuite, nous avons réalisé un arbre phylogénétique avec la méthode du maximum de vraisemblance pour positionner les séquences déjà identifiées par BLAST par rapport aux séquences de référence.

3) Résultats

3.1) Evaluation *in silico* des amorces métabarcoding

Après revue de la littérature, deux jeux d'amorces universelles ont retenu notre attention : Uni-MinibarF1/Uni-MinibarR1 (Meusnier et al. 2008) et ZBJ-ArtF1c/ZBJ-ArtR2c (Zeale et al. 2011), amplifiant un fragment respectivement de 130pb et de 157pb de la région de Folmer de COI. Les avantages de ces amorces sont, d'une part, la petite taille du fragment amplifié, compatible avec la dégradation potentielle de l'ADN digéré et, d'autre part, le fait que ces jeux d'amorces amplifient le gène COI à l'intérieur de la région barcode standard permettant ainsi de disposer de bases de références assez riches. Pour les évaluer *in silico*, nous avons téléchargé depuis GenBank 99 séquences COI correspondant à 48 familles de 13 ordres, représentatifs des proies entrant potentiellement dans le régime des Carabidae. De plus, et pour

tester *in silico* MAV (16S), nous avons téléchargé 77 génomes mitochondriaux correspondant à 62 familles de 18 ordres. Au total, les deux jeux d'amorces COI ont été testés sur 94 familles de 21 ordres d'Arthropodes et de Mollusques (et une séquence de Nématodes).

Les amorces Uni-MinibarF1/Uni-MinibarR1 ont amplifié 21.5% des taxa (29 familles de 12 ordres, voir Tableau 1 de l'annexe 1 de ce chapitre). Les amorces ZBJ-ArtF1c/ZBJ-ArtR2c ont amplifié 41.3% des séquences (43 familles de 12 ordres, Tableau 2, annexe 1). Ces amorces ont également amplifié des Crustacés, des Gastéropodes et des Chilopodes alors qu'elles ont été dessinées sur des séquences d'Arthropodes, principalement des Insectes, uniquement.

Les amorces MAV ont amplifié 97.4% des séquences testées (60 familles de 18 ordres, Tableau 3, annexe 1). Suite à ces résultats, nous avons choisi d'utiliser les jeux d'amorces MAV et ZBJ-ArtF1c/ZBJ-ArtR2c pour lesquels, les arbres générés par la méthode du maximum de vraisemblance ont donné des résultats similaires (fig. 1 & 2, annexe 2). Ces arbres permettent de séparer assez bien les différents taxa toutefois des ambiguïtés sont observées pour certaines séquences. Nous avons combiné ces deux jeux d'amorces avec les amorces universelles g/h amplifiant le gène trnL chez les plantes (Taberlet et al. 2007) et avec les amorces universelles ewE/B amlifiant le gène 16S chez lesannélidesoligochètes (Bienert et al. 2012).

3.2) Echantillonnage et choix des individus

Sur l'ensemble des dates d'échantillonnage et sur l'ensemble des parcelles suivies, nous avons collecté 7318 individus de 61 espèces et 302 individus de 17 espèces, à Rennes et à Chizé, respectivement. La répartition des espèces selon leur abondance sur le site de Rennes est présentée sur la figure 1.

A Rennes, la date pour laquelle l'abondance et la richesse des carabes étaient les plus importantes était le 23 mai 2012. Pour cette date 1671 individus de 47 espèces ont été collectés dont 13 espèces (Tableau 1) dans les six champs simultanément. Parmi ces 13 espèces, 494 individus ont été retenus pour le séquençage. A Chizé, compte tenu des captures moins abondantes, deux dates de collecte ont été regroupées (09/06/12 et 12/06/12) pour avoir suffisamment d'individus dans tous les champs échantillonnés, 263 individus de 10 espèces ont été retenus pour le séquençage (Tableau 1).

3.3) Constitution de la base de référence

Nous avons sélectionné et séquencé au total 888 spécimens d'arthropodes, mollusques et de plantes. Pour les Arthropodes, nous avons séquencé 335 spécimens de 5 classes (Insectes, Arachnides, Malacostracés, Diplopodes et Collemboles) correspondant au total à 36 familles de 8 ordres différents (Tableau 1, annexe 2). Parmi les spécimens séquencés, seuls 100 ont pu être identifiés avant barcoding à l'espèce (25 espèces) ou au genre (16 genres). Le reste a été identifié au mieux à la famille (233 spécimens). Toutes les araignées et opilions (108 spécimens) ont été traités à part. Ils ont été identifiés à l'espèce (90 individus) ou au genre (18 individus). Nous avons ainsi séquencé 27 espèces de 17 genres répartis dans 10 familles différentes (Tableau 2, annexe 2). Concernant les Mollusques, nous avons séquencé 79 spécimens de 5 genres répartis dans 4 familles d'escargots et limaces (Tableau 5, annexe 2). Nous avons aussi séquencé 239 spécimens de carabes appartenant à 81 espèces et 41 genres pour les deux sites (Rennes et Chizé, Tableau 4, annexe 2). Pour les plantes, 94 spécimens ont été traités dont 88 ont été identifiés avant barcoding à l'espèce (88 espèces) et 6 augenre (5 genres). Les 88 espèces ont été réparties dans 75 genres de 35 familles (Tableau 3, annexe 2).

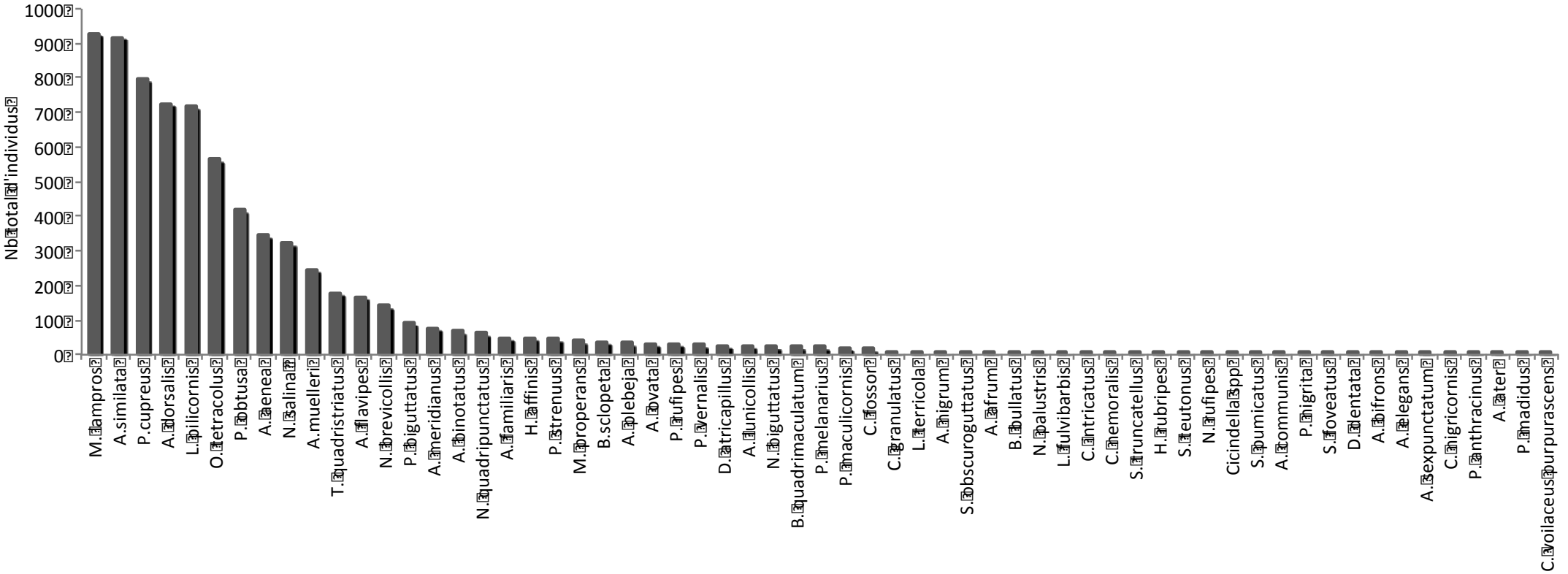


Figure 1. Répartition des espèces de carabes échantillonnées dans la zone-atelier « Armorique » entre le 11/04 et le 23/05 2013, selon leur abondance relative.

Tableau 1. Liste des espèces de carabes sélectionnées pour séquençage dans les deux zones d'étude.

ZA "Armorique"		ZA "Plaine et Val de Sèvre"	
Agonum	*muelleri*		
Amara	*aenea*	*Amara*	*similata*
Amara	*similata*	*Anchomenus*	*dorsalis*
Anchomenus	*dorsalis*	*Brachinus*	*sclopeta*
Anisodactylus	*binotatus*	*Calathus*	*fuscipes*
Asaphidion	*flavipes*	*Harpalus*	*affinis*
Brachinus	*sclopeta*	*Harpalus*	*cupreus*
Loricera	*pilicornis*	*Poecilus*	*cupreus*
Metallina	*lampros*	*Pterostichus*	*melanarius*
Nebria	*salina*	*Syntomus*	*obscuroguttatus*
Ocydromus	*tetracolus*	*Syntomus*	*truncatellus*
Phyla	*obtusa*		
Poecilus	*cupreus*		

3.4) Séquençage

Après assemblage, nous obtenus 7 381 057 séquences. Après assignation, nous avons obtenus 2 279 030 séquences avec les amorces COI (Insectes/Arachnides), 2 719 908 séquences avec les amorces ewE/B (Oligochètes), 1 807 005 séquences avec les amorces MAV (Arthropodes/Mollusques) et 575 114 séquences pour trnL (Plantes). Par la suite seront détaillés uniquement les résultats obtenus pour les amorces COI. Avec les amorces COI, nous avons obtenu 168 090 séquences uniques (variants). La gamme de longueur des différents variants obtenus variait entre 2 et 206 nucléotides avec 69% des variants (116 381 variants sur 168 090 au total) correspondant à la taille de fragment COI attendu (157pb, fig. 2). En ce qui concerne le nombre de variants, entre 1 et 998 variants par individu (moyenne 452.4, écart-type 280.6) ont été obtenus. En ce qui concerne le nombre de séquences, nous avons obtenu entre 23 et 47 111 séquences par individu (moyenne 3016.4, écart-type 4447.8, fig. 3). Les 19 témoins négatifs contenaient entre 36 et 918 séquences (moyenne 399.4, écart-type 276.9, fig. 4). Le nombre total de séquences retrouvées dans les témoins négatifs représentait 0.35% du nombre total de séquences obtenues.

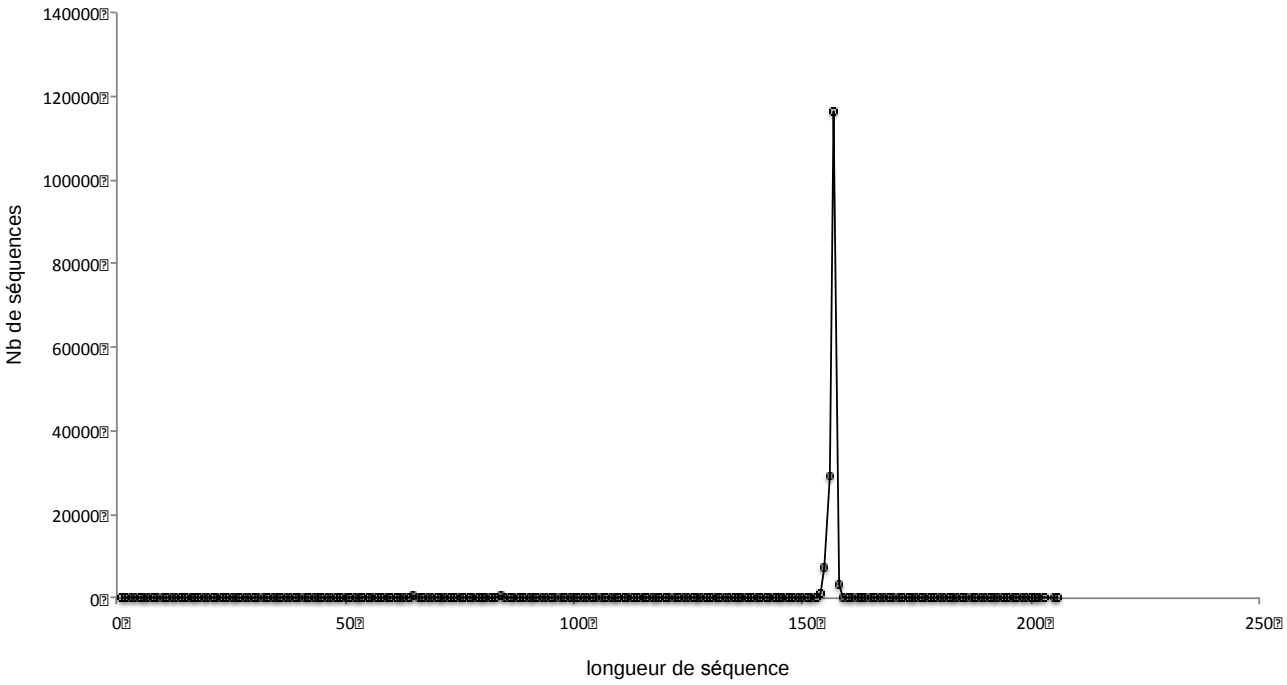


Figure 2. Répartition du nombre total de séquences amplifiées par les amorces COI ZBJ-ArtF1c/ZBJ-ArtR2c selon la taille des fragments générés.

Les 168 090 séquences uniques correspondaient à 51 693 séquences vues plus d'une fois et d'une longueur >8 nucléotides. Après clustering avec la fonction *obiclean* des 51 693, nous avons obtenu 545 séquences différentes, représentatives de chaque cluster généré avec l'algorithme obiclean. Ces 545 séquences ont été identifiées par BLAST automatique avec un seuil d'identité de 75%. Toutes les séquences identifiées ainsi comme Carabidae ont été écartées (369 séquences, 68% du jeu de données) et le restant des séquences a été de nouveau analysé par BLAST avec un seuil d'identité de 92%. Parmi ces séquences, 31% ont été identifiées au niveau de la classe (Insecta) ou de l'embranchement (Arthropodes), 30% ont été identifiées à l'espèce (à 99-100% d'identité) et 12% au genre (97-98% d'identité). En écartant les séquences identifiées seulement au niveau de la classe, le reste des séquences se répartissait entre les Collemboles (deux familles différentes), les Arachnides (deux ordres et trois familles différentes) et les Insectes (trois ordres différents) (fig. 5). Parmi ces séquences, 61% correspondaient à des Diptères (4 familles différentes identifiées), 20% à des Arachnides (deux familles d'Araneae et une famille d'Opiliones), 8.4% à des Collemboles et 6.7% à des coléoptères (Elateridae et Staphylinidae). Pour les séquences identifiées en tant qu'Arthropodes ou Insectes, nous avons pu améliorer l'identification pour 62.9% d'entre elles, en se basant sur l'arbre phylogénétique généré avec les séquences COI de référence (fig. 6).

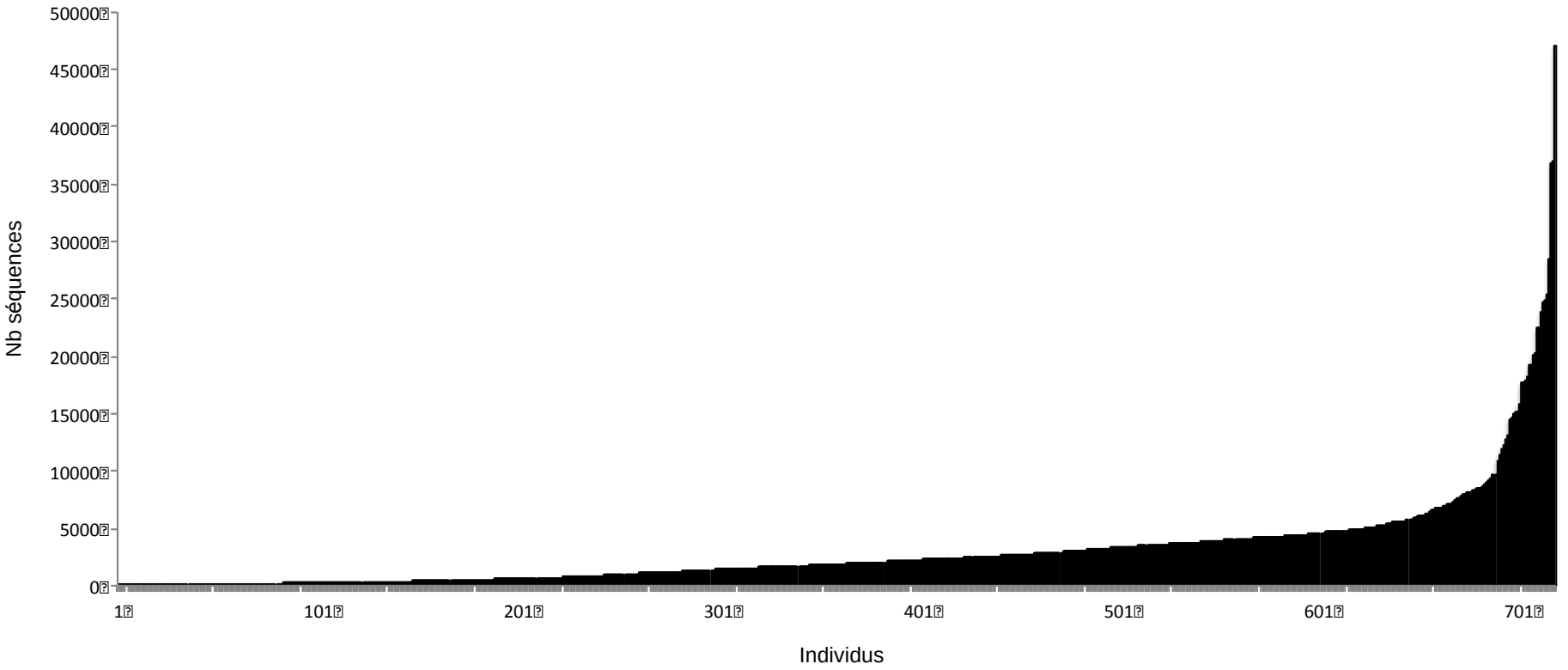


Figure 3. Répartition du nombre total de séquences amplifiées par les amorces COI ZBJ-ArtF1c/ZBJ-ArtR2c (Zeale et al. 2011) par échantillon.

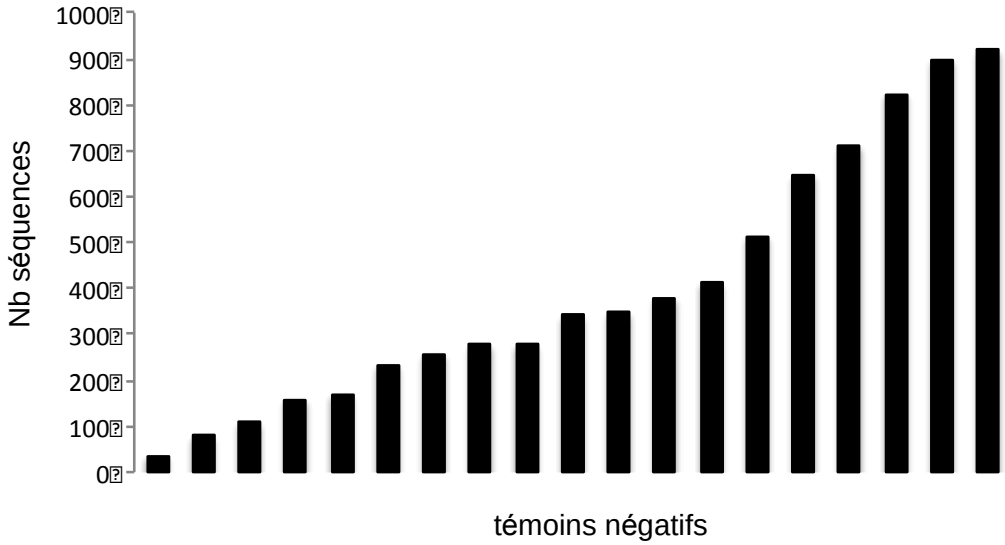


Figure 4. Répartition du nombre total de séquences retrouvées dans les 19 témoins négatifs (en ordre croissant).

Ainsi, dix taxa ont été placés sans ambiguïté dans le groupe des Arachnides, 3 séquences de Diptères ont été identifiées comme appartenant à la famille des Anthomyiidae, treize séquences d'Arthropodes ont été regroupées à proximité de la famille des Sarcophagidae (Diptera). Pour d'autres séquences, plus d'ambiguïtés ont été observées, notamment dues au faible nombre de séquences de référence, représentatives de chaque groupe taxonomique. Par exemple, les séquences des Lepidoptères et des Coléoptères Staphylinidae ont été regroupées ensemble et aucune de nos séquences de référence n'était présente à proximité de leur groupe. En ce qui concerne les séquences de Carabidae, 99% des séquences ont été identifiées à l'espèce ou au genre et 39 genres différents ont été identifiés (75% d'identité) à partir de nos séquences. Parmi ces 39 genres identifiés, nous avons retrouvé 17 des 20 genres des individus dont nous avons séquencé le contenu stomacal.

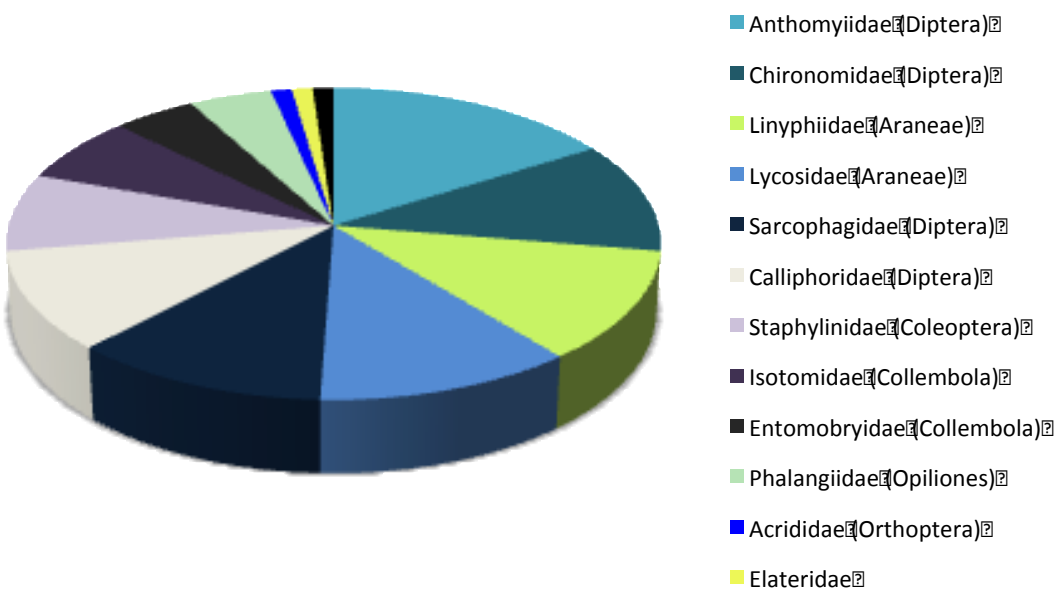
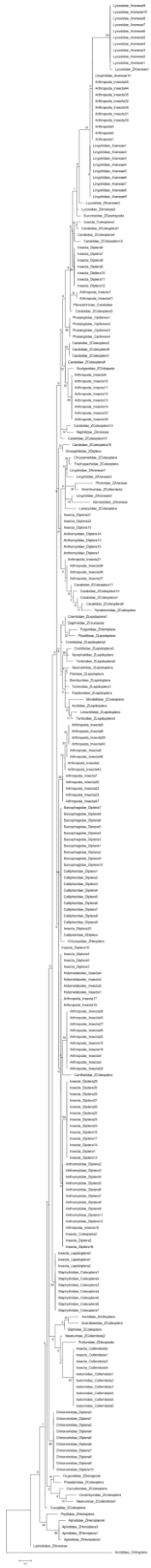


Figure 5. Proportion des taxa identifiés dans les contenus stomacaux des carabes à partir des séquences, amplifiées par les amorces COI ZBJ-ArtF1c/ZBJ-ArtR2c (Zeale et al. 2011).

Tableau 2. Séquences identifiées au niveau de l'espèce ou au genre à partir des contenus stomacaux de carabes avec les amorces COI ZBJ-ArtF1c/ZBJ-ArtR2c (Zeale et al. 2011).

Genre	Espèce	Famille	Classe/Ordre
Aloconota	*gregaria*	Staphylinidae	Coleoptera
Calliphora	*vicina*	Calliphoridae	Diptera
Calliphora	*crocepalpis*	Calliphoridae	Diptera
Delia	*platura*	Anthomyiidae	Diptera
Delia	*radicum*	Anthomyiidae	Diptera
Isotomurus	*maculatus*	Isotomidae	Collembola
Metriocnemus	*albolineatus*	Chironomidae	Diptera
Pardosa	*spp*	Lycosidae	Araneae
Phalangium	*opilio*	Phalangiidae	Opiliones
Sarcophaga	*spp*	Sarcophagidae	Diptera
Tenuiphantes	*tenuis*	Linyphiidae	Araneae

Figure 6. Arbre de Maximum de Vraisemblance avec le gène COI pour les 69 taxa de référence, amplifiés par PCR *in silico* avec les amorces ZBJ-ArtF1c/ZBJ-ArtR2c (Zeale et al. 2011, 157pb) et les séquences obtenues par séquençage haut-débit avec les mêmes amorces. Les séquences de références sont précédées par un Z. Le nombre entre parenthèses est le nombre de spécimens pour le groupe taxonomique en question (e.g. espèces différentes). Les valeurs de bootstrap sont indiquées devant chaque branche. La barre d'échelle représente le nombre moyen de substitutions par site (0.05).



4) Discussion

L'analyse de ce jeu de données n'est clairement pas encore aboutie et il semble difficile de tirer des conclusions sur le régime alimentaire ou sur les relations trophiques entre carabes. Toutefois, nous pouvons noter qu'avec les amorces COI Insectes/Arachnides nous observons une diversité de proies relativement faible. D'une part la prépondérance de l'ADN carabe amplifié, et d'autre part l'étape de clustering avant identification, peuvent réduire considérablement la diversité de séquences obtenues. Cela a déjà été observé dans le cadre du séquençage haut-débit du régime alimentaire carnivore sans blocage de l'ADN hôte (Shehzad et al. 2012). Néanmoins, bloquer l'ADN hôte présente aussi des inconvénients et il n'est pas toujours simple de choisir le meilleur compromis. La combinaison d'amorces comme dans notre cas peut limiter les biais mentionnés ci-dessous. Une autre solution intéressante serait de remplacer les amorces universelles par des multiplexes de jeux d'amorces spécifiques aux groupes de proies uniquement. Cependant, pour une approche sans *a priori*, l'utilisation d'amorces universelles sansblocage reste la solution la plus adaptée (Piñol et al. 2013). La faible diversité de proies retrouvées dans nos échantillons peut s'expliquer aussi par le fait que nous avons séquencé les contenus stomacaux. En effet, chez la majorité des individus uniquement la première partie de l'intestin (le jabot) est facilement accessible par dissection. Or, le jabot d'un carabe peut rarement contenir à la fois plusieurs proies taxonomiquement différentes. De plus, chez les petites espèces il semble qu'une grande proportion des individus avait les jabots vides même s'il est difficile de le confirmer par des simples observations à l'œil nu. Il faut aussi rappeler que dans notre échantillon, tous les individus ont été récoltés à une date précise tandis que la diversité du régime alimentaire dans la littérature est systématiquement évaluée à l'échelle de l'espèce, échantillonnée souvent sur plusieurs années consécutives (Hengeveld 1980a; Loreau 1983). De ce point de vue, le couplage avec la méthode des isotopes stables qui intègre des informations sur le régime alimentaire à plus long terme, permettrait de compléter et de confirmer les observations par les méthodes moléculaires.

Malgré la faible diversité taxonomique des proies consommées par les carabes, nous pouvons constater que les espèces que nous avons identifiées sont en accord avec les données dans la littérature (Hengeveld 1980a; Larochelle 1990; Holland 2002). Il semblerait ainsi que les carabes se nourrissent d'organismes épigés (Arachnides, Collembola) ou endogés (pupes de Diptères très vraisemblablement), en accord avec leur mode de vie. Nos données confirment aussi la prépondérance de la prédation intra-guilde sur des groupes d'Arthropodes qui peuvent être aussi des auxiliaires des

cultures (Arachnides, Staphylinidae ou d'autres Carabidae potentiellement). Cependant, nos espèces de carabes consomment aussi des espèces réputées ravageurs comme la mouche du chou par exemple (*Delia radicum*). Plus d'analyses sont nécessaires pour évaluer la prépondérance de la prédation intra-guilde ou de la consommation des ravageurs et identifier les facteurs qui déterminent ces processus comme l'identité de l'espèce de carabe, le type de paysage ou encore le type de culture.

De point de vue méthodologique, la richesse des bases de données COI nous a permis d'identifier une grande partie de nos séquences avec une relativement bonne résolution. L'utilisation d'arbres phylogénétiques pour améliorer la résolution d'assignation taxonomique de nos séquences semble une approche intéressante à développer. Cependant, il semble nécessaire d'enrichir notre base locale de séquences-références afin d'améliorer la précision d'identification. Le problème est qu'avec une séquence d'ADN aussi courte (157pb), on aurait toujours des difficultés pour la discrimination de certains taxa.Dans ce contexte, il serait intéressant de comparer les données que nous avons générées avec les amorces universelles COI ZBJ-ArtF1c/ZBJ-ArtR2c et 16S MAVavec les données générées par des amorces groupes-spécifiques en PCR-multiplexe comme ceux développées dans Balmer et al. (2013), générant habituellement des fragments de taille plus grande (157-212pb dans Balmer et al. 2013). Cette comparaison sera intéressante non seulement pour comparer la résolution taxonomique entre amorces universelles et amorces-groupes spécifiques mais également pour évaluer la cohérence entre les deux approches notamment en termes de représentativité des différentes séquences.

5) Annexe 1 Chapitre 4: Evaluation par PCR *in silico* des amorces universelles COI et 16S

Tableau 1. Liste des taxa, amplifiées par PCR *in silico* avec les amorces COI Uni-MinibarF1/Uni-MinibarR1 (Meusnier et al. 2008). Chaque famille est représentée par un ou plusieurs genres différents.

Classe/ordre	Famille
Acari	Argasidae
Araneae	Liphistiidae
Araneae	Pholcidae
Araneae	Lycosidae
Araneae	Lycosidae
Chilopoda	Lithobiidae
Coleoptera	Carabidae
Coleoptera	Carabidae
Coleoptera	Carabidae
Coleoptera	Coccinellidae
Coleoptera	Bostrichidae
Coleoptera	Lucanidae
Coleoptera	Mordellidae
Coleoptera	Curculionidae
Coleoptera	Scarabaeidae
Collembola	Neanuridae
Collembola	Neanuridae
Collembola	Onychiuridae
Collembola	Poduridae
Decapoda	Ocypodidae
Hemiptera	Psyllidae
Isopoda	Ligiidae
Lepidoptera	Crambidae
Lepidoptera	Erebidae
Lepidoptera	Geometridae
Lepidoptera	Lymantriidae
Lepidoptera	Pieridae
Lepidoptera	Plutellidae
Lepidoptera	Pyralidae
Lepidoptera	Tortricidae
Lepidoptera	Tortricidae
Lepidoptera	Tortricidae
Lepidoptera	Tortricidae
Myriapoda	Scutigeridae
Orthoptera	Chorotypidae
Pulmonata	Succineidae

Tableau 2. Liste des taxa, amplifiées par PCR *in silico* avec les amorces COI ZBJ-ArtF1c/ZBJ-ArtR2c (Zeale et al. 2011). Chaque famille est représentée par un ou plusieurs genres différents.

Classe/ordre	Famille
Araneae	Linyphiidae
Araneae	Linyphiidae
Araneae	Linyphiidae
Araneae	Liphistiidae
Araneae	Lycosidae
Araneae	Lycosidae
Araneae	Lycosidae
Araneae	Nemesiidae
Araneae	Nephilidae
Araneae	Pholcidae
Chilopoda	Scutigeridae
Coleoptera	Cantharidae
Coleoptera	Carabidae
Coleoptera	Carabidae
Coleoptera	Carabidae
Coleoptera	Carabidae
Coleoptera	Carabidae
Coleoptera	Carabidae
Coleoptera	Carabidae
Coleoptera	Carabidae
Coleoptera	Carabidae
Coleoptera	Carabidae
Coleoptera	Carabidae
Coleoptera	Carabidae
Coleoptera	Carabidae
Coleoptera	Carabidae
Coleoptera	Carabidae
Coleoptera	Carabidae
Coleoptera	Carabidae
Coleoptera	Cerambycidae
Coleoptera	Chrysomelidae
Coleoptera	Cucujidae
Coleoptera	Curculionidae
Coleoptera	Lampyridae
Coleoptera	Mordellidae
Coleoptera	Priasilphidae
Coleoptera	Scarabaeidae
Coleoptera	Silphidae
Coleoptera	Tenebrionidae
Coleoptera	Trachypachidae

Classe/ordre	Famille
Collembola	Neanurinae
Collembola	Neanurinae
Collembola	Sminthuridae
Crustacea	Daphniidae
Decapoda	Ocypodidae
Decapoda	Portunidae
Diptera	Calliphoridae
Diptera	Drosophilidae
Gastropoda	Succineidae
Hemiptera	Aphididae
Hemiptera	Aphididae
Hemiptera	Aphididae
Hemiptera	Aphididae
Hemiptera	Fulgoridae
Hemiptera	Psyllidae
Lepidoptera	Arctiidae
Lepidoptera	Bombycidae
Lepidoptera	Crambidae
Lepidoptera	Crambidae
Lepidoptera	Crambidae
Lepidoptera	Geometridae
Lepidoptera	Limantriidae
Lepidoptera	Nymphalidae
Lepidoptera	Papilionidae
Lepidoptera	Pieridae
Lepidoptera	Plutellidae
Lepidoptera	Tortricidae
Lepidoptera	Tortricidae
Lepidoptera	Tortricidae
Neoptera	Chrysopidae
Orthoptera	Acrididae

Tableau 3. Liste des taxa, amplifiés par PCR *in silico* avec les amorces 16S MAV (de Barba et al. *in press*). Chaque famille est représentée par un ou plusieurs genres différents.

Classe/ordre	Famille
Araneae	Dipluridae
Araneae	Liphistiidae
Araneae	Liphistiidae
Araneae	Nemesiidae
Araneae	Nephilidae
Araneae	Pholcidae
Chilopoda	Scutigeridae
Coleoptera	Bostrichidae
Coleoptera	Buprestidae
Coleoptera	Cantharidae
Coleoptera	Carabidae
Coleoptera	Carabidae
Coleoptera	Cerambycidae
Coleoptera	Chrysomelidae
Coleoptera	Cucujidae
Coleoptera	Curculionidae
Coleoptera	Lampyridae
Coleoptera	Lucanidae
Coleoptera	Mordellidae
Coleoptera	Priasilphidae
Coleoptera	Scarabaeidae
Coleoptera	Silphidae
Coleoptera	Tenebrionidae
Coleoptera	Trachypachidae
Collembola	Neanurinae
Collembola	Neanurinae
Collembola	Onychiuridae
Collembola	Poduridae
Collembola	Sminthuridae
Crustacea	Daphniidae
Crustacea	Isopoda
Decapoda	Ocypodidae
Decapoda	Portunidae
Diptera	Calliphoridae
Diptera	Drosophilidae
Ephemeroptera	Isonychiidae

Classe/ordre	Famille
Gastropoda	Clausiliidae
Gastropoda	Helicidae
Gastropoda	Helicidae
Gastropoda	Succineidae
Hemiptera	Aphididae
Hemiptera	Aphididae
Hemiptera	Cercopidae
Hemiptera	Psyllidae
Hymenoptera	Apidae
Hymenoptera	Apidae
Hymenoptera	Apidae
Hymenoptera	Formicidae
Hymenoptera	Formicidae
Hymenoptera	Formicidae
Isopoda	Ligiidae
Isoptera	Rhinotermitidae
Ixodida	Argasidae
Lepidoptera	Arctiidae
Lepidoptera	Bombycidae
Lepidoptera	Crambidae
Lepidoptera	Crambidae
Lepidoptera	Crambidae
Lepidoptera	Geometridae
Lepidoptera	Limantriidae
Lepidoptera	Nymphalidae
Lepidoptera	Papilionidae
Lepidoptera	Pieridae
Lepidoptera	Pieridae
Lepidoptera	Plutellidae
Lepidoptera	Tortricidae
Lepidoptera	Tortricidae
Lepidoptera	Tortricidae
Lepidoptera	Tortricidae
Myriapoda	Lithobiidae
Myriapoda	Pauropododae
Myriapoda	Spirobolida
Neoptera	Chrysopidae
Orthoptera	Acrididae
Orthoptera	Chorotypidae

6) Annexe 2 Chapitre 4: Identification taxonomique des spécimens séquencés pour la base de référence barcoding locale.

Tableau 1. Liste des groupes taxonomiques, échantillonnés pour la base de référence dans la zone-atelier « Armorique », Ille-et-Vilaine et séquencés pour les fragments LCO/HCO et MAV des gènes COI et 16S.

Classe	Ordre	Famille	Genre	Espèce
Acari (Arachnida)				
Insecta	Coleoptera	Alleculidae	*Pseudocistela*	*ceramboides*
Insecta	Coleoptera	Byrrhidae	*Cytilus*	*sericeus*
Insecta	Coleoptera	Cantharidae	*Malthinus*	*punctatus*
Insecta	Coleoptera	Cantharidae	*Cantharis*	*fusca*
Insecta	Coleoptera	Cantharidae	*Cantharis*	*lateralis*
Insecta	Coleoptera	Cholevidae	*Choleva*	*spp*
Insecta	Coleoptera	Chrysomelidae	*Oulema*	*melanopus*
Insecta	Coleoptera	Chrysomelidae	*Chrysolina*	*spp*
Insecta	Coleoptera	Chrysomelidae	*Oulema*	*spp*
Insecta	Coleoptera	Coccinellidae	*Coccinella*	*septempunctata*
Insecta	Coleoptera	Coccinellidae	*Tytthaspis*	*sedecimpunctata*
Insecta	Coleoptera	Coccinellidae	*Propylea*	*quatuordecimpunctata*
Insecta	Coleoptera	Coccinellidae	*Hippodamia*	*tredecimpunctata*
Insecta	Coleoptera	Curculionidae	*Baris*	*fallax*
Insecta	Coleoptera	Curculionidae	*Sitona*	*spp*
Insecta	Coleoptera	Curculionidae	*Barynotus*	*spp*
Insecta	Coleoptera	Elateridae		
Insecta	Coleoptera	Histeridae		
Insecta	Coleoptera	Lathridiidae	*Enicmus*	*spp*
Insecta	Coleoptera	Lucanidae	*Dorcus*	*parallelepipedus*
Insecta	Coleoptera	Malachiidae	*Malachius*	*spp*
Insecta	Coleoptera	Oedemeridae		
Insecta	Coleoptera	Scarabaeidae	*Onthophagus*	*spp*
Insecta	Coleoptera	Scarabaeidae	*Copris*	*spp*
Insecta	Coleoptera	Scarabaeidae	*Aphodius*	*spp*
Insecta	Coleoptera	Scarabaeidae	*Valgus*	*hemipterus*
Insecta	Coleoptera	Silphidae	*Blitophaga*	*opaca*
Insecta	Coleoptera	Staphylinidae	*Philonthus*	*spp*
Insecta	Coleoptera	Staphylinidae		
Insecta	Dermaptera	Forficulidae	*Forficula*	*auricularia*

Classe	Ordre	Famille	Genre	Espèce
Insecta	Diptera	Bibionidae	*Bibio*	*spp*
Insecta	Diptera			
Insecta	Diptera	Syrphidae		
Insecta	Diptera	Syrphidae	*Episyrphus*	*balteatus*
Collembolla	Entomobryomorpha	Entomobryidae		
Insecta	Hemiptera	Aphididae		
Insecta	Hemiptera	Coreidae	*Coreus*	*marginatus*
Insecta	Hemiptera	Cydnidae	*Legnotus*	*limbosus*
Insecta	Hemiptera			
Insecta	Hemiptera	Lygaeidae	*Ischnodemus*	*sabuleti*
Insecta	Hemiptera	Lygaeidae	*Drymus*	*sylvaticus*
Insecta	Hemiptera	Lygaeidae	*Aphanus*	*rolandri*
Insecta	Hemiptera	Lygaeidae	*Emblethis*	*spp*
Insecta	Hemiptera	Miridae	*Stenotus*	*binotatus*
Insecta	Hemiptera	Pentatomidae	*Eurydema*	*oleracea*
Insecta	Hymenoptera	Formicidae		
Insecta	Hymenoptera	Ichneumonidae	*Gelis*	*spp*
Insecta	Hymenoptera	Ichneumonidae		
Insecta	Hymenoptera	Pompilidae		
Insecta	Hymenoptera	Proctotrupidae		
Insecta	Hymenoptera	Sphecidae		
Insecta	Hymenoptera	Tenthredinidae		
Malacostraca	Isopoda			
Diplopoda	Iulida			
Insecta	Lepidoptera	Arctiidae		
Insecta	Lepidoptera			
Insecta	Lepidoptera	Noctuidae	*Polydesma*	*spp*
Insecta	Mecoptera	Panorpidae	*Panorpa*	*communis*
Insecta	Orthoptera	Gryllidae	*Gryllus*	*campestris*
Insecta	Orthoptera			

Tableau 2. Liste des groupes taxonomiques d'Arachnides, échantillonnés pour la base de référence dans la zone-atelier « Armorique », Ille-et-Vilaine et séquencés pour les fragments LCO/HCO et MAV des gènes COI et 16S.

Famille	Genre	Espèce
Araneidae	*Araniella*	*cucurbitina*
Lycosidae	*Arctosa*	*leopardus*
Lycosidae	*Aulonia*	*albimana*
Linyphiidae	*Diplostyla*	*concolor*
Linyphiidae	*Erigone*	*atra*
Linyphiidae	*Erigone*	*dentipalpis*
Linyphiidae	*Oedothorax*	*apicatus*
Linyphiidae	*Oedothorax*	*fuscus*
Phalangiidae	*Opilio*	*spp*
Linyphiidae	*Ostearius*	*melanopygius*
Thomisidae	*Ozyptila*	*simplex*
Tetragnathidae	*Pachygnatha*	*clercki*
Lycosidae	*Pardosa*	*agrestis*
Lycosidae	*Pardosa*	*amentata*
Lycosidae	*Pardosa*	*palustris*
Lycosidae	*Pardosa*	*prativaga*
Lycosidae	*Pardosa*	*proxima*
Lycosidae	*Pardosa*	*pullata*
Lycosidae	*Pardosa*	*saltans*
Lycosidae	*Pirata*	*piraticus*
Theridiidae	*Robertus*	*arundineti*
Linyphiidae	*Tenuiphantes*	*tenuis*
Lycosidae	*Trochosa*	*ruricola*
Thomisidae	*Xysticus*	*cristatus*
Thomisidae	*Xysticus*	*ulmi*
Gnaphosidae	*Zelotes*	*lutetianus*
Gnaphosidae	*Zelotes*	*pusillus*

Tableau 3. Liste des groupes taxonomiques de plantes, échantillonnés pour la base de référence dans la zone-atelier « Armorique », Ille-et-Vilaine et séquencés pour le fragment g/h du gène trnL.

Famille	Genre	Espèce
Aceraceae	*Acer*	*spp*
Asteraceae	*Achilea*	*millefollium*
Poaceae	*Agropyron*	*repens*
Poaceae	*Agrostis*	*canina*
Poaceae	*Agrostis*	*stolonifera*
Lamiaceae	*Ajuga*	*reptans*
Primulaceae	*Anagallis*	*arvensis*
Apiaceae	*Angelica*	*sylvestris*
Poaceae	*Anthoxanthum*	*odoratum*
Apiaceae	*Anthriscus*	*cerefolium*
Poaceae	*Arhenatherum*	*elatius*
Poaceae	*Avena*	*fatua*
Poaceae	*Bromus*	*sterilis*
Poaceae	*Bromus*	*ordoaceus*
Asteraceae	*Camomilla*	*suaveolens*
Betulaceae	*Carpinus*	*betulus*
Fagaceae	*Castaneum*	*sativa*
Asteraceae	*Centaurea*	*nigra*
Chenopodiaceae	*Chenopodium*	*polyspermum*
Chenopodiaceae	*Chenopodium*	*album*
Asteraceae	*Cirsium*	*arvense*
Convolvulaceae	*Convolvulus*	*arvensis*
Betulaceae	*Corylus*	*avellana*
Malaceae	*Crataegus*	*monogyna*
Rubiaceae	*Cruciata*	*laevipes*
Poaceae	*Dactylus*	*glomeratus*
Scrophulariaceae	*Digitalis*	*purpuraea*
Poaceae	*Elymus*	*repens*
Onagraceae	*Epilobium*	*tetragonum*
Onagraceae	*Epilobium*	*hirsutum*
Euphorbiaceae	*Euphorbia*	*amygdaloides*
Rosaceae	*Fragaria*	*spp*
Oleaceae	*Fraxinus*	*excelsior*
Fumariaceae	*Fumaria*	*officinalis*
Rubiaceae	*Gallium*	*mollugo*
Rubiaceae	*Gallium*	*aparine*
Geraniaceae	*Geranium*	*dissectum*
Geraniaceae	*Geranium*	*robertianum*
Geraniaceae	*Geranium*	*votudifolium*
Rosaceae	*Geum*	*urbanum*
Araliaceae	*Hedera*	*helix*
Apiaceae	*Heracleum*	*sphondylium*
Poaceae	*Holcus*	*mollis*
Clusiaceae	*Hypericum*	*pulchrum*
Aquifoliaceae	*Ilex*	*aquifolium*
Asteraceae	*Jacobaea*	*vulgaris*
Juncaceae	*Juncus*	*tenageia*

Famille	Genre	Espèce
Asteraceae	*Lapsana*	*communis*
Asteraceae	*Leucanthemum*	*vulgare*
Poaceae	*Lolium*	*perenne*
Fabaceae	*Lotus*	*corniculatus*
Primulaceae	*Lysimachia*	*vulgaris*
Lamiaceae	*Mentha*	*arvensis*
Apiaceae	*Oenanthe*	*spp*
Apiaceae	*Oenanthe*	*crocata*
Oxalydaceae	*Oxalys*	*fontana (europea)*
Plantaginaceae	*Plantago*	*major*
Plantaginaceae	*Plantago*	*lanceolata*
Poaceae	*Poa*	*spp*
Poaceae	*Poaceae*	*spp*
Polygonaceae	*Polygonum*	*persicaria*
Polygonaceae	*Polygonum*	*aviculare*
Rosaceae	*Potentilla*	*reptans*
Rosaceae	*Potentilla*	*sterilis*
Rosaceae	*Potentilla*	*anserina*
Rosaceae	*Prunus*	*spinosa*
Rosaceae	*Prunus*	*avium*
Dennstaedtiaceae	*Pteridium*	*aquilinum*
Fagaceae	*Quercus*	*robur*
Ranonculaceae	*Ranonculus*	*repens*
Brassicaceae	*Raphanus*	*raphanistrum*
Rosaceae	*Rubus*	*fructosus*
Polygonaceae	*Rumex*	*acetosa*
Salicaceae	*Salix*	*spp*
Caprifoliaceae	*Sambucus*	*nigra*
Scrophulariaceae	*Scrofularia*	*nodosa*
Crassulaceae	*Sedum*	*telephium*
Asteraceae	*Senecio*	*vulgaris*
Caryophyllaceae	*Silene*	*dioica*
Asteraceae	*Sonchus*	*asper*
Rosaceae	*Sorbus*	*aucuparia*
Caryophyllaceae	*Stellaria*	*holostea*
Caryophyllaceae	*Stellaria*	*graminea*
Boraginaceae	*Symphytum*	*officinalis*
Asteraceae	*Taraxacum*	*officinale*
Scrophulariaceae	*Teucrium*	*scorodanium*
Fabaceae	*Trifolium*	*repens*
Fabaceae	*Trifolium*	*pratense*
Urticaceae	*Urtica*	*dioica*
Plantaginaceae	*Veronica*	*beccabunga*
Plantaginaceae	*Veronica*	*agrestis*
Plantaginaceae	*Veronica*	*chamaedris*
Fabaceae	*Vicia*	*sativa*
Fabaceae	*Vicia*	*tretrasperma*

Tableau 4. Liste des spécimens de Carabes, présentes dans les zones-atelier « Armorique » et « Plaine et Val de Sèvre », identifiés à l'espèce et séquencés pour les fragments MAV et CACI du gène 16S.

Genre	Espèce
Abax	*ater*
Acupalpus	*meridianus*
Agonum	*afrum*
Agonum	*moestum*
Agonum	*muelleri*
Amara	*aulica*
Amara	*aenea*
Amara	*apricaria*
Amara	*consularis*
Amara	*convexior*
Amara	*familiaris*
Amara	*lunicollis*
Amara	*plebeja*
Amara	*similata*
Amblystomus	*niger*
Anchomenus	*dorsalis*
Anisodactylus	*binotatus*
Badister	*bullatus*
Bembidion	*quadrimaculatum*
Brachinus	*crepitans*
Brachinus	*elegans*
Brachinus	*sclopeta*
Calathus	*fuscipes*
Calathus	*melanocephalus*
Carabus	*intricatus*
Carabus	*nemoralis*
Carabus	*problematicus*
Carabus	*violaceus (purpurascens)*
Chlaenius	*chrysocephalus*
Clivina	*fossor*
Demetrias	*atricapillus*
Diachromus	*germanus*
Drypta	*dentata*
Harpalus	*affinis*
Harpalus	*atratus*
Harpalus	*dimidiatus*
Harpalus	*distinguendus*
Harpalus	*rubripes*
Harpalus	*serripes*
Harpalus	*tardus*
Leistus	*femugineus*

Genre	Espèce
Leistus	*fulvibarbis*
Loricera	*pilicornis*
Metallina	*lampros*
Metallina	*properans*
Microlestes	*maurus*
Microlestes	*minutulus*
Nebria	*brevicollis*
Nebria	*salina*
Notiophilus	*biguttatus*
Notiophilus	*palustris*
Notiophilus	*quadripunctatus*
Notiophilus	*substriatus*
Ocydromus	*deletus*
Ocydromus	*tetracolus*
Ophonus	*azureus*
Ophonus	*calceatus*
Ophonus	*griseus*
Ophonus	*rufipes*
Oxypselaphus	*obscurus*
Oxypselaphus	*obscurus*
Paratachys	*bistriatus*
Parophonus	*maculicornis*
Philochtus	*biguttatus*
Phyla	*obtusa*
Poecilus	*cupreus*
Poecilus	*kugelanni*
Pseudoophonus	*rufipes*
Pterostichus	*anthacinus*
Pterostichus	*madidus*
Pterostichus	*melanarius*
Pterostichus	*strenuus*
Pterostichus	*vernalis*
Scybaliscus	*oblongisculus*
Semiophonus	*signaticornis*
Synoschus	*nivalis*
Syntomus	*foveatus*
Syntomus	*obscuroguttatus*
Trechoblemus	*micros*
Trechus	*quadristriatus*
Zabrus	*tenebrioides*

Tableau 5. Liste des groupes taxonomiques de Gastéropodes terrestres, échantillonnés pour la base de référence dans la zone-atelier « Armorique » et séquencés pour les fragments LCO/HCO et MAV des gènes COI et 16S.

Famille	Genre	Espèce
Agriolimacidae	*Deroceras*	*spp*
Arionidae	*Arion*	*rufus*
Discidae	*Discus*	*spp*
Helicidae	*Cornu*	*aspersum*
Helicidae	*Cepaea*	*nemoralis*

Figure 1. Arbre de Maximum de Vraisemblance avec le gène COI pour 69 taxa, amplifiés par PCR *in silico* avec les amorces ZBJ-ArtF1c/ZBJ-ArtR2c (Zeale et al. 2011), 157pb. Le nombre entre parenthèses est le nombre de spécimens pour le groupe taxonomique en question (e.g. espèces différentes). Les valeurs de bootstrap sont indiquées devant chaque branche. La barre d'échelle représente le nombre moyen de substitutions par site (0.05).

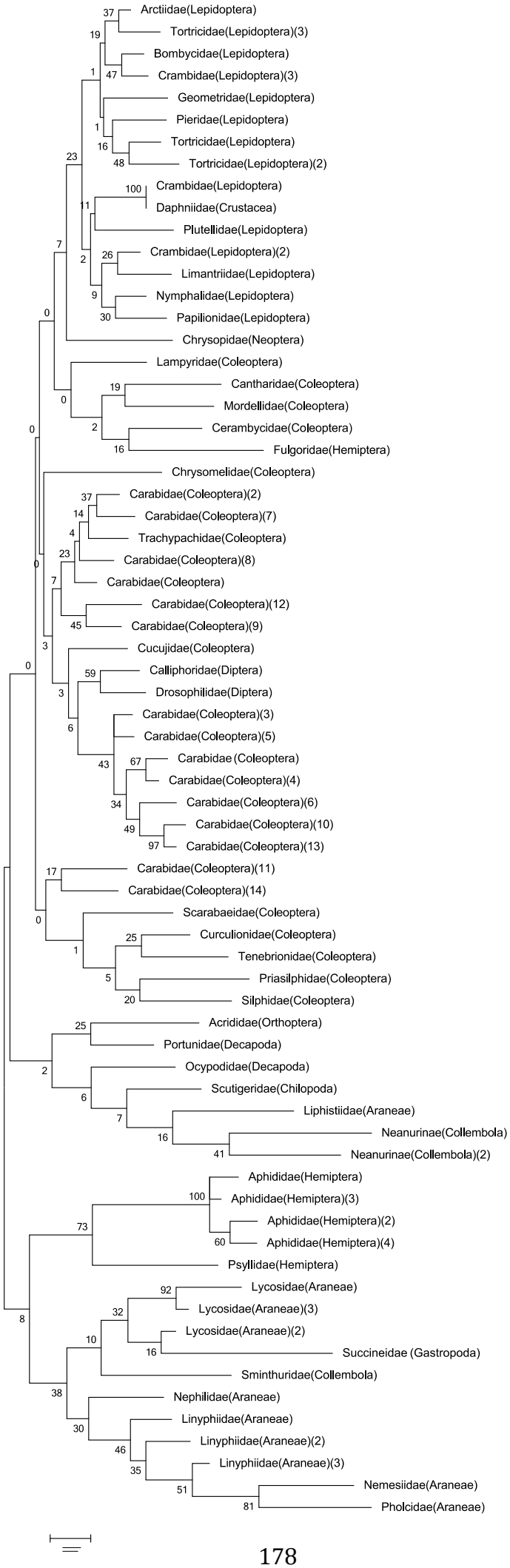
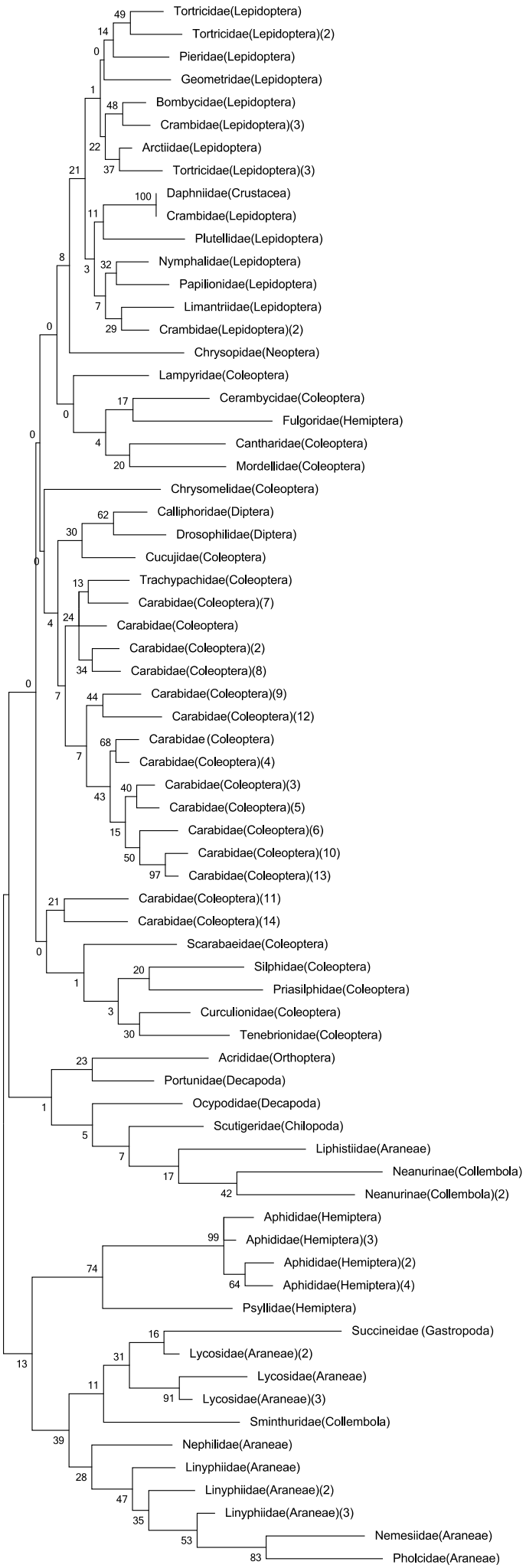

Arctiidae(Lepidoptera)
Tortricidae(Lepidoptera)(3)
Bombycidae(Lepidoptera)
Crambidae(Lepidoptera)(3)
Geometridae(Lepidoptera)
Pieridae(Lepidoptera)
Tortricidae(Lepidoptera)
Tortricidae(Lepidoptera)(2)
Crambidae(Lepidoptera)
Daphniidae(Crustacea)
Plutellidae(Lepidoptera)
Crambidae(Lepidoptera)(2)
Limantriidae(Lepidoptera)
Nymphalidae(Lepidoptera)
Papilionidae(Lepidoptera)
Chrysopidae(Neoptera)
Lampyridae(Coleoptera)
Cantharidae(Coleoptera)
Mordellidae(Coleoptera)
Cerambycidae(Coleoptera)
Fulgoridae(Hemiptera)
Chrysomelidae(Coleoptera)
Carabidae(Coleoptera)(2)
Carabidae(Coleoptera)(7)
Trachypachidae(Coleoptera)
Carabidae(Coleoptera)(8)
Carabidae(Coleoptera)
Carabidae(Coleoptera)(12)
Carabidae(Coleoptera)(9)
Cucujidae(Coleoptera)
Calliphoridae(Diptera)
Drosophilidae(Diptera)
Carabidae(Coleoptera)(3)
Carabidae(Coleoptera)(5)
Carabidae (Coleoptera)
Carabidae(Coleoptera)(4)
Carabidae(Coleoptera)(6)
Carabidae(Coleoptera)(10)
Carabidae(Coleoptera)(13)
Carabidae(Coleoptera)(11)
Carabidae(Coleoptera)(14)
Scarabaeidae(Coleoptera)
Curculionidae(Coleoptera)
Tenebrionidae(Coleoptera)
Priasilphidae(Coleoptera)
Silphidae(Coleoptera)
Acrididae(Orthoptera)
Portunidae(Decapoda)
Ocypodidae(Decapoda)
Scutigeridae(Chilopoda)
Liphistiidae(Araneae)
Neanurinae(Collembola)
Neanurinae(Collembola)(2)
Aphididae(Hemiptera)
Aphididae(Hemiptera)(3)
Aphididae(Hemiptera)(2)
Aphididae(Hemiptera)(4)
Psyllidae(Hemiptera)
Lycosidae(Araneae)
Lycosidae(Araneae)(3)
Lycosidae(Araneae)(2)
Succineidae (Gastropoda)
Sminthuridae(Collembola)
Nephilidae(Araneae)
Linyphiidae(Araneae)
Linyphiidae(Araneae)(2)
Linyphiidae(Araneae)(3)
Nemesiidae(Araneae)
Pholcidae(Araneae)

Figure 2. Arbre de Maximum de Vraisemblance avec le gène 16S pour 75 taxa, amplifiés par PCR *in silico* avec les amorces MAV (37pb). Le nombre entre parenthèses est le nombre de spécimens pour le groupe taxonomique en question (e.g. espèces différentes). Les valeurs de bootstrap sont indiquées devant chaque branche. La barre d'échelle représente le nombre moyen de substitutions par site (0.05).


Tortricidae(Lepidoptera)
Tortricidae(Lepidoptera)(2)
Pieridae(Lepidoptera)
Geometridae(Lepidoptera)
Bombycidae(Lepidoptera)
Crambidae(Lepidoptera)(3)
Arctiidae(Lepidoptera)
Tortricidae(Lepidoptera)(3)
Daphniidae(Crustacea)
Crambidae(Lepidoptera)
Plutellidae(Lepidoptera)
Nymphalidae(Lepidoptera)
Papilionidae(Lepidoptera)
Limantriidae(Lepidoptera)
Crambidae(Lepidoptera)(2)
Chrysopidae(Neoptera)
Lampyridae(Coleoptera)
Cerambycidae(Coleoptera)
Fulgoridae(Hemiptera)
Cantharidae(Coleoptera)
Mordellidae(Coleoptera)
Chrysomelidae(Coleoptera)
Calliphoridae(Diptera)
Drosophilidae(Diptera)
Cucujidae(Coleoptera)
Trachypachidae(Coleoptera)
Carabidae(Coleoptera)(7)
Carabidae(Coleoptera)
Carabidae(Coleoptera)(2)
Carabidae(Coleoptera)(8)
Carabidae(Coleoptera)(9)
Carabidae(Coleoptera)(12)
Carabidae (Coleoptera)
Carabidae(Coleoptera)(4)
Carabidae(Coleoptera)(3)
Carabidae(Coleoptera)(5)
Carabidae(Coleoptera)(6)
Carabidae(Coleoptera)(10)
Carabidae(Coleoptera)(13)
Carabidae(Coleoptera)(11)
Carabidae(Coleoptera)(14)
Scarabaeidae(Coleoptera)
Silphidae(Coleoptera)
Priasilphidae(Coleoptera)
Curculionidae(Coleoptera)
Tenebrionidae(Coleoptera)
Acrididae(Orthoptera)
Portunidae(Decapoda)
Ocypodidae(Decapoda)
Scutigeridae(Chilopoda)
Liphistiidae(Araneae)
Neanurinae(Collembola)
Neanurinae(Collembola)(2)
Aphididae(Hemiptera)
Aphididae(Hemiptera)(3)
Aphididae(Hemiptera)(2)
Aphididae(Hemiptera)(4)
Psyllidae(Hemiptera)
Succineidae (Gastropoda)
Lycosidae(Araneae)(2)
Lycosidae(Araneae)
Lycosidae(Araneae)(3)
Sminthuridae(Collembola)
Nephilidae(Araneae)
Linyphiidae(Araneae)
Linyphiidae(Araneae)(2)
Linyphiidae(Araneae)(3)
Nemesiidae(Araneae)
Pholcidae(Araneae)

1) Bilan des résultats produits dans le cadre de cette thèse

Dans ce travail de thèse, nous nous sommes intéressés à l'écologie trophique et au rôle de la ressource dans la structuration des communautés de coléoptères carabiques en milieu agricole. Nous avons posé l'hypothèse que les relations trophiques entre espèces sont déterminantes pour comprendre et prédire l'organisation des communautés d'auxiliaires et la qualité du service de régulation qu'elles fournissent. Une telle compréhension des processus généraux régissant les interactions entre espèces à l'échelle de la communauté devrait contribuer à plus long terme à une meilleure intégration de pratiques de gestion durables à la protection des cultures.

Pour étudier les relations trophiques entre espèces et leur rôle dans la structuration des communautés de carabes, nous avons combiné plusieurs approches. Dans un premier temps, nous nous sommes intéressés au régime alimentaire et aux relations trophiques chez plusieurs espèces de carabes simultanément. Dans un deuxième temps, et pour étudier le rôle de la ressource dans la structuration des communautés, nous nous sommes intéressés aux mécanismes de différentiation de niche pour expliquer les différences trophiques observées entre espèces.

Etant donné que la communauté de carabes en milieu agricole est composée d'un grand nombre d'espèces très généralistes dans leur comportement alimentaire et que les techniques moléculaires haut-débit n'ont jamais été encore utilisées pour l'étude du régime alimentaire chez les insectes, nous avons d'abord effectué un travail de synthèse pour définir le spectre alimentaire des carabes. Nous avons également effectué un travail de mise au point méthodologique pour adapter la méthode de métabarcoding au modèle carabe. La synthèse à partir de la littérature que nous avons réalisée a montré un large spectre de proies très diversifiées entrant potentiellement dans l'alimentation des espèces de carabes les plus communes en milieu agricole. Cette étape nous a permis d'avoir une vision très large de la diversité et de la plasticité des stratégies alimentaires chez les carabes. La mise au point méthodologique des outils moléculaires a permis de prendre du recul sur les biais et les contraintes que ces techniques pouvaient générer. Elle nous a permis également d'acquérir une expertise pour cette technologie sur un modèle d'étude (prédateurs généralistes) et un domaine d'application (écologie des communautés) relativement

peu exploités à l'heure actuelle. Nous avons montré les avantages de l'approche moléculaire haut-débit sans *a priori* pour l'étude du régime alimentaire chez les carabes car nous avons mis en évidence l'importance probable des ressources végétales, et plus notamment des plantes cultivées comme le colza dans l'alimentation de ces insectes, un aspect de leur écologie alimentaire complètement négligé dans la littérature. Nous avons également montré le potentiel des outils moléculaires pour « pister » de façon indirecte le déplacement chez des organismes comme les carabes au sein des paysages agricoles. Ces résultats apportent des éléments intéressants à prendre en considération dans l'évaluation du potentiel régulateur de ce groupe d'auxiliaires.

Nous avons étudié ensuite les relations trophiques entre carabes à l'échelle de la communauté et les facteurs déterminant leur variation. Pour cela nous avons utilisé la méthode des isotopes stables en analysant les ratios isotopiques du carbone et de l'azote et nous avons comparé les communautés dans deux cultures, le blé et le colza. Nos résultats ont mis en évidence que malgré un chevauchement des niches isotopiques, un partitionnement de la ressource à l'échelle de la communauté était probable, et cela pour les deux types de cultures. En effet, nous avons observé selon le degré d'enrichissement en azote lourd par rapport à la ressource basale une séparation entre les phytophages et les spécialistes des Collemboles et les carnivores stricts avec un groupe intermédiaire d'omnivores ou de carnivores de petite taille consommant vraisemblablement des proies herbivores. Ce patron était particulièrement marqué dans la culture de colza à cause de la présence d'une communauté plus diversifiée et abondante de carabes phytophages du genre *Amara*. Nos résultats suggèrent aussi que deux stratégies alimentaires peuvent être observées chez les carabes, selon la relation entre les signatures isotopiques du carbone des carabes et de la ressource basale. Nous avons observé des espèces dont la signature en carbone était déterminée par la signature de la ressource locale et des espèces pour lesquelles, la signature en carbone était indépendante de la ressource locale. Nous avons interprété ces résultats en termes de différences dans les stratégies alimentaires entre espèces, avec des espèces mobiles, recherchant activement leurs proies (le cas du top prédateur *Pterostichus melanarius*) et avec des espèces soit peu mobiles soit dépendantes d'une ressource particulière, présente à des endroits particuliers (le cas des espèces du genre *Amara*). Nous avons émis l'hypothèse qu'en ce qui concerne ces dernières espèces, le colza en tant que ressource alimentaire semblait jouer un rôle primordial dans leurs cycles de vie. Cette culture apparaît donc comme un facteur important, structurant leurs populations à l'échelle du paysage. Ces résultats ont été confirmés par les analyses spatiales que

nous avons réalisées et dont les résultats sont présentés en annexe de la thèse. La cartographie de l'abondance des espèces du genre *Amara* dans quatre parcelles de blé et deux parcelles de colza montre des abondances élevées des *Amara* dans les parcelles de colza et leur quasi-absence des parcelles de blé. Par la présente étude, nous avons aussi montré que la structuration des populations d'*Amara* entraîne la structuration de tout un cortège d'espèces associées comme des prédateurs ou encore des ectoparasitoïdes spécialistes des pupes d'*Amara*.

Nos résultats ont donc permis de démontrer qu'il y avait un partitionnement trophique et spatial de l'utilisation de la ressource entre espèces de carabes à l'échelle de la communauté mais que les stratégies alimentaires d'espèces particulières entraînaient des différences locales dans la structure et le fonctionnement des réseaux d'interactions. Nous avons aussi montré que le régime alimentaire influence considérablement les interactions entre espèces et que seule une prise en compte des relations trophiques à l'échelle de la communauté peut nous renseigner sur la complexité des synergies et des antagonismes entre espèces.

Notre deuxième objectif était d'étudier les mécanismes à l'origine des différences trophiques entre espèces. Pour cela, nous avons combiné des approches expérimentales à l'échelle de l'individu avec des analyses des dynamiques spatio-temporelles des communautés de carabes à plus large échelle. D'une part, nous avons étudié les aspects comportementaux de la différentiation niche spatio-temporelle et trophique entre deux espèces écologiquement équivalentes, d'autre part nous avons étudié la différentiation des communautés de carabes à l'échelle du paysage en comparant le degré de différentiation observé au degré de différentiation obtenu pour des communautés générées aléatoirement. Nos résultats ont démontré une forte différentiation spatio-temporelle et trophique entre carabes à la fois à l'échelle de la parcelle et de la date d'échantillonnage et à l'échelle de l'activité nycthémérale et de l'exploitation de la strate de la végétation. Ainsi, les communautés de carabes ne sont pas des collections d'espèces associées au hasard mais des assemblages fortement structurés par les interactions entre espèces notamment trophiques et par le mécanisme de partage de niche. L'apparente plasticité comportementale et le partitionnement de niche semblent être deux éléments-clés expliquant les niveaux élevés de diversité spécifique et fonctionnelle observés chez les carabes en milieu agricole. Ces phénomènes semblent expliquer aussi le manque de consensus général dans la littérature et les difficultés d'évaluer la contribution réelle des carabes en tant qu'auxiliaires des cultures.

L'ensemble des résultats et des méthodes, exposés dans ce travail de thèse apporte des connaissances précieuses pour comprendre la diversité et les patrons

d'organisation des communautés de carabes. A terme ces connaissances peuvent contribuer activement à l'élaboration des hypothèses prédictives quant à l'aménagement des paysages agricoles et à la gestion des populations d'auxiliaires en vue d'optimiser l'approvisionnement en services éco-systémiques comme le contrôle biologique.

2) Discussion: données de la littérature et perspectives

2.1) Questions de recherche

Ecologie alimentaire, déterminismes de partitionnement de niche et implications pour le contrôle des ravageurs

Les coléoptères carabiques fascinent les scientifiques depuis plus d'un siècle déjà (Forbes1883). La diversité de leurs traits d'histoire de vie et leur potentiel régulateur ont alimenté les recherches sur leur écologie. Particulièrement ces dernières années, avec la prise de conscience de l'importance des services éco-systémiques comme le contrôle biologique et avec l'avènement des techniques moléculaires pour l'étude de la biodiversité, les carabes sont devenus un modèle de prédilection, particulièrement en écologie trophique. Néanmoins, et malgré la quantité de connaissances accumulées, la conclusion d'une synthèse de 40 ans de travaux sur le régime alimentaire des carabes est « qu'il paraît surprenant de constater combien de questions fondamentales en écologie trophique des carabes restent sans réponse » (Kotze et al. 2011). La raison principale semble être l'absence d'approche systémique en écologie trophique des carabes, intégrant les informations trophiques à plusieurs échelles et pour plusieurs espèces à la fois. Peu d'intérêt a été porté aussi dans la littérature sur les relations trophiques entre espèces de carabes au sein de la communauté. Ici, nous avons montré qu'en combinant plusieurs approches, à plusieurs échelles spatio-temporelles, nous observons une ségrégation significative des niches trophiques entre espèces de carabes. La seule étude équivalente cherchant à identifier des patrons généraux de spécialisation alimentaire, est celle menée par Hengeveld (1980) qui a étudié le régime alimentaire de 24 espèces de carabes. Le seul partitionnement qu'il a observé distinguait cinq espèces spécialistes des Collemboles (deux espèces du genre *Notiophilus*, deux espèces du genre *Leistus*

et *Loricera pilicornis*) et le reste de la communauté. L'auteur conclut qu'il n'y a pas de divergence de niche au sein de la communauté et que la spécialisation alimentaire observée chez ces cinq espèces est due à une contrainte phylogénétique plutôt qu'environnementale ou à la compétition entre espèces. Toutefois, il est important de noter que le régime alimentaire des 24 espèces dans cette étude a été inféré à partir de l'ensemble des individus capturés sur une période allant de 1 à 5 années selon les espèces et que par un jeu du hasard, trois des cinq carabes spécialistes ont été collectées la même année. Or, nous avons montré dans cette thèse que des observations conduites à des échelles inappropriées pouvaient être trompeuses. Il serait intéressant de ré-analyser le jeu de données obtenu par Hengeveld pour estimer la part de variabilité expliquée par l'année par rapport à celle expliquée par l'espèce et ainsi évaluer le degré de généralisme alimentaire chez ces espèces de carabes. Il a déjà été montré que les préférences alimentaires de certains carabes étaient surtout liées à la disponibilité des proies les plus abondantes (King et al. 2010; Davey et al. 2011). Les expériences de choix trophiques en laboratoire montrent aussi la capacité des carabes à consommer un très large spectre de proies (Sunderland 2002). Toutes ces observations suggèrent un fort degré de généralisme alimentaire chez les carabes et dans ce contexte peu en accord avec la ségrégation trophique que nos résultats montrent au sein de la communauté. Cependant, d'autres études montrent aussi l'importance de certains types de proies pour l'accomplissement des cycles de vie chez les carabes et que les types de proies exigées (plantes *vs* proies animales) diffèrent chez des espèces phylogénétiquement très proches (deux espèces du genre *Amara*) (Sasakawa 2011). On pourrait donc envisager l'existence de contraintes particulières, extrinsèques, en termes d'alimentation chez les carabes. Nos résultats d'analyses isotopiques montrent que lorsque l'on contrôle la période et la localité d'échantillonnage, et malgré un chevauchement important des signatures isotopiques, on observe des différences trophiques significatives entre espèces. Cela suggère que toutes les espèces ne sont pas équivalentes dans leurs stratégies alimentaires et ces différences suffisent pour différencier les espèces en dépit du potentiel élevé d'opportunisme alimentaire chez les carabes. Cette différentiation trophique semble renforcée par la divergence spatio-temporelle qu'on observe d'après nos résultats. Ainsi, les communautés de carabes semblent composées à la fois d'espèces avec des régimes alimentaires très contrastés et d'espèces avec des régimes alimentaires très similaires mais qui ne co-occurrent que rarement. Ce mécanisme de divergence spatio-temporelle peut par ailleurs expliquer l'absence de spécialisation trophique chez un grand nombre d'espèces de carabes en milieu agricole. Pourtant, certains auteurs stipulent que de par leur comportement

alimentaire polyphage et la capacité d'ajuster leur équilibre nutritionnel (Mayntz et al. 2005), les carabes ne devront pas montrer de patrons d'exclusion spatiale (Bell et al. 2010). Cela s'expliquerait par le fait qu'ils sont capables d'exploiter facilement des ressources alternatives. On pourrait donc imaginer que les carabes ne sont pas limités par la ressource ni ne se retrouvent en compétition pour son exploitation malgré l'apparente homogénéité des espaces agricoles. Nos observations sur la plasticité comportementale des carabes renforcent ces constatations. Il est donc possible d'envisager des hypothèses alternatives expliquant les patrons de différentiation de niche observés. Il a été montré que les carabes peuvent exprimer des comportements d'évitement actif des congénères (Guy et al. 2008). Des observations que nous avons effectuées en laboratoire montrent aussi des comportements fréquents d'agressivité entre espèces de carabes en conditions expérimentales (données non publiées). On peut donc imaginer que la pression de divergence chez les carabes s'exerce par les interactions directes entre espèces plutôt que par la compétition pour l'exploitation d'une ressource commune. En effet, le comportement alimentaire opportuniste et souvent vorace chez les carabes conduit à des phénomènes fréquents de prédation intra-guilde (Symondson et al. 2002; Davey et al. 2012) ou même de cannibalisme au sein des assemblages de carabes. Ces phénomènes peuvent influencer les interactions entre espèces et par conséquent la structuration des communautés (Ohlberger et al. 2012). Par exemple, une étude expérimentale sur deux espèces de carabes du genre *Pterostichus* a montré que le cannibalisme et la prédation intra-guilde des stades larvaires et non la compétition, étaient les mécanismes expliquant la ségrégation de ces deux espèces (Currie et al. 1996). Des études plus récentes en milieu aquatique suggèrent que chez l'omble chevalier (*Salvelinus alpinus*) les individus pratiquant le cannibalisme sont plus efficaces que les prédateurs interspécifiques dans l'exploitation de la ressource (Byström et al. 2013). Le cannibalisme et la prédation intra-guilde peuvent donc constituer des stratégies alimentaires avantageuses chez les carabes mais on ne dispose pas d'éléments solides à l'heure actuelle pour juger de leur implication dans la structuration de leurs communautés en milieu agricole. Des études théoriques indiquent que les effets du cannibalisme ou de la prédation intra-guilde sur la coexistence des espèces et sur la dynamique de leurs interactions semblent complexes. Il serait intéressant de compléter les résultats obtenus par la modélisation par des approches expérimentales pour apporter plus de lumière notamment sur la dynamique entre sélection du comportement de cannibalisme et évolution des stratégies de son évitement. Malheureusement, évaluer l'incidence des événements de cannibalisme en conditions naturelles reste un défi méthodologique en écologie

trophique. Néanmoins, compte tenu de l'importance potentielle de ce phénomène, il peut être stratégique d'investir du temps et des efforts pour y apporter des solutions.

A la lumière de ces réflexions, il est possible d'interpréter nos résultats des analyses spatio-temporelles de communautés de carabes qui montrent une forte divergence entre espèces carnivores en particulier, comme une conséquence non de la compétition pour des proies communes mais comme une stratégie d'évitement mutuel pour réduire la prédation intra-guilde.

Enfin, il est possible d'envisager que les patrons de distribution des carabes ne correspondent pas ou peu aux interactions entre espèces adultes mais qu'ils reflètent surtout les mécanismes opérant au niveau des stades larvaires. Les larves des carabes possèdent des exigences écologiques plus strictes que les adultes et semblent plus spécialisées dans leurs préférences alimentaires (Lövei & Sunderland 1996). Par exemple, par une approche très originale de Machine Learning, Bohan et al. (2011) ont suggéré que les larves de carabes étaient potentiellement impliquées dans des d'interactions trophiques avec une large gamme d'invertébrés communs dans les champs agricoles.Des résultats qui restent à démontrer empiriquement chez les stades larvaires. Cepenedant, il est possible d'imaginer que la sélection qui s'exerce soit par les interactions entre larves (comme la compétition par exemple) soit par les conditions environnementales puisse déterminer la structure de la communauté de carabes observée. Par exemple, Giglio et al. (2011) ont démontré que les stades larvaires du très polyphage *Carabus lefebvrei* ne parvenaient à accomplir leur développementque si leur régime alimentaire était composé de mollusques. Cela implique qu'une très forte sélection doit s'exercer sur le comportement alimentaire des larves mais probablement aussi sur les stratégiesde dépôt des œufs et la répartition spatiale des adultes. C'est ce que semblent aussi indiquer nos résultats d'analyses isotopiquesconcernantles espèces du genre *Amara* par exemple dont la répartition et l'alimentation apparaissentfortement liées à la culture de colza mais qui ne semblent pas être des phytophages pour autant (sous l'hypothèse que les *Amara* consomment du colza bien sûr).

La prédation intra-guilde et implications pour le contrôle biologique

D'après nos résultats et d'après les données de la littérature les carabes semblent consommer les autres auxiliaires des cultures en proportions au moins équivalentes à celles des ravageurs (Larochelle 1990; Holland 2002). La consommation d'araignées épigées des familles des Lycosidae et Linyphiidae est particulièrement récurrente et il semble que le choix se fait selon la densité des espèces les plus abondantes (Davey et al. 2012). Cependant, une telle interaction entre guildes de prédateurs généralistes a souvent des conséquences négatives sur l'efficacité du contrôle biologique (van Baalen et al. 2001; Prasad & Snyder 2006). De nombreuses études, théoriques ou empiriques, se sont intéressées aux phénomènes de prédation intra-guilde pour éclarcir ses effets potentiels sur le contrôle des ravageurs (Polis & Holt 1992; Lang 2003; Finke & Denno 2005) mais prédire les synérgies et les antagonismes ainsi que leurs effets sur la régulation naturelle semble encore diffcile. Par exemple, une étude récente a démontré de façon assez inattendue que le fait d'améliorer le couvert végétal en plantant des adventices en culture de bananier, on pouvait améliorer substantiellement le contrôle des herbivores puisque leurs densités, favorisées par le couvert végétal, permettaient de détourner les auxiliaires de la prédation intra-guilde (Tixier et al. 2013). Ces résultats suggèrent l'importance d'avoir une approche systémique en milieu agricole pour être capable de prédire l'efficacité des services rendus. Il serait donc intéressant, après analyse complète de notre jeu de données de séquençage haut-débit, de croiser les informations de consommation de plantes par les diféfrentes espèces de carabes avec les informations de prédation de ravageurs et de la prédation intra-guilde pour mieux comprendre les mécanismes à l'origine du contrôle biologique. En perspective, il serait aussi important de prendre en compte la diversité et la distribution des araignées épigées qui forment aussi une communauté d'auxiliaires très riche et abondante en milieu agricole. Comprendre les patrons d'organisation des communautés d'araignées et comment les interactions avec les communautés de carabes les impactent pourrait apporter des informations précieuses sur le fonctionnement général des agro-écosystèmes.

En réalité, les stades larvaires chez les carabes présentent une véritable boite noire en ce qui concerne leur biologie ou écologie, et il est presque impossible de les identifier à l'espèce morphologiquement. Et même si les techniques moléculaires de barcoding peuvent facilement surmonter la difficulté de leur identification, les autres aspects de leurs traits de vie restent toujours difficilement accessibles. Les stades larvaires des carabes possèdent essentiellement un mode de vie sous-terrain rendant les échantillonnages ou les observations directes difficiles. Compte tenu de leurs exigences particulières en termes de conditions environnementales et de nutrition, leur élevage en conditions expérimentales semble aussi difficile. Il serait cependant indispensable, aussi bien de point de vue fondamental que de point de vue agronomique, d'éclairer plus à l'avenir cette partie cachée du cycle de vie des carabes.

Nous avons montré aussi que la plasticité comportementale pouvait être un autre facteur expliquant la différenciation de niche chez les carabes, à plus fine échelle. Une étude très intéressante sur la coexistence entre espèces au sein des assemblages de carabes dans une prairie aux USA, démontre que l'ajustement comportemental était le principal mécanisme modulant les interactions entre espèces (Baldridge & Moran 2001). En effet, les différentes espèces de carabes évitaient les interférences entre espèces de taille contrastée par des changements dans leurs pics d'activité nycthémérale, permettant ainsi le maintien d'une communauté diversifiée. Les patrons de différentiation dans les cycles journaliers que nous avons observés, présentés dans le chapitre 3, concordent parfaitement avec les observations de Baldridge & Moran. D'autres études antérieures ont pointé aussi le potentiel du comportement à moduler des changements dans l'exploitation de la ressource et par conséquent générer des cascades trophiques au sein des réseaux d'arthropodes en milieu agricole (Beckerman et al. 1997). Cependant, et malgré un relativement grand nombre d'études sur les ajustements comportementales entre espèces en sympatrie chez les insectes, les effets sur la coexistence entre espèces au sein de la communauté ont rarement été évalués (mais voir les travaux sur les parasitoïdes hyménoptères: Ndoutoume-Ndong et al. 2006; Bertossa et al. 2013). Il semble donc intéressant en perspective d'essayer de combler le vide dans la littérature en ce qui concerne le rôle du comportement et de la plasticité comportementale dans la structuration des communautés de carabes. Des observations par vidéo-caméra pour filmer la prédation des pucerons en conditions naturelles, que nous avons initiées, suggèrent qu'il y a très peu de variabilité dans le pic d'activité journalière chez l'espèce de carabe dominante au moment des observations, *Pterostichus melanarius*. Il serait intéressant de développer ce genre d'approches pour déterminer si cette

structuration de l'activité nycthémérale chez les carabes est reliée à la présence et aux interactions avec les autres espèces de la communauté.

Jusqu'à maintenant, nous avons discuté essentiellement du rôle des interactions entre espèces ou entre individus pour expliquer le degré (ou l'absence) de spécialisation alimentaire chez les carabes, et les effets potentiels sur l'organisation de leurs communautés. Cependant, d'autres mécanismes généraux, plus intrinsèques, peuvent déterminer la variabilité des niches trophiques chez les carabes. Il peut être intéressant d'évaluer par exemple le degré de conservation de niche chez les carabes pour éclaircir le rôle des contraintes phylogénétiques et évolutives dans le degré de spécialisation trophique (Losos 2008). En effet, les véritables spécialistes au sein des communautés de carabes des zones arables sont rares alors que des spécialisations alimentaires au sein de la famille des Carabidae ont déjà été démontrées (Bauer 1979, 1986; Nagel 1979). L'histoire phylogénétique des carabes n'a jamais été incorporée dans l'étude des traits liés à l'alimentation alors que des études suggèrent des fortes contraintes phylogénétiques en ce qui concerne la variabilité de la taille chez les carabes, par exemple (Ulrich 2007). La taille est souvent utilisée comme un proxy du régime alimentaire ou de la compétitivité (Brandl & Top 1985; Erikstad et al. 1989) chez les carabes. Il est donc possible d'envisager que la phylogénie soit un facteur déterminant le degré de spécialisation (ou de généralisme) alimentaire chez les carabes. Cela est déjà partiellement observé chez certaines espèces communes des paysages agricoles comme les spécialistes des Collemboles par exemple, même si le degré de spécialisation chez ces espèces n'est pas complètement déterminé. Une limite éventuelle à ce type d'approches peut être l'absence de phylogénie cohérente à l'échelle des communautés de carabes. Les Carabidae sont un groupe très étudié taxonomiquement mais il existe actuellement beaucoup d'incohérences sur le statut de certaines sous-familles, genres ou espèces, avec la majorité des espèces communes de nos paysages agricoles, possédant souvent plusieurs dizaines de synonymes avec des noms de genres différents (www.carabidae.org). Le développement rapide de techniques moléculaires peu onéreuses comme le RAD sequencing par exemple, ouvre des perspectives intéressantes pour l'inférence de phylogénies robustes à partir de génomes entiers (Puritz et al. 2012; Rubin et al. 2012). Dans ce contexte, intégrer l'approche phylogénétique pour étudier les traits de vie à l'échelle des communautés peut constituer une démarche prometteuse et les informations phylogénétiques peuvent fournir un outil intéressant pour inférer rapidement le potentiel régulateur d'une espèce ou d'une communauté.

Un autre facteur, lié à l'histoire évolutive des carabes et susceptible d'expliquer la variabilité dans leur régime alimentaire au sein des zones arables, c'est le paysage

agricole en lui-même. En effet, il est possible d'envisager que de par leur régime de perturbation, les systèmes agricoles de production intensive exercent de fortes pressions de sélection sur les organismes qui en sont inféodés. Il est possible d'envisager aussi que ces paysages sélectionnent essentiellement des espèces généralistes (plastiques) pour leurs traits de vie. Par exemple, il est frappant de constater à quel point la composition de la communauté de carabes semble similaire entre zones agricoles à travers l'Europe quand on compare les listes d'espèces à partir de la littérature. Pour vérifier cette hypothèse, il serait intéressant de tester si la plasticité des traits d'histoire de vie est une observation récurrente chez plusieurs organismes inféodés aux paysages agricoles ou entre des systèmes de production avec des régimes de perturbation contrastés (comme par exemple l'agriculture biologique *vs* l'agriculture conventionnelle). Dans le contexte de l'intensification écologique de l'agriculture, de plus en plus d'études s'intéressent aux effets des pratiques sur les assemblages d'auxiliaires (Purtauf et al. 2005; Clough et al. 2007). Plusieurs travaux ont déjà comparé la composition et l'abondance des communautés de carabes entre parcelles d'agriculture biologique et d'agriculture conventionnelle, et même si la richesse ou l'abondance globale semblent peu varier, la composition des communautés est diffèrente (Rusch et al. 2013; Schröter & Irmler 2013). Par exemple, dans l'étude Purtauf et al. (2005) les espèces de carabes les plus abondantes dans les parcelles biologiques étaient essentiellement des espèces avec des exigences alimentaires plus spécifiques comme les espèces de grande taille du genre *Carabus* (réputées heliciphages) ou des espèces phytophages du genre *Amara*. Tandis que dans les parcelles conventionnelles les espèces de carabes les plus abondantes étaient essentiellement des espèces de petite taille, réputées spécialistes des Collemboles (*Loricera pilicornis, Asaphidion flavipes, Notiophilus biguttatus*). Ces observations suggèrent qu'une sélection en relation avec le degré de généralisme trophique s'opère dans les paysages agricoles. Identifier avec précision les facteurs déterminant la spécialisation alimentaire chez les carabes peut constituer un levier d'action intéressant pour la manipulation de la composition des communautés afin d'optimiser la régulation de ravageurs-cibles. Cela amène à la conclusion qu'une approche plus fonctionnelle est nécessaire pour l'évaluation de la diversité et de sa contribution aux services éco-systémiques. En effet, le problème des unités cohérentes fonctionnellement et facilement manipulables par les gestionnaires en général se pose (Bengtsson 1998). Les traits liés à l'alimentation en particulier peuvent être très labiles et difficiles à mesurer. Et même s'il a été démontré que certains traits morphologiques comme la forme des mandibules étaient corrélés au type d'alimentation (Ingerson-Mahar 2002), il semble difficile de relier avec précision

ces traits morphologiques au régime alimentaire ou au degré de généralisme chez les carabes. Dans ce contexte, la méthode des isotopes stables présente un certain intérêt puisqu'elle peut fournir un outil rapidement appropriable qui permet de « classer » les espèces selon leur stratégie alimentaire.

Enfin, on pourrait émettre aussi l'hypothèse que les paysages agricoles ont déjà sélectionné les communautés de carabes les plus performantes et qu'il y a peu de chances que des espèces avec des traits de vie alternatifs améliorent substantiellement les services rendus. Cependant, il a été montré que le généralisme trophique chez les carabes peut conduire à une diminution de l'efficacité du contrôle biologique par le biais de mécanismes comme la prédation intra-guilde (Frank et al. 2010) ou la disponibilité de ressources alternatives (Madsen et al. 2004; Prasad & Snyder 2006). Cela suggère que même si les espèces les plus performantes dominent les paysages agricoles actuellement, il existe une marge substantielle pour optimiser l'efficacité du contrôle biologique. Il est possible d'imaginer qu'une communauté composée d'espèces fonctionnellement plus diversifiées et complémentaires de par leur spécialisation trophique, fournirait un service de régulation plus efficace. Malgré cela, l'efficacité du contrôle naturel en agriculture biologique reste un sujet controversé (Winqvist et al. 2011; Caballero-Lopez et al. 2012; Kremen & Miles 2012). Cela peut s'expliquer par le fait que la conversion en agriculture biologique est encore récente, et que les changements dans le régime de perturbation n'ont pas encore laissé le temps à la stabilisation des propriétés émergentes des communautés d'auxiliaires. Il serait intéressant de vérifier cette hypothèse en comparant l'étendue de phénomènes comme la prédation intra-guilde ou évaluer directement la prédation des ravageurs au sein des communautés de carabes entre des systèmes de production contrastés.

D'autres facteurs peuvent influencer la plasticité trophique chez carabes. Des études récentes ont démontré que les bactéries symbiotiques intestinales pouvaient jouer un rôle dans le spectre alimentaire chez les carabes (Lundgren & Lehman 2010). En effet, la présence de la bactérie *Enterococcus faecalis* chez le carabe nord-américain *Harpalus pensylvanicus*, a été reliée à sa capacité à consommer des graines. La granivorie, et la phytophagie en général est un phénomène assez intéressant dans la famille des Carabidae. Il a évolué indépendamment dans deux tribus de deux sous-familles de carabes inféodées aux espaces agricoles, la tribu des Zabrini (sous-famille Pterostichinae) et la tribu des Harpalini (sous-famille Harpalinae) (Kotze et al. 2011). Et même si les relations phylogénétiques entre ces deux tribus ne sont pas complètement élucidées (Tree of life web project, www.tolweb.org), on observe une forte convergence de la morphologie générale entre les espèces des deux tribus. Le

complexe des Harpalinae (qui pourrait inclure les Pterostichinae mais les données diffèrent selon les sources, voir www.carabidae.org et www.tolweb.org) est parmi les plus diversifiés des Carabidae, il est possible d'envisager que la phytophagie est apparue comme une stratégie évolutive avantageuse en lien avec une radiation adaptative qui semble s'être mise en place dans ce groupe. Ce qui est intéressant c'est que de nombreuses espèces de carabes même en dehors de ces deux groupes sont capables de consommer de plantes, tandis que les membres des tribus Zabrini et Harpalini semblent dépendre des plantes pour achever leur cycle de développement mais peuvent consommer des proies animales et le régime mixte améliore considérablement leur fitness (Hůrka & Jarošík 2003). Cela suggère que la phytophagie ne semble pas complètement déterminée par la phylogénie des espèces. Il a été souvent spéculé dans la littérature que les carabes pouvaient contribuer de façon significative au contrôle des plantes adventices dans les champs agricoles (Tooley & Brust 2002; Bohan et al. 2011). Nous avons démontré que certaines espèces de carabes sont aussi susceptibles de consommer des plantes cultivées, particulièrement le colza. Cependant, la phytophagie et les facteurs qui déterminent le régime phytophage/granivore chez les carabes ont rarement été investigués. Quelques études en laboratoire montrent que pour des espèces phytophages, le choix alimentaire peut dépendre de l'affiliation taxonomique du carabe ou de la plante (Honek et al. 2007) mais il n'est pas très clair s'il s'agit de contraintes morphologiques (taille des mandibules par exemple) ou de la capacité de choisir des graines avec des qualités nutritives particulières. Il semble que le choix des graines consommées chez les carabes phytophages ne se fait pas au hasard (Honek et al. 2007, 2011; Brooks et al. 2012) mais il paraît difficile d'en inférer les mécanismes généraux.

Les carabes et le colza

Les quelques études qui se sont intéressées à la relation entre la culture de colza et les coléoptères carabiques ont surtout investigué le potentiel régulateur de ces derniers sur des nuisibles comme le méligèthe du colza (*Meligethes aeneus*) ou le charançon de la tige du colza (*Ceutorhynchus napi*). Cependant, il s'agit essentiellement d'approches corrélatives et il n'y a jamais eu une évaluation directe de la consommation de ces ravageurs par les carabes en conditions naturelles (Büchi 2002; Zaller et al. 2009). De plus, des éstimations en laboratoire de la consommation des oeufs du ravageur *Psylliodes chrysocephala* (L.) (Coleoptera: Chrysomelidae) indiquent que seulement une des espèces (*Trechus quadristriatus*) parmi les carabes positivement corrélés avec les abondances de ce ravageur, était capable d'en consommer les œufs (Warner et al. 2000). Cela suggère que la relation entre co-occurrence spatiale et régime alimentaire chez les carabes n'est pas simple et qu'un couplage de plusieurs approches est nécessaire pour vérifier ce que les carabes consomment vériatblement dans les parcelles de colza. Les difficultés de démontrer un véritable contrôle des ravageurs du colza par les carabes laissent ainsi des doutes sur les facteurs détérminant leurs fortes abondances dans cette culture. Cela suggère aussi l'importance de connaître avec précision les liens trophiques au sein des communautés d'auxiliaires et de ce point de vue, l'importance grandissante des techniques moléculaires car l'identification de la matière végétale digérée par les méthodes classiques est quasi-impossible. D'un point de vue appliqué, évaluer le degré de consommation du colza par les carabes ainsi que l'impact réel que cela peut avoir sur les rendements ou sur le potentiel régulateur des carabes se dessine comme une problématique très stratégique.

Le rôle des communautés de bactéries intestinales facultatives peut être un mécanisme qui expliquerait assez bien la variabilité et la plasticité du comportement phytophage parmi les carabes. L'implication des micro-organismes symbiotiques dans la nutrition (Douglas 1998; Nikoh et al. 2011) ou l'exploitation des plantes comme ressource principale (Akman Gündüz & Douglas 2009; Anand et al. 2010) est déjà bien décrite chez de nombreux groupes d'arthropodes mais très peu dans le cas des carabes. Pourtant cela semble un domaine de recherche très prometteur et de plus en plus de découvertes nous dévoilent le rôle insoupçonné des communautés bactériennes symbiotiques dans l'écologie et l'évolution des insectes (Feldhaar 2011; Engel & Moran 2013). Il serait donc intéressant d'explorer la relation entre la niche

trophique des carabes et la présence ou la composition de communautés bactériennes particulières. D'un point de vue appliqué, si on est capable d'utiliser les bactéries pour prédire le régime alimentaire ou le degré de spécialisation trophique chez des espèces de carabes, on pourrait manipuler leurs communautés dans le but d'améliorer la régulation des plantes adventices. En effet, une détection simple par la méthode de PCR diagnostique de la présence (PCR positive) ou de l'absence (PCR négative) d'une bactérie-sentinelle, peut être une démarche rapide et accessible pour détecter la présence d'espèces d'intérêt agronomique. Ensuite, et si la relation entre présence de bactérie et régime alimentaire se relève aussi directe et robuste, il pourrait être possible de manipuler les communautés d'auxiliaires par l'inoculation volontaire avec des bactéries permettant la consommation et la digestion de graines d'adventices. Des stratégies similaires ont été déjà utilisées avec succès chez les abeilles domestiques pour améliorer leur résistance aux pathogènes (Crotty et al. 2013).

Au-delà des aspects appliqués, l'étude des communautés symbiotiques peut éclairer substantiellement certains aspects de l'évolution des espèces ou de l'organisation de leurs communautés. Par exemple, l'on sait déjà que les microorganismes peuvent moduler la communication et le choix de partenaire sexuel chez *Drosophila melanogaster* conduisant à la divergence entre lignées et à terme, à la spéciation (Sharon et al. 2010) tandis que d'autres études démontrent l'importance des communautés de micro-organismes en tant que médiateurs des interactions entre espèces avec un impact sur la composition ou les propriétés de la communauté (Ferrari & Vavre 2011; Frago et al. 2012).

Explorer ces questions offre ainsi des perspectives intéressantes et scientifiquement novatrices pour l'étude des communautés d'auxiliaires et des services qu'elles fournissent en milieu agricole. De plus, grâce aux progrès rapides des méthodes moléculaires, on peut combiner les approches développées en métagénomique fonctionnelle pour aller au-delà de la simple description de la diversité bactérienne. Ces approches permettent maintenant d'explorer les fonctions bactériennes par le séquençage simultané des produits d'expression de plusieurs gènes. L'analyse de ces profils d'expression permet d'évaluer et même de quantifier, en temps réel, la contribution de chaque symbiote au métabolisme de l'individu (Liu et al. 2012; Yelton et al. 2013).

En conclusion, les déterminismes du partitionnement trophique, temporel et spatial de niche, que nous observons entre les carabes dans nos paysages agricoles semblent complexes. Cette complexité ouvre de nombreux défis de recherche mais également des perspectives excitantes pour les années à venir.

Scavenging

Le phénomène de saprophagie facultative (scavenging) est une stratégie alimentaire omniprésente et phylogénétiquement répandue dans le monde animal (Wilson & Wolkovich 2011). Cela s'explique par le fait que ce comportement alimentaire permet d'accèder à une ressource de bonne qualité sans dépenser de l'énergie pour la chasser ou tuer. Malgré cela, le phénomène de scavenging est sous-estimé par 16 fois dans la littérature en écologie trophique (Wilson & Wolkovich 2011). Cela s'explique par les difficultés considérables des méthodes classiques à distinguer entre la consommation de proies vivantes et de proies mortes (Foltan et al. 2005; Juen & Traugott 2005).

Le saprophagie facultative semble un phénomène répandu aussi chez les carabes (Foltan et al. 2005; von Berg et al. 2012) et il est donc possible d'envisager que le comportement de scavenging contribue significativement au régime généraliste de ce groupe. En contrepartie, il n'est pas très clair à l'heure actuelle dans quelle proportion le scavenging intervient dans les interactions entre espèces de carabes et dans quelle mesure il impacte l'organisation de leurs communautés.

Une étude récente offre des perspectives intéressantes: Wilson et al. (2010) ont démontré qu'il était possible de distinguer par les variations du pH du muscle thoracique chez les insectes, si l'individu était mort naturellement (âge ou maladie) ou s'il était mort suite à une prédation qui crée un état de stress physiologique dans les tissus, détectable via le pH. Il semble difficile de prédire si cette méthode est applicable aux proies digérées dans les contenus stomacaux des carabes mais au vu des applications potentielles, elle mériterait d'y consacrer de l'attention.

2.2) Méthodologie

Dans cette thèse, nous avons utilisé une palette d'outils très complémentaires mais qui séparément peuvent présenter certains biais. De par les nombreuses mises au point que nous avons développées dans le cadre de cette thèse, les biais et les conséquences qu'elles impliquent pour l'interprétation des résultats ont été déjà discutés en détail au sein des chapitres. Toutefois, nous allons synthétiser ici quelques points essentiels.

2.2.1) Analyse des isotopes stables

La méthode des isotopes stables offre une vision intégrative de l'écologie trophique d'un organisme et présente un outil rapide et facilement appropriable pour étudier les relations trophiques en conditions naturelles avec un minimum de perturbation du système d'étude. Cependant, il semble que chez les carabes et même chez les insectes en général, de par leur métabolisme particulier, l'on ne dispose pas de véritable tissu "archive" intégrant l'histoire trophique de l'individu à plus long terme. Des insectes aussi mobiles et voraces que les carabes possèdent un taux de métabolisme très élevé qui doit entraîner un renouvèlement rapide de leurs tissus. Par exemple, des études au laboratoire sur la dynamique d'enrichissement en azote lourd chez deux espèces de carabes de taille moyenne, *Pterostichus oblongopunctatus* et *Platynus assimilis*, montrent que lorsqu'ils étaient nourris avec une proie enrichie de 6.4 ‰ par rapport à leur signature isotopique en azote, ils étaient capables d'atteindre et dépasser le niveau d'enrichissement de la proie en seulement dix jours, et cela dans les deux types de tissus testés (muscle et gonades) (Makarov et al. données non publiées). Des résultats similaires ont été obtenus pour les signatures isotopiques du carbone chez deux espèces de coccinelles, *Harmonia axyridis* et *Coccinella septempunctata,* nourries avec deux sources de carbone, carbone en C3 ou carbone en C4 (Gratton & Forbes 2006), suggérant qu'il s'agit d'un phénomène assez général.
Compte tenu du degré important de généralisme chez les carabes et comme il semble qu'ils consomment essentiellement les proies selon leur abondance, cela peut créer des difficultés pour inférer les niveaux trophiques des espèces. Pour cela, il serait plus prudent d'interpréter les informations isotopiques surtout en termes de différences trophiques, relatives entre espèces.
Un deuxième point important concernant les isotopes pouvant conduire à des mésinterprétations des données, concerne l'effet du jeûne. On sait maintenant que lorsqu'un organisme subit un stress nutritionnel soit par l'appauvrissement en éléments essentiels dans le régime alimentaire soit par un jeûne prolongé, un enrichissement de sa signature en azote est observé (Voigt & Matt 2004; Saggers & Goggin 2007). L'une des explications le plus souvent avancées est que ces organismes recyclent l'azote à partir de la catalyse de leurs propres tissus. Il est probable que dans les champs agricoles, souvent appauvris en proies disponibles, les carabes subissent souvent un régime sous-optimal, avec les petites espèces plus enclines à l'enrichissement en azote compte tenu du turn-over métabolique plus élevé chez les organismes de petite taille. Ainsi, les différences de niveau trophique

observées entre espèces peuvent être interprétées comme des différences de régime alimentaire sans que cela soit véritablement le cas.
Pour pallier à ces difficultés, il est nécessaire de disposer d'échantillons de taille adéquate et c'est vraisemblablement le point le plus critiquable dans notre travail. En effet, pour la majorité des espèces nous n'avons analysé que deux individus par espèce et par type de culture. Avec deux individus il semble difficile d'intégrer les variations dues à la fois à la biologie des espèces et aux erreurs de mesures des signatures isotopiques. Cependant, le nombre d'individus analysés dans notre cas était un compromis entre la date et le nombre d'espèces à analyser. Notre objectif était surtout de comparer les positions trophiques de l'ensemble de la communauté au même moment. Or, la forme de distribution des coléoptères carabiques est telle que les abondances de la majorité des espèces sont très faibles, il paraît donc difficile de collecter plus d'individus à la même date. Il serait intéressant dans ce cas d'optimiser les captures dans plusieurs parcelles à la fois, pour avoir une vision plus générale des positions trophiques entre espèces de carabes au sein de la communauté.

2.2.2) Métabarcoding et séquençage haut-débit

Nous avons beaucoup parlé dans cette thèse des avantages et des difficultés liés aux méthodes de métabarcoding. Ici, nous allons résumer les deux aspects qui posent le plus de difficultés actuellement, et qui freinent encore la généralisation des méthodes moléculaires haut-débit: les amorces universelles et les bases de références.

1) Les amorces universelles

D'après nos résultats et d'après la littérature sur le sujet en général, la conclusion est que le principe d'universalité semble difficilement applicable en pratique. D'une part, il n'existe pas d'outils appropriés à la portée de tout le monde, pour la manipulation d'un très grand nombre de séquences simultanément à la recherche de régions conservées (mais voir Riaz et al. 2011). D'autre part, la sous-représentation ou l'absence de séquences de référence dans les bases publiques, pour certains groupes taxinomiques nous empêche de les prendre en considération dans le design des amorces. De plus, parfois même de faibles discordances de l'ordre de 2 ou 3 nucléotides entre amorces et séquence-cible, suffisent pour diminuer l'efficacité d'amplification de certains taxa et biaiser leur représentativité dans l'échantillon. La

réflexion et la conception d'amorces universelles efficaces constituent actuellement le plus grand défi dans le cadre du barcoding environnemental. Diverses propositions ont émergé dans la littérature comme par exemple la hiérarchisation de plusieurs paires d'amorces groupes-spécifiques plus ou moins universelles (Deagle et al. 2009) ou encore le multiplexage de plusieurs paires d'amorces spécifiques (Wallinger et al. 2012). Cette dernière possibilité nécessite toutefois une longue mise au point pour ajuster les conditions PCR de toutes les paires pour éviter aussi un biais dans leur efficacité.

L'ADN environnemental peut être aussi très dégradé, il est donc recommandé de viser de fragments de petite taille puisqu'il existe une corrélation négative entre le temps post-digestion, la détectabilité de l'ADN et la longueur des fragments d'ADN détectables (Greenstone et al. *in press*). Néanmoins, plus la longueur de la séquence visée est réduite, moins la résolution dans l'identification des différents groupes taxonomiques est bonne à cause d'une baisse du polymorphisme nucléotidique interspécifique. Avec un taux moyen de substitution de 2% par nucléotide et par million d'années dans le génome mitochondrial (Brown et al. 1979), on obtient une différence de 12 nucléotides par million d'années pour une séquence de 600pb, et seulement 2 nucléotides pour une séquence de 100pb. Cibler des fragments d'aussi petite taille en barcoding peut considérablement limiter le polymorphisme entre espèces et ainsi notre capacité à acquérir des données précises en termes de biodiversité. Lorsque l'on applique les technologies NGS pour décrire la biodiversité d'un écosystème (Yoccoz et al. 2012) ou reconstituer la paléo-diversité à partir de l'ADN fossile, la taille des fragments d'ADN ciblés est effectivement la première contrainte car dans ces types d'échantillons l'ADN est sous forme de traces et souvent fortement dégradé par les effets des UV et de l'humidité (Willerslev et al. 2004). Cependant, dans le contexte de l'écologie trophique, cette contrainte semble moindre car dans les contenus stomacaux (ou dans des fèces fraîchement collectés) la seule source de dégradation pour l'ADN, sont les enzymes digestives. Ainsi, non seulement l'ADN est beaucoup moins dégradé comparé à l'ADN du sol ou fossile mais il est aussi plus concentré. Des études ont démontré par exemple que l'on pouvait détecter avec un succès de 50% environ, des fragments de plus de 800pb dans le contenu stomacal du carabe *Poecilus cupreus* (Zaidi et al. 1999). En conclusion, il est envisageable de considérer que la taille des barcodes utilisés pour étudier le régime alimentaire par séquençage haut-débit puisse facilement dépasser la taille des fragments que l'on utilise actuellement y compris dans le cadre de cette thèse, sans biaiser les résultats. D'après la littérature, la taille moyenne des fragments ciblés par PCR diagnostique est de 250pb.

Une perspective encourageante qui se dessine à ce sujet, est le développement de technologies de séquençage qui n'exigent plus l'amplification préalable de l'ADN (voir la nouvelle technologie PacBio RS II SMRT développée par la compagnie Pacific Biosciences, http://www.pacificbiosciences.com/). Dans ce contexte, il semble stratégique et pertinent de s'orienter vers l'appropriation rapide de ces nouveaux outils plutôt que de consacrer du temps et de l'énergie au développement d'amorces PCR.

2) Les bases de référence

Comme mentionné précédemment, l'approche métabarcoding nécessite une base de séquences de référence correspondant à des spécimens identifiés au niveau spécifique par des spécialistes (Taberlet et al. 2012c). Cependant, la construction d'une telle base de référence avec la fiabilité requise est souvent hors la portée de la plupart des écologistes. Nous en sommes l'exemple typique puisque dans le cadre de cette thèse seulement 30% des spécimens d'invertébrés séquencés pour la base de référence locale ont pu être identifiés à l'espèce. Non seulement l'identification taxonomique peut être laborieuse mais pour certains groupes d'organismes nous ne disposons pas de taxonomistes du tout. Malgré cela, la production de séquences de référence et l'enrichissement des bases publiques reste incontournable à l'heure actuelle. Il est donc impératif de trouver des solutions efficaces et applicables à large échelle pour la description taxonomique de la biodiversité. Dans ce contexte, il est intéressant de mentionner que des botanistes de la Smithsonian Institution en collaboration avec des ingénieurs de l'université de Columbia, USA ont récemment développé un algorithme permettant l'identification des espèces d'arbres à partir de la forme de leurs feuilles. Le principe repose sur l'analyse d'une simple photo de feuille, la forme de laquelle est comparée avec les formes de feuilles disponibles dans la base de référence de la Smithsonian Institution. Le principe rappelle beaucoup celui du BLAST car une liste d'espèces potentielles est proposée avec des scores selon la qualité de photo ou l'état de la feuille. Le développement de l'algorithme et de la base de références ont nécessité plus de sept ans de recherches mais le succès a été immédiat et l'implémentation sous la forme d'une application iPhone gratuite (leafsnap.com) aujourd'hui facilite non seulement l'identification pour les non spécialistes mais ouvre les potentiel pour des études de la biodiversité à une très large échelle puisque tous les utilisateurs de l'application à travers les Etats Unis peuvent cartographier la position de chaque espèces identifiée. Bien sûr ce projet a été possible grâce à la base de référence bien décrite de la Smithsonian Institution.

Cela signifie qu'il n'est possible en aucun cas de s'affranchir à la description taxonomique préalable des espèces. Dans ce contexte, investir du temps et des fonds dans la formation et l'expertise taxonomique peut être une stratégie très porteuse et stratégique au vu des besoins croissants, et des multiples applications potentielles.

2.2.3) Approches expérimentales pour étudier les interactions entre espèces

L'approche expérimentale en écologie permet de tester des hypothèses très précises tout en contrôlant les paramètres du système d'étude. Elle présente donc de nombreux avantages et elle peut être combinée de façon très complémentaire avec d'autres approches plus directes. Cependant, les études de laboratoire imposent un environnement expérimental plus artificiel qui ne reflète pas forcément les conditionnes naturelles ni leur complexité. Cette simplification de l'environnement peut ainsi altérer le comportement des organismes manipulés et entraver les interprétations des résultats. Par exemple, il est connu dans le cas des carabes qu'ils peuvent manifester des comportements de thigmotactisme (phénomène comportemental de contact prolongé avec le substrat qui peut traduire un comportement d'anxiété chez certains organismes), ce qui les rend particulièrement difficiles à manipuler en conditions de laboratoire. Il semble qu'un phénomène similaire est observé dans nos résultats de l'étude expérimentale des comportements de *Bembidion quadrimaculatum* et *Phyla obtusa*, présentés dans le chapitre 3 puisque on observe des interférences entre individus de la même espèce au sein des boîtes de Pétri. Recréer des environnements expérimentaux reflétant la complexité des conditions naturelles, au laboratoire, nécessite énormément d'investissement et une très bonne connaissance *a priori* du modèle d'étude. Adopter cette approche pour étudier les interactions entre espèces à l'échelle de la communauté paraît déraisonnable. Par contre, les outils de vidéo-monitoring peuvent fournir un bon moyen pour réaliser des expériences en conditions naturelles. En effet, l'installation d'une vidéo-caméra sur le terrain permet d'adopter exactement la même démarche qu'au laboratoire en se basant sur les choix alimentaires ou les interactions naturelles des espèces sur place. Toutefois, lorsque l'on est confronté aux abondances naturelles des organismes, la probabilité que les phénomènes que l'on souhaite observer se passent dans le champ visuel de la caméra est plus faible. Une solution très intéressante a été proposée par Bretman et al. (2011) qui ont quadrillé une

parcelle entière avec des vidéo-caméras, reliées à un enregistreur. Les auteurs ont réussi à filmer ainsi les choix de partenaire sexuel chez grillon champêtre (*Gryllus campestris*), à l'échelle de la population. Les progrès technologiques actuels notamment en termes de miniaturisation ou d'autonomie permettent l'adaptation de matériel d'enregistrement vidéo directement sur le terrain et à un prix relativement accessible. Cela offre des perspectives intéressantes pour étudier les communautés d'organismes de petite taille et de comportement cryptique en temps réel et en conditions naturelles.

En conclusion, nous n'avons présenté ici que quelques-uns parmi de nombreux exemples des perspectives méthodologiques qui s'ouvrent pour l'étude et la compréhensionde la biodiversité. Et même si « dompter » les technologies en émergence pour les mettre au service de nos questions de recherche reste encore long et laborieux, les résultats obtenus dans le cadre de cette thèse semblent à la hauteur des attentes. Grâce à une riche palette d'outils et de nouvelles technologies, la recherche sur le vivant n'a jamais été aussi pluridisciplinaire qu'aujourd'hui.

3) Conclusion générale

A l'interface entre enjeux sociétaux et science fondamentale, les agro-écosystèmes occupent aujourd'hui une place stratégique. Ce travail de thèse vise une meilleure compréhension des processus à l'origine de la biodiversité au sein des communautés d'auxiliaires et le service de contrôle biologique qu'elles délivrent. Grâce à l'utilisation d'outils de pointe et à la combinaison d'observations à plusieurs échelles, nos travaux contribuent activement à l'élaboration d'une science prédictive pour le développement d'une agriculture productive et durable.

Références

Agustí N, De Vicente MC & Gabarra R (1999) Development of sequence amplified characterized region (SCAR) markers of *Helicoverpa armigera*: a new polymerase chain reaction-based technique for predator gut analysis. Molecular Ecology 8, 1467 – 1474.

Akamatsu F, Toda H & Okino T (2004) Food source of riparian spiders analyzed by using stable isotope ratios. Ecological Research 19, 655 – 662.

Akman Gündüz E & Douglas AE (2009) Symbiotic bacteria enable insect to use a nutritionally inadequate diet. Proceedings of the Royal Society B 276, 987-991.

Altieri MA & Merrick LC (1987) *In situ* conservation of crop genetic resources through maintenance of traditional farming systems. Economic Botany 41, 86 – 96.

Anand AAP, Vennison SJ, Sankar SG, Prabhu DIG, Vasan PT, Raghuraman T, Geoffrey CJ & Vendan SE (2010) Isolation and characterization of bacteria from the gut of *Bombyx mori* that degrade cellulose, xylan, pectin and starch and their impact on digestion. Journal of Insect Science 10, 107.

Andersen J (1988) Resource partitioning and interspecific interaction among riparian Bembidion species (Coleoptera: Carabidae). Entomologia Generalis 13, 47-60.

Arab A & Wimp GM (2013) Plant production and alternate prey channels impact the abundance of top predators. Oecologia 173, 331 – 341.

Aspelin AL, Pesticides Industry Sales and Usage: 1994-95 Market Estimates. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC (1997).

Aukema B (1991) Fecundity in relation to wing-morph of three closely related species of the *melanocephalus* group of the genus *Calathus* (Coleoptera: Carabidae). Oecologia 87, 118 – 26.

Authier M, Dragon A-C, Cherel Y & Guinet C (2012a) How large is large: estimating ecologically meaningful isotopic differences in observational studies of wild animals. Rapid Communications in Mass Spectrometry 26, 2657 – 2664.

Authier M, Dragon A-C, Richard P, Cherel Y & Guinet C (2012b) O' mother where are you? Maternal strategies in the southern elephant seal: a stable isotope investigation. Proceedings of the Royal Society B 279, 2681 – 2690.

Baldridge CD & Moran MD (2001) Behavioral means of coexisting in old fields by heterospecific arthropod predators (Araneae: Lycosidae, Salticidae; Insecta: Coleoptera, Carabidae). Proceedings of the Entomological Society of Washington 103, 81-88.

Ballard JWO & Whitlock MC (2004) The incomplete natural history of mitochondria. Molecular Ecology 13, 729 – 744.

Balmer O, Pfiffner L, Schied J, Willareth M, Leimgruber A, Luka H & Traugott M (2013) Noncrop flowering plants restore top-down herbivore control in agricultural fields. Ecology and Evolution 3, 2634 – 2646.

Balvanera P, Pfisterer AB, Buchmann N, He J-S, Nakashizuka T, Raffaelli D & Schmid B (2006) Quantifying the evidence for biodiversity effects on ecosystem functioning and services. Ecology Letters 9, 1146 – 1156.

de Barba M, Miquel C, Boyer F, Mercier C, Rioux D, Coissac E & Taberlet P DNA metabarcoding multiplexing and validation of data accuracy for diet assessment: application to omnivorous diet. Molecular Ecology Resources, *in press*.

Barnosky AD, Hadly EA, Bascompte J, Berlow EL, Brown JH, Fortelius M, Getz WM, Harte J, Hastings A, Marquet PA, Martinez ND, Mooers A, Roopnarine P, Vermeij G, Williams JW, Gillespie R, Kitzes J, Marshall C, Matzke N, Mindell DP, Revilla E & Smith AB (2012) Approaching a state-shift in the biosphere. Nature 486, 52 – 56.

Bassett P (1978) Damage to winter cereals by *Zabrus tenebrioides* (Coleoptera: Carabidae). Plant Pathology 27, 48.

Bauer T (1979) The behavioural strategy used by imago and larva of *Noriophilus bigurrurus* F. (Coleoptera, Carabidae) in hunting Collembola. *In* den Boer PJ, Lövei GL, Stork NE, Sunderland KD, eds. 1987. Proceedings of the 6th European carabidologist meeting. Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica 22, 14 – 58.

Bauer T (1986.) How to capture springtails on the soil surface. The method of *Loricera pilicornis* F. *In* den Boer PJ, Griim L, Szyszko J, eds. 1986. Feeding Behaviour and Accessibilify of Food for Carabid Beetles. Warsaw: Warsaw Agric. Univ. Press. 167 pp.

Beckerman AP, Uriate M & Schmitz OJ (1997) Experimental evidence for a behavior-mediated trophic cascade in a terrestrial food chain. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 94, 10735-10738.

Benton TG, Vickery JA & Wilson JD (2003) Farmland biodiversity: Is habitat heterogeneity the key? Trends in Ecology and Evolution, 18, 182 – 188.

von Berg K, Traugott M & Scheu S (2012) Scavenging and active predation in generalist predators: a mesocosm study employing DNA-based gut content analysis. Pedobiologia 55, 1 – 5.

von Berg K, Traugott M, Symondson WOC & Scheu S (2008) The effects of temperature on detection of prey DNA in two species of carabid beetle. Bulletin of Entomological Research 98, 263 – 269.

Bertossa RC, van Dijk J, Diao WW, Saunders D, Beukeboom LW & Beersma DGM (2013) Circadian rhythms differ between sexes and closely related species of Nasonia wasps. PLoS ONE 8, e60167.

Bianchi FJ, Booij CJ & Tscharntke T (2006) Sustainable pest regulation in agricultural landscapes: a review on landscape composition, biodiversity and natural pest control. Proceedings of the Royal Society B 273, 1715 – 1727.

Bienert F, de Danieli S, Miquel C, Coissac E, Poillot C, Brun J-J & Taberlet, P (2012) Tracking earthworm comminities from soil DNA. Molecular Ecology 21, 2017 – 2030.

Birkhofer K, Wolters V & Diekotter T (2011) Density-dependent and -independent effects on the joint use of space by predators and prey in terrestrial arthropod food webs. Oikos 120, 1705 – 1711.

Blaalid R, Kumar S, Nilsson RH, Abarenkov K, Kirk PM & Kauserud H (2013) ITS1 versus ITS2 as DNA metabarcodes for fungi. Molecular Ecology Resources 13, 218 – 224.

Bo T, Fenoglio S, Lopez-Rodriguez MJ & de Figueroa JMT (2011) Trophic behaviour of the dragonfly *Cordulegaster boltoni* (Insecta: Odonata) in small creeks in NW Italy. Entomologia Fennica 22, 255 – 261.

Boecklen J, Yarnes CT, Cook BA & James AC (2011) On the use of stable isotopes in trophic ecology. The Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics 42, 411 – 440.

den Boer PJ (1980) Exclusion or coexistence and the taxonomic or ecological relationship between species. Netherlands Journal of Zoology 30, 278-306.

den Boer PJ & den Boer-Daanje W (1990) On life-history tactics in carabid beetles: are there only spring and autumn breeders? *In* Stork, NE (Ed.), The Role of Ground Beetles in Ecological and Environmental Studies, Intercept, Andover, pp. 247 – 258.

den Boer PJ, van Huizen THP, den Boer-Daanje W, Aukema B & den Bieman CFM (1980) Wing polymorphism and dimorphism as stages in an evolutionary process (Coleoptera, Carabidae). Entomologia Generalis 6, 107 – 134.

Bodin N, Le Loc'h F & Hily C (2006) Effect of lipid removal on carbon and nitrogen stable isotope ratios in crustacean tissues. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 341, 168 – 175.

Bohan DA, 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.

Bohan DA, Raybould A, Mulder C, Woodward G, Tamaddoni-Nezhad A, Bluthgen N, Pocock MJO, Muggleton S, Evans DM, Astegiano J, Massol F, Loeuille N, Petit S &

Macfadyen S (2013). Networking agroecology: integrating the diversity of agroecosystem interactions. Advances in Ecological Research 49, 175 – 222.

Bohmann K, Monadjem A, Noer CL, Rasmussen M, Zeale MRK, Clare E, Jones G, Willerslev E & Gilbert MT (2011) Molecular diet analysis of two African free-tailed bats (Molossidae) using high-throughput sequencing. PLoS ONE 6, e21441.

Brandl R & Topp R (1985) Size structure of Pterostichus spp. (Carabidae): aspects of competition. Oikos 44, 234-238.

Brandmayr P & Zetto-Brandmayr T (1991) A paleoclimatic model for the evolution of brood watching in the ground beetle genus Molops (Coleoptera, Carabidae). Ethology, Ecology and Evolution Special issue 1, 139 – 142.

Bretman A, Rodríguez-Muñoz R, Walling C, Slate J & Tregenza T (2011) Fine-scale population structure, inbreeding risk and avoidance in a wild insect population. Molecular Ecology 20, 3045-3055.

Brooke MM & Proske HO (1946) Precipitin test for determining natural insect predators of immature mosquitoes. Journal of the National Malaria Society 5, 45 – 56.

Brown WM, Georg Jr M & Wilson AC (1979) Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. Proceedings of the National Academy of Sciences of United States of America 76, 1967-1971.

Brunsting AMH, Siepel H & Van Schaik Zillesen PG (1986) The role of larvae in the population ecology of Carabidae. *In* Den Boer PJ, Luff ML, Mossakowski D, Weber F (Eds) Carabids Beetles, Their Adaptations and Dynamics. Gustav Fischer, Stuttgart New York, 399 – 411.

Büchi R (2002) Mortality of pollen beetle (Meligethes spp.) larvae due to predators and parasitoids in rape fields and the effect of conservation strips. Agriculture, Ecosystem and Environment 90, 255–263.

Butchart SH, Walpole M, Collen B, van Strien A, Scharlemann JP, Almond RE, Baillie JE, Bomhard B, Brown C, Bruno J, Carpenter KE, Carr GM, Chanson J, Chenery AM, Csirke J, Davidson NC, Dentener F, Foster M, Galli A, Galloway JN, Genovesi P,

Gregory RD, Hockings M, Kapos V, Lamarque JF, Leverington F, Loh J, McGeoch MA, McRae L, Minasyan A, Hernández Morcillo M, Oldfield TE, Pauly D, Quader S, Revenga C, Sauer JR, Skolnik B, Spear D, Stanwell-Smith D, Stuart SN, Symes A, Tierney M, Tyrrell TD, Vié JC & Watson R (2010) Global diversity: indicators of recent declines. Science 328, 1164 – 1168.

Byström P, Ask P, Andersson J & Persson L (2013) Preference for cannibalism and ontogenetic constraints in competitive ability of piscivorous top predators. PLoS ONE 8, e70404.

Caballero-Lopez B, Blanco-Moreno JM, Perze-Hidalgo N, Michelena-Saval JM, Pujade-Villar J, Guerrieri E, Sanchez-Espigares JA & Sans FX (2012) Weeds, aphids, and specialist parasitoids and predators benefit differently from organic and conventional cropping of winter cereals. Journal of Pest Science 85, 81-88.

Canard E, Mouquet N, Marescot L, Gaston KJ, Gravel D & Mouillot D (2012) Emergence of structural patterns in neutral trophic networks. PLoS ONE 7, e38295.

Cardinale BJ, Wright JP, Cadotte MW, Carroll IT, Hector A, Srivastava DS, Loreau M & Weis JJ (2007) Impacts of plant diversity on biomass production increase through time because of species complementarity. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 104, 18123 – 18128.

Carré G, Roche P, Chifflet R, Morison N, Bommarco R, Harrison-Cripps J, Krewenka K, Potts SG, Roberts SPM, Rodet G, Settele J, Steffan-Dewenter I, Szentgyörgyi H, Tscheulin T, Westphal C, Woyciechowski M & Vaissière BE (2009) Landscape context and habitat type as drivers of bee diversity in European annual crops. Agriculture, Ecosystems and Environment 133, 40 – 47.

Cerkowniak M, Puckowski A, Stepnowski P & Gołębiowski M (2013). The use of chromatographic techniques for the separation and the identification of insect lipids. Journal of Chromatography B 937, 67 – 78.

Chandrasekara AI, Wettasinghe A & Amarasiri SL (1985) Pesticide usage by vegetable farmers. Paper presented at Annual Research Conference ISTI, Gannoruwa, Sri Lanka.

Charrier S, Petit S & Burel F (1997) Movements of *Abax parallelepipedus* (Coleoptera, Carabidae) in woody habitats of a hedgerow network landscape: a radio-tracing study. Agriculture, Ecosystems and Environment 61, 133 – 144.

Chase JM & Leibold MA (2003) Ecological Niches: Linking Classical and Contemporary Approaches. Chicago University Press, Chicago, IL, 221 pp.

Chen Y, Giles KL, Payton ME & Greenstone MH (2000) Identifying key cereal aphid predators by molecular gut analysis. Molecular Ecology 9, 1887 – 1898.

Chikaraishi Y, Ogawa NO, Doi, H & Ohkouchi N (2011) $^{15}N/^{14}N$ ratios of amino acids as a tool for studying terrestrial food webs: a case study of terrestrial insects (bees, wasps, and hornets). Ecological Research 26, 835 – 844.

Chikaraishi Y, Ogawa NO, Kashiyama Y, Takano Y, Suga H, Tomitani A, Miyashita H, Kitazato H & Ohkouchi N (2009) Determination of aquatic food-web structure based on compound-specific nitrogen isotopic composition of amino acids. Limnology and Oceanography methods 7, 740 – 750.

Chiverton PA (1987) Predation of *Rhopalosiphum padi* (Homoptera: Aphididae) by polyphagous predatory arthropods during the aphids' pre-peak period in spring barley. Annals of Applied Biology11, 257 – 269.

Chouvelon T, Spitz J, Caurant F, Mèndez-Fernandez P, Chappuis A, Laugier F, Le Goff E & Bustamante P (2012) Revisiting the use of $\delta^{15}N$ in meso-scale studies of marine food webs by considering spatio-temporal variations in stable isotopic signatures – The case of an open ecosystem: the Bay of Biscay (North-East Atlantic). Progress in Oceanography 101, 92 – 105.

Clough Y, Holzschuh A, Gabriel D, Purtauf T, Kleijn D, Kruess A, Steffan-Dewenter I & Tscharntke T (2007) Alpha and beta diversity of arthropods and plants in organically and conventionally managed wheat fields. Journal of Applied Ecology 44, 804-812.

Convention on Biological Diversity. “Strategic Plan for Biodiversity 2011-2020”. http://www.cbd.int/sp/ (2011).

Conway G (1997) The Doubly Green Revolution. Penguin Books, London, UK. 360 pp.

Costanza R, Arge RD, Groot RD, Farber S, Grasso M, Hannon B, Limburg K, Naeem S, O'Neill RV, Paruelo J, Raskin RG, Sutton P & Belt MVD (1997) The value of the world's ecosystem services and natural capital. Nature 387, 253 – 260.

Crook AME & Solomon MG (1996) Detection of predation on vine weevil by natural enemies using immunological techniques. Mitteilung aus der Biologischen Bundesanstalt für Land und Forstwirtschaft 316, 86 – 90.

Crotti E, Sansonno L, Prosdocimi EM, Vacchini V, Hamdi C, Cherif A, Gonella E, Marzorati M & Balloi A (2013) Microbial symbionts of honeybees: a promising tool to improve honeybee health. New Biotechnology 30, 716-722.

Crotty FV, Stocki M, Knight JD & Adl SM (2013) Improving accuracy and sensitivity of isotope ratio mass spectrometry for $\delta^{13}C$ and $\delta^{15}N$ values in very low mass samples for ecological studies. Soil Biology and Biochemistry 65, 75 – 77.

Darlington PJ (1943) Carabidae of mountains and islands: data on the evolution of isolated faunas, and atrophy of wings. Ecological Monographs 13, 37 – 61.

Darwin C (1859) On the Origin of Species by Means of Natural Selection or the Preservation of Favoured Races in the Struggle for Life. Hazel, Watson & Viney, London, 389 pp.

Dawson TP, Jackson ST, House JI, Prentice IC & Mace GM (2011) Beyond predictions: biodiversity conservation in a changing climate. Science 332, 53 – 58.

Davey JS, Vaughan IP, King RA, Bell JR, Bohan DA, Bruford MA, Holland JM & Symondson WOC (2013) Intraguild predation in winter wheat: prey choice by a common epigeal carabid consuming spiders. Journal of Applied Ecology 50, 271 – 279.

Davies L (1972) Two Amblystogenium species (Col., Carabidae) coexisting on the Subarctic Possesion Island; Crozet Islands. Entomologica Scandinavica 3, 275 – 286.

Deagle BE, Kirkwood R & Jarman SN (2009) Analysis of Australian fur seal diet by pyrosequencing prey DNA in faeces. Molecular Ecology 18, 2022 – 2038.

Deagle BE, Tollit DJ, Jarman SN, Hindell MA, Trites AW & Gales NJ (2005) Molecular scatology as a tool to study diet: analysis of prey DNA in scats from captive Steller sea lions. Molecular Ecology 14, 1831 – 1842.

Decelle J, Probert I, Bittner L, Desdevises Y, Colin S, de Vargas C, Gali M, Simo R & Not F (2012) An original mode of symbiosis in open plankton. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 109, 18000 – 18005.

DeNiro M & Epstein S (1978) Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals. Geochimica et Cosmochimica Acta 42, 495 – 506.

Dennison DF & Hodkinson ID (1984) Structure of the predatory beetle community in a woodland soil ecosystem. V. Summary and conclusions. Pedobiologia 26,171 – 77.

Derocles SAP, Le Rallec A, Besson M, Maret M, Walton A & Plantegenest M Segregation of parasitoids communities between crops and non-crops environment. Molecular Ecology, s*ubmitted*.

Desender K, van den Broeck D & Maelfait J-P (1985) Population biology and re-production in *Pterostichus melanarius* Ill. (Coleoptera, Carabidae) from a heavily grazed pasture ecosystem. Mededelingen Faculteit Landbouwwetenschappen Rijksuniversiteit Gent. 50, 567 – 575.

Desender K, Dufrêne M, Loreau M, Luff ML & Maelfait JP (Eds), 1994. Carabid Beetles: Ecology and Evolution, ISBN: 978-90-481-4320-7. Series Entomologica, 51.

Desender K (2000) Flight muscle development and dispersal in the life cycle of carabid beetles: patterns and processes Bulletin de l'Institut Royal des Sciences Naturelles de Belgique, Entomologie 70, 13 – 31.

Di Giulio A & Moore W (2004) The first-instar larva of the genus Arthropterus (Coleoptera: Carabidae: Paussinae): implications for evolution of myrmecophily and phylogenetic relationships within the subfamily. Invertebrate Systematics 18, 101 – 115.

Doak D F, Bigger D, Harding EK, Marvier MA, O'Malley RE & Thomson D (1998) The statistical inevitability of stability-diversity relationships in community ecology. The American Naturalist 151, 264 – 276.

Dobson A, Stefano A, Lafferty K & Pascual M (2009) The assembly, collapse and restoration of food webs. Philosophical Transactions of the Royal Society B 364, 1803 – 1806.

Donald PF (1998) Changes in the abundance of invertebrates and plants on British farmland. British Wildlife 9, 279 – 289.

Donald PF, Green RE & Heath MF (2001) Agricultural intensification and the collapse of Europe's farmland bird populations. Proceedings of the Royal Society of London Series B 268, 25 – 29.

Douglas AE (1998) Nutritional interactions in insect– microbial symbioses: aphids and their symbiotic bacteria Buchnera. Annual Review of Entomology 43, 17 – 37.

DuDevoir DS & Reeves MR (1990) Feeding activity of carabid beetles and spiders on gypsy moth larvae (Lepidoptera: Lymantriidae) at high density prey populations. Journal of Entomological Science 25, 341 – 356.

Duffy JE, Cardinale BJ, France KE, McIntyre PB, Thebault E & Loreau M (2007) The functional role of biodiversity in ecosystems: Incorporating trophic complexity. Ecology Letters 10, 522 – 538.

Edwards EJ, Still CJ & Donoghue MJ (2007) The relevance of phylogeny to studies of global change. Trends in Ecology and Evolution 22, 243 – 249.

Eggenschwiler L, Speiser B, Bosshard A & Jacot K (2013) Improved field margins highly increase slug activity in Switzerland. Agronomy for Sustainable Development 33, 349 – 354.

Eggers T & Jones TH (2000) You are what you eat…or are you? Trends in Ecology and Evolution 15, 265 – 266.

Elmhagen B, Tannerfeldt M, Verucci P & Angerbjorn A (2000) The arctic fox (*Alopex lagopus*): an opportunistic specialist. Journal of Zoology 251, 139 – 149.

Elron E, Shlagman A & Gasith A (2007) First detailed report of predation on anuran metamorphs by terrestrial beetle larvae. Herpetological Reviews 38, 30 – 33.

Engel P & Moran NA (2013) The gut microbiota of insects – diversity in structure and function. FEMS Microbiology Reviews 37, 699–735.

Environmental Protection Agency, United States of America (2011) Pesticides industry sales and usage 2006 and 2007 market estimates.

Erikstad KE, Byrjedal I & Kålås JA (1989) Resource partitioning among seven carabid species on Hardangervidda, southern Norway. Annales Zoologici Fennici 26, 113-120.

Evans MEG (1977) Locomotion in the Coleoptera Adephaga, especially Carabidae. Journal of Zoology 181, 189 – 226.

Evans MEG & Forsythe TG (1984) A comparison of adaptation to running, pushing and burrowing in some adult Coleoptera: especially Carabidae. Journal of Zoology 202, 513 – 534.

Ewins PJ, Weseloh DV, Groom JH, Dobos RZ & Mineau P (1994) The diet of herring gulls (*Larus argentatus*) during winter and early spring on the lower Great Lakes. Hydrobiologia 280, 39 – 55.

Feldhaar H (2011) Bacterial symbionts as mediators of ecologically important traits of insect hosts. Ecological Entomology, 36, 533–543.

Fenner K, Coninica S, Wackett LP & Elsner M (2013) Evaluating pesticide degradation in the environment: blind spots and emerging opportunities. Science 341, 752 – 758.

Ferrari J & Vavre F (2011) Bacterial symbionts in insects or the story of communities affecting communities. Philosophical Transactions of the Royal Society B 366, 1389-1400.

Ferron P & Deguine JP (2005) Crop protection, biological control, habitat management and integrated farming. A review. Agronomy for Sustainable Development 25, 17 – 24.

Ficetola GF, Coissac E, Zundel S, Riaz T, Shehzad W, Bessiere J, Taberlet P & Pompanon F (2010) An *in silico* approach for the evaluation of DNA barcodes. BMC Genomics 11, 434.

Fichter BL & Stephen WP (1984) Time-related decay in prey antigens ingested by arboreal spiders as detected by ELISA. Environmental Entomology 13, 1583 – 1587.

Finke DL & Denno RF (2002) Intraguild predation diminished in complex-structured vegetation: implications for prey suppression. Ecology 83, 643 – 652.

Finke DL & Denno RF (2005) Predator diversity and the functioning of ecosystems: the role of intraguild predation in dampening trophic cascades. Ecology Letters 8, 1299–1306.

Fitzhugh K (2006) DNA barcoding: an instance of technology-driven science? BioScience 56, 462 – 463.

Flowerdew JR (1997) Mammal biodiversity in agricultural habitats. *In* Biodiversity and Conservation in Agriculture, Kirkwood RC Editors, pp. 25 – 40 (British Crop Protection Council)

Foley JA, DeFries R, Asner GP, Barford C, Bonan G, Carpenter SR, Chapin FS, Coe MT, Daily GC, Gibbs HK, Helkowski JH, Holloway T, Howard EA, Kucharik CJ, Monfreda C, Patz JA, Prentice IC, Ramankutty N & Snyder PK (2005) Global consequences of land use. Science 309, 570 – 574.

Foltan P, Sheppard S, Konvicka M & Symondson WOC (2005) The significance of facultative scavenging in generalist predator nutrition: detecting decayed prey in the guts of predators using PCR. Molecular Ecology 14, 4147–4158.

Food and Agriculture Organization of the United Nations, “FAOSTAT 1999”, http://faostat.fao.org/?alias=faostat1999.

Food and Agricultural Organization, 2000. Project Concept Paper. HEAL: Health in Ecological Agricultural Learning, prepared by the FAO programme for community IPM in Asia, Food and Agricultural Organization of the United Nations, Rome, http://www.fao.org/nars/partners/2nrm/ proposal/9 – 2 – 6.doc.

Forbes SA (1883) The food-relation of the Carabidae and Coccinellidae. Illinois State Laboratory Natural History Bulletin 1, 33 – 47.

Frank SD, Shrewsbury PM & Denno RF (2010) Effects of alternative food on cannibalism and herbivore suppression by carabid larvae. Ecological Entomology 35, 61-68.

Frézal L & Leblois R (2008) Four years of DNA barcoding: Current advances and prospects. Infection, Genetics & Evolution 8, 727 – 736.

Fry B (2006) Stable Isotope Ecology. 1st edition. Springer, 324 pp.

Fry B, Jeng W, Scalan R, Parker P & Baccus J (1978) $\delta^{13}C$ food web analysis of a Texas sand dune community. Geochimica et Cosmochimica Acta 42, 1299 – 1302.

Fuller RJ, Gregory RD, Gibbons DW, Marchant JH, Wilson JD, Baillie SR & Carter N (1995) Population declines and range contractions among lowland farmland birds in Britain. Conservation Biology 9, 1425 – 1441.

Funk DJ & Omland KE (2003) Species-level paraphyly and polyphyly: frequency, causes, and consequences, with insights from animal mitochondrial DNA. Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics 34, 397 – 423.

Galluzzi G, Eyzaguirre P & Negri V (2010) Home gardens: neglected hotspots of agro-biodiversity and cultural diversity. Biodiversity and Conservation 19, 3635 – 3654.

Gannes LZ, O'Brien DM & Martínez del Rio C (1997) Stable isotopes in animal ecology: assumptions, caveats, and a call for more laboratory experiments. Ecology 78, 1271 – 1276.

Garibaldi LA, Steffan-Dewenter I, Winfree R, Aizen MA, Bommarco R, Cunningham SA, Kremen C, Carvalheiro LG, Harder LD, Afik O, Bartomeus I, Benjamin F, Boreux

V, Cariveau D, Chacoff NP, Dudenhöffer JH, Freitas BM, Ghazoul J, Greenleaf S, Hipólito J, Holzschuh A, Howlett B, Isaacs R, Javorek SK, Kennedy CM, Krewenka KM, Krishnan S, Mandelik Y, Mayfield MM, Motzke I, Munyuli T, Nault BA, Otieno M, Petersen J, Pisanty G, Potts SG, Rader R, Ricketts TH, Rundlöf M, Seymour CL, Schüepp C, Szentgyörgyi H, Taki H, Tscharntke T, Vergara CH, Viana BF, Wanger TC, Westphal C, Williams N & Klein AM (2013) Wild pollinators enhance fruit set of crops regardless of honey bee abundance. Science 339, 1608 – 1611.

Gariepy TD, Kuhlmann U, Gillott C & Erlandson M (2007) Parasitoids, predators and PCR: the use of diagnostic molecular markers in biological control of arthropods. Journal of Applied Entomology 131, 225 – 240.

Gause GF (1934) The Struggle for Existence. Williams and Wilkins, Baltimore.

Geiger F, Bengtsson J, Berendse F, Weisser WW, Emmerson M, Morales MB,Ceryngier P, Liira J, Tscharntke T, Winqvist C, Eggers S, Bommarco R, Pärt T, Bretagnolle V, Plantegenest M, Clement LW, Dennis C, Palmer C, Oñate JJ, Guerrero I, Hawro V, Aavik T, Thies C, Flohre A, Hänke S, Fischer C, Goedhart PW & Inchausti P (2010) Persistent negative effects of pesticides on biodiversity and biological control potential on European farmland. Basic and Applied Ecology 11, 97 – 105.

Géneau CE, Wäckers FL, Luka H & Balmer O (2013) Effects of extrafloral and floral nectar of *Centaurea cyanus* on the parasitoid wasp *Microplitis mediator*: Olfactory attractiveness and parasitization rates. Biological Control 66, 16 – 20.

Giglio A, Brandmayr P, Talarico F & Giulianini PG (2011) Effects of alternative and specialised diet on development and survival of larvae and pupae in *Carabus (Chaetocarabus) lefebvrei* (Coleoptera: Carabidae). Entomologia Generalis 33, 263 – 271.

Gilbert O (1956) The natural history of four species of *Calathus* (Coleoptera, Carabidae) living on sand dunes in Anglesey, North Wales. Oikos 7, 22 – 47.

Gilman SE, Urban MC, Tewksbury J, Gilchrist GW & Holt RD (2010) A framework for community interactions under climate change. Trends in Ecology and Evolution 25, 325 – 331.

Glenn TC (2011) Field guide to next-generation DNA sequencers. Molecular Ecology Resources 11, 759 – 769.

Gleick PH (2003) Global fresh water resources: soft-path solutions for the 21st century. Science 302, 1524 – 1528.

Godfray HCJ, Beddington JR, Crute IR, Haddad L, Lawrence D, Muir JF, Pretty J, Robinson S, Thomas SM & Toulmin C (2010) Food security: the challenge of feeding 9 billion people. Science 327, 812 – 818.

Grant PR & Grant BR (2006) Evolution of character displacement in Darwin's finches. Science 313, 224 – 226.

Gratton C & Forbes AE (2006) Changes in d13C stable isotopes in multiple tissues of insect predators fed isotopically distinct prey. Oecologia 147, 615-624.

Green RE, Cornell SJ, Scharlemann JPW & Balmford A (2005) Farming and the fate of wild nature. Science 307, 550 – 555.

Green SJ & Minz D (2005) Suicide polymerase endonuclease restriction, a novel technique for enhancing PCR amplification of minor DNA templates. Applied and Environmental Microbiology 71, 4721 – 4727.

Greenslade PJM (1963) Daily rhythms of locomotory activity in some Carabidae (Coleoptera). Entomologia Experimentalis et Applicata 6, 171 – 180.

Greenstone MH & Morgan CE (1989) Predation on *Heliothis zea* (Lepidoptera: Noctuidae): an instar-specific ELISA for stomach analysis. Annals of the Entomological Society of America 82, 45 – 49.

Greenstone MH, Payton ME, Weber DC & Simmons AM The detectability half-life in arthropod predator-prey research: what it is, why we need it, how to measure it, and how to use it. Molecular Ecology, *in press*.

Greenstone MH, Weber DC, Coudron TA, Payton ME & Hu JS (2012) Removing external DNA contamination from arthropod predators destined for molecular gut-content analysis. Molecular Ecolology Resources 12, 464 – 469.

Griffon M (2002) Révolution Verte, Révolution Doublement Verte: Quelles technologies, institutions et recherche pour les agricultures de l'avenir ? Mondes en Développement, CIRAD 30, 39 – 44.

Gullino ML, Leroux P & Smith CM (2000) Uses and challenges of novel compounds for plant disease control. Crop Protection 19, 1 – 11.

Gurr GM & Wratten SD (2000) Biological Control: Measures of Success. Dordrecht: Kluwer. 429 pp.

Gurr GM, van Emden HF & Wratten SD (1996) Habitat manipulation and natural enemy efficiency: implications for the control of pests. *In* Barbosa P, 1998. Conservation Biological Control. San Diego: Academic, pp. 115 – 83.

Guy AG, Bohan DA, Powers SJ & Reynolds AM (2008) Avoidance of conspecific odour by carabid beetles: a mechanism for the emergence of scale-free searching patterns. Animal Behaviour 76, 585 – 591.

Hagler JR & Naranjo SE (1997) Measuring the sensitivity of an indirect predator gut content ELISA: detectability of prey remains in relation to predator species, temperature, time, and meal size. Biological Control 9, 112 – 119.

Harper GL, King RA, Dodd CS, Harwood JD, Glen DM, Bruford MW & Symondson WOC (2005) Rapid screening of invertebrate predators for multiple prey DNA targets. Molecular Ecology 14, 819 – 827.

Hassell MP (1978) The Dynamics of Arthropod Predator-Prey Systems. Princeton: Princeton University Press, 237 pp.

Hayward MW, Hayward GJ, Druce DJ & Kerley GIH (2009) Do fences constrain predator movements on an evolutionary scale? Home range, food intake and movement patterns of large predators reintroduced to Addo Elephant National Park, South Africa. Biodiversity and Conservation 18, 887 – 904.

Hawes C, Evans HF & Stewart AJA (2013) Interference competition, not predation, explains the negative association between wood ants (*Formica rufa*) and abundance of ground beetles (Coleoptera: Carabidae). Ecological Entomology 38, 315-322.

Hebert PDN, Cywinska A, Ball SL & de Waard JR (2003) Biological identification through DNA barcodes. Proceedings of the Royal Society B 270, 313 – 321.

Heimeier D, Lavery S & Sewell MA (2010) Using DNA barcoding and phylogenetics to identify Antarctic invertebrate larvae: Lessons from a large scale study. Marine Genomics 3, 165 – 177.

Hengeveld R (1980b) Polyphagy, oligophagy and food specialisation in ground beetles (Coleoptera, Carabidae). Netherlands Journal of Zoology 30, 564 – 84.

Hengeveld R (1980c) Food specialization in ground beetles: an ecological or a phylogenetical process? (Coleoptera, Carabidae). Netherlands Journal of Zoology 30, 585 – 594.

Hobson KA, Gibbs HL & Gloutney ML (1997) Preservation of blood and tissue samples for stable-carbon and stable-nitrogen isotope analysis. Canadian Journal of Zoology 75, 1720 – 1723.

Hobson KA, Wassenaar LI & Taylor OR (1999) Stable isotopes (δD and $\delta^{13}C$) are geographic indicators of natal origins of monarch butterflies in eastern North America. Oecologia 120, 397 – 404.

Hodek I, 1973. Biology of Coccinellidae. Prague, Czechoslovakia: Junk, N.V., 260 pp.

Honek A, Martinkova Z & Jarošík V (2003) Ground beetles (Carabidae) as seed predators. European Journal of Entomology 100, 531 – 544.

Honek A, Martinkova Z & Saska P (2011) Effect of size, taxonomic affiliation and geographic origin of dandelion (Taraxacum agg.) seeds on predation by ground beetles (Carabidae, Coleoptera). Basic and Applied Ecology 12, 89–96.

Honek A, Martinkova Z, Saska P & Pekar S (2007) Size and taxonomic constraints determine the seed preferences of Carabidae (Coleoptera). Basic and Applied Ecology 8, 343 – 353.

Hood-Nowotny R & Knols BGJ (2007) Stable isotope methods in biological and ecological studies of arthropods. Entomologia, Experimentalis et Applicata 124, 3 – 16.

Hubbell SP (2001) The Unified Neutral Theory of Biodiversity and Biogeography. Princeton University Press, Princeton, 448 pp.

van Huizen THP (1979) Individual and environmental factors determining flight in carabid beetles. Miscellaneous Papers Landbouwhogeschool Wageningen 18, 199 – 211.

van Huizen THP (1990) 'Gone with the wind': flight activity of carabid beetles in relation to wind direction and to the reproductive state of females in flight. *In* Stork NE, 1990. The Role of Ground Beetles in Ecological and Environmental Studies. Proceedings of the 7th European Carabidologists' Meeting. Intercept, Andover, Hampshire, pp. 289 – 293.

Hůrka K & Jarošík V (2003) Larval omnivory in *Amara aenea* (Coleoptera: Carabidae). European Journal of Entomology 100, 329-335.

Huston MA (1997) Hidden treatments in ecological experiments: re-evaluating the ecosystem function of biodiversity. Oecologia 110, 449 – 460.

Ingerson-Mahar J (2002) Relating diet and morphology in adult carabid beetles. *In* Holland JM, 2002.The Agroecology of Carabid Beetles. Intercept Ltd, UK, 356 pp.

Ingram T, Svanbäck R, Kraft NJB, Kratina P, Southcott L & Schluter D (2012) Intraguild predation drives evolutionary niche shift in threespine stickleback. Evolution 66, 1819 – 1832.

Ings TC, Montoya JM, Bascompte J, Blüthgen N, Brown L, Dormann CF, Edwards F, Figueroa D, Jacob U, Jones JI, Lauridsen RB, Ledger ME, Lewis HM, Olesen JM, van

Veen FJF, Warren PH & Woodward G (2009) Ecological networks — beyond food webs. Journal of Animal Ecology 78, 253 – 269.

Ives AR, Cardinale BJ & Snyder WE (2005) A synthesis of sub-disciplines: predator-prey interactions, and biodiversity and ecosystem functioning. Ecology Letters 8, 102 – 116.

Ives AR & Hughes JB (2002) General relationships between species diversity and stability in competitive systems. The American Naturalist 159, 388 – 395.

Ives AR, Klug JL & Gross K (2000) Stability and species richness in complex communities. Ecology Letters 3, 399 – 411.

Janssen A, Sabelis MW, Magalhaes S, Montserrat M & Van der Hammen T (2007) Habitat structure affects intraguild predation. Ecology 88, 2713 – 2719.

Jardine TD, Kidd KA & Fisk AT (2006) Applications, considerations, and sources of uncertainty when using stable isotope analysis in ecotoxicology. Environmental Science and Technology 40, 7501 – 7511.

Jarman SN, Deagle BE & Gales NJ (2004) Group-specific polymerase chain reaction for DNA-based analysis of species diversity and identity in dietary samples. Molecular Ecology 13, 1313 – 1322.

Jarman SN, Redd KS & Gales NJ (2006) Group-specific primers for amplifying DNA sequences that identify Amphipoda, Cephalopoda, Echinodermata, Gastropoda, Isopoda, Ostracoda and Thoracica. Molecular Ecology Notes 6, 268 – 271.

Juen A & Traugott M (2005) Detecting predation and scavenging by DNA gut-content analysis: a case study using a soil insect predator–prey system. Oecologia 142, 344–352.

Kahvejian A, Quackenbush J & Thompson JF (2008) What would you do if you could sequence everything? Nature 26, 1125 – 1133.

Kaufmann T (1971) Hibernation in the Arctic Arctic beetle *Pterostichus brevicornis* in Alaska. Journal of the Kansas Entomological Society 44, 81 – 92.

Kearney J (2010) Food consumption trends and drivers. Philosophical Transactions of the Royal Society B 365, 2793 – 2807.

Kelly J (2000) Stable isotopes of carbon and nitrogen in the study of avian and mammalian trophic ecology. Canadian Journal of Zoology 78, 1 – 27.

Kiljunen M, Grey J, Sinisalo T, Harrod C, Immonen H & Jones RI (2006) A revised model for lipid-normalizing $\delta^{13}C$ values from aquatic organisms, with implications for isotope mixing models. Journal of Applied Ecology 43, 1213 – 1222.

King RA, Davey JS, Bell JR, Read DS, Bohan DA & Symondson WOC (2012) Suction sampling as a significant source of error in molecular analysis of predator diets. Bulletin of Entomological Research 102, 261 – 266.

King RA, Read DS, Traugott M & Symondson WOC (2008) Molecular analysis of predation: a review of best practice for DNA-based approaches. Molecular Ecology 17, 947 – 963.

King RA, Vaughan IP, Bell JR, Bohan DA & Symondson WOC (2010) Prey choice by carabid beetles feeding on an earthworm community analysed using species- and lineage-specific PCR primers. Molecular Ecology 19, 1721 – 1732.

Kiyashko SI, Imbs AB, Narita T, Svetashev VI & Wada E (2004) Fatty acid composition of aquatic insect larvae *Stictochironomus pictulus* (Diptera: Chironomidae): evidence of feeding upon methanotrophic bacteria. Comparative Biochemistry and Physiology B 139, 705 – 711.

Köhler H-R & Triebskorn R (2013) Wildlife ecotoxicology of pesticides: can we track effects to the population level and beyond? Science 341, 759 – 765.

Kotze DJ, Brandmayr P, Casale A, Dauffy-Richard E, Dekoninck W, Koivula M, Lövei GL, Mossakowski D, Noordijk J, Paarmann W, Pizzolotto R, Saska P, Schwerk A, Serrano J, Szysko J, Taboada A, Turin H, Venn S, Vermeulen R & Zetto T (2011) Forty years of carabid beetle research in Europe – from taxonomy, biology, ecology and population studies to bioindication, habitat assessment and conservation. ZooKeys 100, 55 – 148.

Krebs JR, Wilson JD, Bradbury RB & Siriwardena GM (1999) The second silent spring? Nature 400, 611 – 612.

Kremen C (2005) Managing ecosystem services: What do we need to know about their ecology? Ecology Letters 8, 468 – 479.

Kremen C & Miles A (2012) Ecosystem Services in Biologically Diversified versus Conventional Farming Systems: Benefits, Externalities, and Trade-Offs. Ecology and Society 17, 40.

Kress WJ & Erickson DL (2007) A two-locus global DNA barcode for land plants: the coding rbcL gene complements the non-coding trnH-psbA spacer region. PLoS ONE 2, e508.

Larochelle A (1990) The Food of Carabid Beetles. Fabreries Supplement 5, 1 – 132.

Larsson SG (1939) Entwicklungstypen und Entwicklungszeiten der Danischen Carabiden. Entomologiske Meddelelser 20, 277 – 560.

Lehman C & Tilman D (2000) Biodiversity, stability, and productivity in competitive communities. The American Naturalist 156, 534 – 552.

Leray M, Yang JY, Meyer CP, Mills SC, Agudelo N, Ranwez V, Boehm JT & Machida RJ (2013) A new versatile primer set targeting a short fragment of the mitochondrial COI region for metabarcoding metazoan diversity: application for characterizing coral reef fish gut contents. Frontiers in Zoology 10, 34

Lindroth CH. Ground Beetles (Carabidae) of Fennoscandia – A Zoogeographical Study.Translation by Adis J, Erwin TL of Lindroth CH (1945, 1949). Die Fennoskandischen Carabidae. Smithsonian Institution: I: 1–630 (1992), II: 1–271 (1988), III: 1 – 814 (1992).

Liu M, Fan L, Zhong L, Kjelleberg S & Thomas T (2012) Metaproteogenomic analysis of a community of sponge symbionts. ISME Journal 6, 1515-1525.

Liu ZG & Zhang FP (2013) Species coexistence of communities with intraguild predation: The role of refuges used by the resource and the intraguild prey. Biosystems 114, 25 – 30.

Logan JM, Jardine TD, Miller TJ, Bunn SE, Cunjak RA & Lutcavage ME (2008) Lipid corrections in carbon and nitrogen stable isotope analyses: comparison of chemical extraction and modelling methods. Journal of Animal Ecology 77, 838 – 846.

Loreau M (1983) Le régime alimentaire de huit carabides (Coleoptera) communs en milieu forestier. Acta Oecologica 4, 331 – 343.

Loreau M & Hector A (2001) Partitioning selection and complementarity in biodiversity experiments. Nature 412, 72 – 76.

Losos JB (2008) Phylogenetic niche conservatism, phylogenetic signal and the relationship between phylogenetic relatedness and ecological similarity among species. Ecology Letters 11, 995 – 1007.

Losey JE & Vaughan M (2006) The Economic Value of Ecological Services Provided by Insects. Bioscience 56, 311 – 323.

Losos JB & Ricklefs RE, 2009.The Theory of Island Biogeography Revisited. Princeton University Press, New Jersey, 496 pp.

Lövei GL & Sunderland KD (1996) Ecology and behavior of ground beetles (Coleoptera: Carabidae). Annual Review of Entomology 41, 231 – 256.

Luff M (1980) The biology of the ground beetle *Harpalus rufipes* in a strawberry field in Nortumberland. Annals of Applied Biology 94, 153 – 164.

Lund RD & Turpin FT (1977) Carabid damage to weed seeds found in Indiana cornfields. Environmental Entomology 6, 695 – 698.

Lundgren JG & Lehman RM (2010) Bacterial gut symbionts contribute to seed digestion in an omnivorous beetle. PLoS ONE 5, e10831.

Ma Z & Michailides TJ (2005) Advances in understanding molecular mechanisms of fungicide resistance and molecular detection of resistant genotypes in phytopathogenic fungi. Crop Protection 24, 853 – 863.

MacArthur RH (1958) Population ecology of some warblers of Northeastern coniferous forests. Ecology 39, 599 – 619.

MacArthur RH & Wilson EO, 1967.The Theory of Island Biogeography.Princeton University Press, Princeton, 224 pp.

Macfadyen S, Gibson R, Polaszek A, Morris RJ, Craze PG, Planque R, Symondson WOC & Memmott J (2009) Do differences in food web structure between organic and conventional farms affect the ecosystem service of pest control? Ecology Letters 12, 229 – 238.

MacLeod A, Wratten SD, Sotherton NW & Thomas MB (2004) 'Beetle banks' as refuges for beneficial arthropods in farmland: long-term changes in predator communities and habitat. Agricultural and Forest Entomology 6, 147 – 154.

Madsen M, Terkildsen S & Toft S (2004) Microcosm studies on control of aphids by generalist arthropod predators: Effects of alternative prey. BioControl 49, 483-504.

Maestre FT, Quero JL, Gotelli NJ, Escudero A, Ochoa V,Delgado-Baquerizo M, García-Gómez M, Bowker MA, Soliveres S, Escolar C, García-Palacios P, Berdugo M, Valencia E, Gozalo B, Gallardo A, Aguilera L, Arredondo T, Blones J, Boeken B, Bran D, Conceição AA, Cabrera O, Chaieb M, Derak M, Eldridge DJ, Espinosa CI, Florentino A, Gaitán J, Gatica MG, Ghiloufi W, Gómez-González S, Gutiérrez JR, Hernández RM, Huang X, Huber-Sannwald E, Jankju M, Miriti M, Monerris J, Mau RL, Morici E, Naseri K, Ospina A, Polo V, Prina A, Pucheta E, Ramírez-Collantes DA, Romão R, Tighe M, Torres-Díaz C, Val J, Veiga JP, Wang D & Zaady E (2012) Plant species richness and ecosystem multifunctionality in global drylands. Science 335, 214 – 218.

Makarov KV & Bokhovko EE (2005) Continuity of chaetom pattern in Brachinus larvae developing with hypermetamorphosis (Coleoptera: Carabidae). Russian Entomological Journal 14, 263 – 274.

Makarov K, Matalin A, Goncharov A & Tiunov A. Influence of diet composition on the dynamics of stable isotopes in different tissues of ground beetles. Report on XVIth European Carabidologists Meeting, September 22-27, 2013 Prague, Czech Republic.

Malausa T, Bethenod MT, Bontemps A, Bourguet D, Corneuet JM & Ponsard S (2005) Assortative mating in sympatric host races of the European corn borer. Science 308, 258 – 260.

Marrou J, Quiot JB, Duteil M, Labonne G, Leclant F, Renoust M (1979) Ecology and epidemiology of cucumber mosaic virus: effects of natural windbreaks and surrounding vegetable crops on cucumber mosaic virus (CMV) epidemics. Annals of the Phytopathological Society of Japan11, 375 – 392.

Martínez del Rio C, Wolf N, Carleton SA & Gannes LZ (2009) Isotopic ecology ten years after a call for more laboratory experiments. Biological Review 84, 91 – 111.

Matalin AV (1998) Polyvariance of *Harpalus affinis* Schrank (Coleoptera, Müller, H.J. (1970). Formen der Dormanz bei Insekten. Nova Acta Leopoldina 35, 7 – 25.

Matalin AV (2008) Evolution of biennal life cycles in ground beetles (Coleoptera, Carabidae) of the Western Palaeartic.*In* Penev L, Erwin T, Assmann T Back to the Roots and Back to the Future. Towards a New Synthesis between Taxonomic, Ecological and Biogeographical Approaches in Carabidology. Proceedings of the XIII European Carabidologists Meeting, Blagoevgrad, August 20-24, 2007. 259 – 284.

Matson P, Parton W, Power A & Swift M (1997) Agricultural intensification and ecosystem properties. Science 277, 504 – 509.

Mayntz D, Raubenheimer D, Salomon M, Toft S & Simpson SJ (2005) Nutrient-specific foraging in invertebrate predators. Science 307, 111-113.

de Mazancourt C, Isbell F, Larocque A, Berendse F, De Luca E, Grace JB, Haegeman B,Wayne Polley H, Roscher C, Schmid B, Tilman D, van Ruijven J, Weigelt A, Wilsey BJ & Loreau M (2013) Predicting ecosystem stability from community composition and biodiversity. Ecology Letters 16, 617 – 625.

McClelland JW & Montoya JP (2002) Trophic relationships and the nitrogen isotopic composition of amino acids in plankton. Ecology 83, 2173 – 2180.

McCutchan JH, Jr, Lewis WM, Kendall C & McGrath CC (2003) Variation in trophic shift for stable isotope ratios of carbon, nitrogen and sulphur. Oikos 102, 378 – 390.

McGrady-Steed J & Morin PJ (2000) Biodiversity, density compensation, and the dynamics of populations and functional groups. Ecology 81, 361 – 373.

McGrady-Steed J, Harris PM & Morin PJ (1997) Biodiversity regulates ecosystem predictability. Nature 390, 162 – 165.

McKinlay R, Plant JA, Bell JNB & Voulvoulis N (2008) Endocrine disrupting pesticides: implications for risk assessment. Environment International 34, 168 – 183.

Mestre L, Piñol J, Barrientos JA, Espadalera X, Brewitt K, Werner C & Platner C (2013) Trophic structure of the spider community of a Mediterranean citrus grove: A stable isotope analysis. Basic and Applied Ecology 14, 413 – 422.

Meusnier I, Singer GAC, Landry J-F, Hickey DA, Hebert PDN & Hajibabaei (2008) A universal DNA mini-barcode for biodiversity analysis. BMC Genomics 9, 214.

Meyer CP & Paulay G (2005) DNA barcoding: error rates based on comprehensive sampling. PLoS Biology 3, 2229 – 2238.

Millenium Ecosystem Assessment, 2005. Ecosystems and Human Well-Being. World Resources Institute, Washington, DC, 155 pp.

Miller SE (2007) DNA barcoding and the renaissance of taxonomy. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 104, 4775 – 4776.

Mills MGL (1992) A comparison of methods used to study food habits of large African carnivores. *In* McCulloch C, Barret RH, 1992. Wildlife 2001: Populations. Elsevier, London, 1163 pp.

Moore W & Di Giulio A (2006) Description and behavoiur of *Goniotropis kuntzeni* larvae (Coleoptera: Carabidae: Paussinae: Ozaenini) and a key to genera of Paussini larvae. Zootaxa 1111, 1 – 19.

Morise H, Miyazaki E, Yoshimitsu S & Eki T (2012) Profiling nematode communities in unmanaged flowerbed and agricultural field soils in Japan by DNA barcode sequencing. PLoS ONE 7, e51785.

Müller CB, Adriaanse ICT, Belshaw R & Godfray HCJ (1999) The structure of an aphid-parasitoid community. Journal of Animal Ecology 68, 346 – 370.

Nagel P (1979) Aspects of the evolution of myrmecophilous adaptations in Paussinae (Coleoptera, Carabidae). *In* Den Boer P, Luff ML, Mossakowski D, Weber F (Eds) Onthe Evolution of Behaviour in Carabid Beetles. Miscellaneous Papers 18, Landbouwhogeschool Wageningen, 15 – 34.

Naeem S & Li S (1997) Biodiversity enhances ecosystem reliability. Nature 390, 507 – 509.

Nature Biotechnology Editorial Board (2008) Prepare for the deluge. Nature Biotechnology 26, 1099.

Navaro J, Votier SC, Aguzzi J, Chiesa J, Forero MG & Phillips RA (2013) Ecological segregation in space, time and trophic niche of sympatric planktivorous petrels. PLoS ONE 8, e62897.

Ndoutoume-Ndong A, Rojas-Rousse D & Allemand R (2006) Locomotor activity rhythms in two sympatric parasitoid insects: *Eupelmus orientalis* and *Eupelmus vuilleti* (Hymenoptera, Eupelmidae). Comptes Rendus Biologies 329, 476-482.

Newsome SD, Clementz MT & Koch PL (2010) Using stable isotope biogeochemistry to study marine mammal ecology. Marine Mammal Science 26, 509 – 572.

Niemelä J (1993) Interspecific competition in ground-beetle assemblages (Carabidae): What have we learned? Oikos 66, 325 – 335.

Niemela J & Spence JR (1991) Distribution and abundance of an exotic ground-beetle (Carabidaea) test of community impact. Oikos 62, 351 – 359.

Nikoh N, Hosokawa T, Oshima K, Hattori M & Fukatsu T (2011) Reductive evolution of bacterial genome in insect gut environment. Genome Biolology and Evolution 3, 702–714.

Oerke EC (2006) Crop losses to pests. Journal of Agricultural Science 144, 31 – 43.

Oerke EC & Dehne HW (2004) Safeguarding-production losses in major crops and the role of crop protection. Crop Protection 23, 275 – 285.

Ohlberger J, Langangen Ø, Stenseth NC & Vøllestad LA (2012) Community-level consequences of cannibalism. The American Naturalist 180, 791-801.

O'Rorke R, Jeffs AG, Fitzgibbon Q, Chow S, Lavery S (2013) Extracting DNA from whole organism homogenates an the risk of false positives in PCR based diet studies: A case study using spiny lobster larvae. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 441, 1 – 6.

Pereira HM, Leadley PW, Proença V, Alkemade R, Scharlemann JPW, Fernandez-Manjarrés JF, Araújo MB, Balvanera P, Biggs R, Cheung WWL, Chini L, Cooper HD, Gilman EL, Guénette S, Hurtt GC, Huntington HP, Mace GM, Oberdorff T, Revenga C, Rodrigues P, Scholes RJ, Sumaila UR & Walpole M (2010) Scenarios for global biodiversity in the 21st century. Science 330, 1496 – 1501

Pimentel D (2005) Environmental and economic costs of the application of pesticides primarily in the United States. Environment, Development and Sustainability 7, 229 – 252.

Piñol J, San Andrés V, Clare EL, Mir G, Symondson WOC (2013) A pragmatic approach to the analysis of diets of generalist predators: the use of next-generation sequencing with no blocking probes. Molecular Ecology Resources, online in advance of print. doi:10.1111/1755-0998.12156

Pizzatto L, Marques OAV & Facure K (2009) Food habits of Brazilian boid snakes: overview and new data, with special reference to *Corallus hortulanus*. Amphibia-Reptilia 30, 533 – 544.

Platner C, Piñol J, Sanders D & Espadaler X (2012) Trophic diversity in a Mediterranean food web - Stable isotope analysis of an ant community of an organic citrus grove. Basic and Applied Ecology 13, 587 – 596.

Pocock MJO, Evans DM & Memmott J (2012) The robustness and restoration of a network of ecological networks. Science 335, 973 – 977.

Polis GA & Holt RD (1992) Intraguild predation: the dynamics of complex trophic interactions. Trends in Ecology and Evolution 7, 151–154.

Pollet M & Desender K (1987) Feeding ecology of grassland-inhabiting carabid beetles (Carabidae, Coleoptera) in relation to the availability of some prey groups. Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica 22, 223 – 246.

Pompanon F, Deagle BE, Symondson WOC, Brown DS, Jarman SN & Taberlet P (2012) Who is eating what: diet assessment using next generation sequencing. Molecular Ecolology 21, 1931 – 1950.

Ponsard S & Arditi R (2000) What stable isotopes (d15N and d13C) tell about the food web of soil macroinvertebrates. Ecology 81, 851 – 864.

Popa-Lisseanu A, Delgano-Huertas A, Forero M, Rodríguez A, Arlettaz R & Ibánez C (2007) Bats' conquest of a formidable foraging niche: the myriads of nocturnally migrating songbirds. PLoS One 2, e205.

Porco D, Decaens T, Deharveng L, James SW, Skarzynski D et al. (2013) Biological invasions in soil: DNA barcoding as a monitoring tool in a multiple taxa survey targeting European earthworms and springtails in North America. Biological Invasions 15, 899 – 910.

Post DM, Layman CA, Arrington DA, Takimoto G, Quattrochi J & Montaña CG (2007) Getting to the fat of the matter: models, methods and assumptions for dealing with lipids in stable isotope analyses. Oecologia 152, 179 – 189.

Prasad RP & Snyder WE (2006) Polyphagy complicates conservation biological control that targets generalist predators. Journal of Applied Ecology 43, 343–352.

Prieto-Benítez S & Méndez M (2010) Effects of land management on the abundance and richness of spiders (Araneae): A meta-analysis. Biological Conservation 144, 683– 691.

Puritz JB, Addison JA & Toonen RJ (2012) Next-Generation phylogeography: a targeted approach for multilocus sequencing of non-model organisms. PLoS ONE 7, e34241.

Ragsdale DW, Larson AD & Newsome LD (1981) Quantiative assessment of the predators of *Nezara viridula* eggs and nymphs within a soybean agroecosystem using an (ELISA). Environmental Entomology 10, 402 – 405.

Rainio J & Niemelä J (2003) Ground beetles (Coleoptera: Carabidae) as bioindicators. Biodiversity and Conservation 12, 487 – 506.

Rayé G, Miquel C, Coissac E, Redjadj C, Loison A & Taberlet P (2011) New insights on diet variability revealed by DNA barcoding and high-throughput pyrosequencing: chamois diet in autumn as a case study. Ecological Research 26, 265 – 276.

Razgour O, Clare EL, Zeale MRK, Hanmer J, Schnell IB, Rasmussen M, Gilbert TP & Jones G (2011) High-throughput sequencing offers insight into mechanisms of resource partitioning in cryptic bat species. Ecology and Evolution 1, 556 – 570.

R Development Core Team (2011). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.ISBN 3-900051-07-0, URL http://www.R-project.org/.

Reganold JP, Jackson-Smith D, Batie SS, Harwood RR, Kornegay JL, Bucks D, Flora CB, Hanson JC, Jury WA, Meyer D, Schumacher A Jr, Sehmsdorf H, Shennan C, Thrupp LA&Willis P (2011) Transforming U.S. Agriculture. Science 332, 670 – 671.

Reich K, Bjorndal K & Bolten A (2007) The "Lost Years" of green turtles: using stable isotopes to study cryptic life stages. Biology Letters 3, 712 – 714.

Reznikova Z & Dorosheva H (2004) Impacts of red wood ants *Formica polyctena* on the spatial distribution and behavioural patterns of ground beetles (Carabidae). Pedobiologia 48, 15-21.

Riaz T, Shehzad W, Viari A, Pompanon F, Taberlet P & Coissac E (2011) ecoPrimers: inference of new DNA barcode markers from whole genome sequence analysis. Nucleic Acids Research 39, e145.

Riesenfeld CS, Schloss PD & Handelsman J (2004) Metagenomics: genomic analysis of microbial communities. Annual Review of Genetics 38, 525 – 552.

Roger JL, Jambon O & Bouger G (2012) Clé des Carabidae des paysages agricoles du Nord-ouest de la France.

Ronaghi M, Uhlen M & Nyren P (1998) A sequencing method based on real-time pyrophosphate. Science 281, 363 – 365.

Rosegrant MW, Cai X & Cline SA, 2002. World Water and Food to 2025: Dealing with Scarcity 1 – 32 (International Food Policy Research Institute, 2002).

Royal Society of London, Reaping the Benefits: Science and the Sustainable Intensification of Global Agriculture (Royal Society, London, 2009).

Rubin BER, Ree RH & Moreau CS (2012) Inferring phylogenies from RAD sequence data. PLoS ONE 7, e33394.

Rubinoff D (2006) DNA barcoding evolves into the familiar. Conservation Biolology 20, 1548 – 1549.

Rubinoff D & Holland BS (2005) Between two extremes: mitochondrial DNA is neither the panacea nor the nemesis of phylogenetic and taxonomic inference. Systematic Biology 54, 92 – 961.

Ruess L, Häggblom MM, Grazía Zapata EJ & Dighton J (2002) Fatty acids of fungi and nematodes—possible biomarkers in the soil food chain? Soil Biology and Biochemistry 34, 745 – 756.

Ruess L, Langel R, Häggblom MM & Scheu S (2004) Nitrogen isotope ratios and fatty acids composition as indicators of animal diet in belowground systems. Oecologia 139, 336 – 346.

Telfer G & Butterfield EL (2004) The control of reproductive diapause in *Nebria salina* (Coleoptera: Carabidae). Ecological Entomology 29, 482 – 487.

Thiele HU ,1977. Carabid Beetles in their Environment: a Study on Habitat Selection by Adaptations in Physiology and Behaviour. Springer, Berlin, 369 pp.

Saggers CL & Goggin FL (2007) Isotopic enrichment in a phloem-feeding insect: infuences of nutrient and water availability. Oecologia 151, 464-472.

Sasakawa K (2011) Laboratory studies on larval food habits of two syntopic, related, granivorous ground beetles *Amara chalcites* and *A. congrua* (Coleoptera: Carabidae): a comparison with stable isotope analysis. Applied Entomology and Zoology 46, 511-518.

Sasakawa K, Ikeda H & Kubota T (2010) Feeding ecology of granivorous carabid larvae: a stable isotope analysis. Journal of Applied Entomolology 134, 116 – 122.

Saska P & Honek A (2004) Development of the beetle parasitoids, *Brachinus explodens* and *B. crepitans* (Coleoptera: Carabidae). Journal of Zoology 262, 29 – 36.

Saska P & Honek A (2005) Development of the ground-beetle parasitoids, *Brachinus explodens* and *B. crepitans* (Coleoptera: Carabidae): effect of temperature. *In* Lövei GL, Toft S (Eds), 2003. European Carabidology 2003. Proceedings of the 11th European Carabidologists' Meeting. DIAS Report 114, 267 – 274.

Schaefer PW, Barth SE & White HB (1996) Incidental capture of male *Epiaeschna heros* (Odonata: Aeshnidae) in traps designed for arboreal *Calosoma sycophanta* (Coleoptera: Carabidae). Entomological News 107, 261 – 266.

Scheu S & Falca M (2000) The soil food web of two beech forests (*Fagus sylvatica*) of contrasting humus type: stable isotope analysis of a macro- and a mesofauna-dominated community. Oecologia 123, 285 – 296.

Schill RO, Jonsson KI, Pfannkuchen M & Brummer F (2011) Food of tardigrades: a case study to understand food choice, intake and digestion. Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research 49, 66 – 70.

Schimmelmann A (2011) Carbon, nitrogen and oxygen stable isotope ratios in chitin. Topics in Geobiology 34, 81 – 103.

Schjøtz-Christensen B (1965) Biology and population studies of Carabidae of the Corynephoretum. Natura Jutlandica 11, 1 – 173, tables 1 – 89.

Schjøtz-Christensen B (1966) Biology of some ground beetles (Harpalus Latr.) of the Corynephoretum. Natura Jutlandica 12, 225 – 229.

Schjøtz-Christensen B (1968) Some notes on the biology of *Carabus hortensis* L. (Coleoptera, Carabidae). Natura Jutlandica 14, 127 – 154.

Schmidt JM & Rypstra AL (2010) Opportunistic predator prefers habitat complexity that exposes prey while reducing cannibalism and intraguild encounters. Oecologia 164, 899 – 910.

Schröter L & Irmler U (2013) Organic cultivation reduces barrier effect of arable fields on species diversity. Agriculture, Ecosystems and Environment 164, 176-180.

Schwartz MW, Brigham CA, Hoeksema JD, Lyons KG, Mills MH & van Mantgem PJ (2000) Linking biodiversity to ecosystem function: implications for conservation ecology. Oecologia 122, 297 – 305.

Sharon G, Segal D, Ringo JM, Hefetz A, Zilber-Rosenberg I & Rosenberg E (2010) Commensal bacteria play a role in mating preference of *Drosophila melanogaster*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 107, 20051–20056.

Shehzad W, Riaz T, Nawaz MA, Miquel C, Poillot C, Shah SA, Pompanon F, Coissac E & Taberlet P (2012) A universal approach for carnivore diet analysis based next generation sequencing: application to the leopard cat (*Prionailurus bengalensis*) in Pakistan. Molecular Ecology 21, 1951 – 1965.

Shennan C (2008) Biotic interactions, ecological knowledge and agriculture. Philosophical Transactions of the Royal Society B 363, 717 – 739.

Simberloff DS & Wilson EO (1969) Experimental zoogeography of islands: the colonization of empty islands. Ecology 50, 278 – 296.

Sint D, Raso L & Traugott M (2012) Advances in multiplex PCR: balancing primer efficiencies and improving detection success. Methods in Ecology and Evolution 3, 898 – 905.

Smith MA, Bertrand C, Crosby K, Eveleigh ES, Fernandez-Triana J, Fisher BL, Gibbs J, Hajibabaei M, Hallwachs W, Hind K, Hrcek J, Huang DW, Janda M, Janzen DH, Li Y, Miller SE, Packer L, Quicke D, Ratnasingham S, Rodriguez J, Rougerie R, Shaw MR, Sheffield C, Stahlhut JK, Steinke D, Whitfield J, Wood M & Zhou X (2012) Wolbachia and DNA barcoding insects: Patterns, potential, and problems. PLoS ONE 7, e36514.

Smith MA, Woodley NE, Janzen DH, Hallwachs W, Hebert PDN (2006) DNA barcodes reveal cryptic host-specificity within the presumed polyphagous members of a genus of parasitoid flies (Diptera: Tachinidae). Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 103, 3657 – 3662.

Snyder GB, Finke DL & Snyder WE (2008) Predator biodiversity strengthens aphid suppression across single- and multiple-species prey communities. Biological Control 44, 52 – 60.

Soe AR, Bartram S, Gatto N & Boland W (2004) Are iridoids in leaf beetle larvae synthesized de novo or derived from plant precursors? A methodological approach. Isotopes in Environmental and Health Studies 40, 175 – 180.

Soininen EM, Valentini A, Coissac E, Miquel C, Gielly L, Brochmann C, Brysting AK, Sonstebo JH, ims RA, Yoccoz NG & 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, 16.

Soininen EM, Zinger L, Gielly L, Bellemain E, Bråthen KA, Brochmann C, Epp LS, Gussarova G, Hassel K, Henden J-A, Killengreen ST, Rämä T, Stenøien, Yoccoz NG, Ims RA (2013) Shedding new light on the diet of Norwegian lemmings: DNA metabarcoding of stomach content. Polar Biology 36, 1069 – 1076.

Sotherton NW & Self MJ (2000) Changes in plant and arthropod diversity on lowland farmland: an overview. *In* The Ecology and Conservation of Lowland Farmland Birds (Aebischer NJ, Evans AD, Grice PV & Vicker JA eds), pp. 26 – 35, British Ornithologists' Union.

Sotiropoulos MA, Tonn WM & Wassenaar LI (2004) Effects of lipid extraction on stable carbon and nitrogen isotope analyses of fish tissues: potential consequences for food web studies. Ecology of Freshwater Fish 13, 155 – 160.

Southwood TRE, 1978. The components of diversity. Diversity of Insect Faunas, Royal Entomological Society Symposium 9 (ed. by L. A. Mound and N. Waloff), pp. 19–40. Blackwell Scientific Publications, Oxford, 204 pp.

Starý P, 1970. Biology of aphid parasites (Hymenoptera: Aphidiidae) with respect to integrated control. Series Entomologica 6, Junk W, The Hague, 643 pp.

Staudacher K, Schallhart N, Thalinger B, Wallinger C, Juen A & Traugott M (2013) Plant diversity affects behaviour of generalist root herbivores, reduces crop damage and enhances crop yield. Ecological Applications 23, 1135 – 1145.

Stern N, 2007. The Economics of Climate Change. Cambridge, UK: Cambridge University Press, 712 pp.

Stokstad E & Grullón G (2013) Pesticide planet. Science 341, 1 – 2.
Stork NE (1987) Adaptations of arboreal carabids to life in trees. Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica 22, 273 – 91.

Stork NE (Ed), 1990. The role of ground beetles in ecological and environmental studies. Proceedings of the 7th European Carabidologists' Meeting. Intercept, Andover, Hampshire, 424 pp.

Stouffer D (2010) Scaling from individuals to networks in food webs. Functional Ecology 24, 44 – 51.

Stuart YE & Losos JB (2013) Ecological character displacement: glass half full or half empty? Trends in Ecology and Evolution 28, 402 – 408.

Sunderland KD (1975) The diet of some predatory arthropods in cereal crops. Journal of Applied Ecology 12, 507 – 515.

Sunderland KD (2002) Invertebrate pest control by Carabids. *In* Holland JM, 2002. The Agroecology of Carabid Beetles. Intercept Ltd, UK, 356 pp.

Sunderland KD, Crook NE, Stacey DL & Fuller BJ (1987) A study of feeding by polyphagous predators on cereal aphids using ELISA and gut dissection. Journal of Applied Ecology 24, 907 – 933.

Sunderland KD, Lovei GL & Fenlon J (1995) Diets and reproductive phenologies of the introduced ground beetles *Harpalus afinis* and *Clivina australasiae* (Coloeptera: Carabidae) in New Zealand. Australian Journal of Zoology43, 39 – 50.

Suttle KB, Thomsen MA & Power ME (2007) Species interactions reverse grassland responses to changing climate. Science 315, 640 – 642.

Sweeting CJ, Polunin NVC, Jennings S (2006) Effects of chemical lipid extraction and arithmetic lipid correction on stable isotope ratios of fish tissues. Rapid Communications in Mass Spectrometry 20, 595 – 601.

Symondson WOC (2000) Diagnostic techniques for determining carabid diets. *In* Holland JM, 2002. The Agroecology of Carabid Beetles. Intercept Ltd, UK, 356 pp.

Symondson WOC (2002) Molecular identification of prey in predator diets. Molecular Ecology 11, 627 – 641.

Symondson WOC & Liddell JE (1995) Decay rates for slug antigens within the carabid predator *Pterostichus melanarius* monitored with a monoclonal antibody. Ecologia Experimentalis et Appplicata 75, 245 – 250.

Symondson WOC, Sunderland KD & Greenstone MH (2002) Can generalist predators be effective biocontrol agents? Annual Review of Entomology 47, 561 – 594.

Szyszko J, Gryuntal S & Schwerk A (2004) Differences in locomotory activity between male and female *Carabus hortensis* (Coleoptera: Carabidae) in a pine forest and a beech forest in relation to feeding state. Environmental Entomology 33, 1442 – 1446.

Taberlet P, Coissac E, Pompanon F, Brochmann C, Willerslev E (2012c) Towards next-generation biodiversity assessment using DNA metabarcoding. Molecular Ecology 21, 2045 – 2050.

Taberlet P, Coissac E, Pompanon F, Gielly L, Miquel C, Valentini A, Vermat T, Corthier G, Brochmann C & Willerslev E (2007b) Power and llimitations of the chloroplast *trn*L (UAA) intron for plant DNA barcoding. Nucleic Acid Research 35, *e14*.

Taberlet P, Prud'homme SM, Campione E, Roy J, Miquel C, Shehzad W, Gielly L, Rioux D, Choler P, Clément J-C, Melodelima C, Pompanon F & Coissac E (2012a) Soil sampling and isolation of extracellular DNA from large amount of starting material suitable for metabarcoding studies. Molecular Ecology 21, 1816 – 182.

Telfer G & Butterfield EL (2004) The control of reproductive diapause in *Nebria salina* (Coleoptera: Carabidae). Ecological Entomology 29, 482 – 487.

Tester M & Langridge P (2010) Breeding technologies to increase crop production in a changing world. Science 327, 818 – 822.

Thébault E & Fontaine C (2010) Stability of ecological communities and the architecture of mutualistic and trophic networks. Science 329, 853 – 856.

Thiele HU (1977) Carabid Beetles in Their Environments. BerlidHeidelberg: Springer-Verlag. 369 pp.

Thies C, Roschewitz I & Tscharntke T (2005) The landscape context of cereal aphid-parasitoid interactions. Proceedings of the Royal Society B 272, 203 – 210.

Thomas SR, Noordhuis R, Holland JM & Goulson D (2002) Botanical diversity of beetle banks effects of age and comparison with conventional arable field margins in southern UK. Agriculture, Ecosystems and Environment 93, 403 – 412.

Thompson RM, Brose U, Dunne JA, Hall Jr RO, Hladyz S, Kitching RL, Martinez ND, Rantala H, Romanuk TN, Stouffer DB, Tylianakis JM. (2012) Food webs: reconciling the structure and function of biodiversity. Trends in Ecology and Evolution 27, 689 – 697.

Tilman D (1996) Biodiversity: population versus ecosystem stability. Ecology 77, 350 – 363.

Tilman D (1999) The ecological consequences of changes in biodiversity: a search for general principles. Ecology 80, 1455 – 1474.

Tilman D (1999) Global environmental impacts of agricultural expansion: the need for sustainable and efficient practices. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 96, 5995 – 6000.

Tilman D & Downing AL (1994) Biodiversity and stability in grasslands. Nature 367, 363 – 365.

Tilman D (2004) Niche tradeoffs, neutrality, and community structure: a stochastic theory of resource competition, invasion, and community assembly. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 101, 10854 – 10861.

Tilman D, Fargione J, Wolff B, D'Antonio C, Dobson A, Howarth R, Schindler D, Schlesinger WH, Simberloff D & Swackhamer D (2001) Forecasting agriculturally driven global environmental change. Science 292, 281 – 284.

Tixier P, Dagneaux D, Mollot G, Vinatier F & Duyck PF (2013) Weeds mediate the level of intraguild predation in arthropod food webs. Journal of Applied Entomology 137, 702-710.

Tixier P, Peyrard N, Aubertot J-N, Gaba S, Radoszycki J, Caron-Lormier G, Vinatier F, Mollot G & Sabbadin R (2013) Modelling interaction networks for enhanced

ecosystem services in agroecosystems. Advances in Ecological Research 49, 435 – 477.

Tooley J & Brust GE (2002) Weed seed predation by carabid beetles. *In* Holland JM, 2002. The Agroecology of Carabid Beetles. Intercept Ltd, UK, 356 pp.

Traugott M, Bell JR, Raso L, Sint D & Symondson WOC (2012) Generalist predators disrupt parasitoid aphid control by direct and coincidental intraguild predation. Bulletin of Entomological Research 102, 239 – 247.

Traugott M, Kamenova S, Ruess L, Seeber J & Plantegenest M (2013) Empirically characterising trophic networks: What emerging DNA-based methods, stable isotope and fatty acid analyses can offer. Advances in Ecological Research 49, 175 – 222.

Tylianakis JM, Tscharntke T & Lewis OT (2007) Habitat modification alters the structure of tropical host-parasitoid food webs. Nature 445, 202 – 205.

Ulrich W (2007) Body weight distributions of central European Coleoptera. European Journal of Entomology 104, 769-776.

Urban J & Lebeda A (2006) Fungicide resistance in cucurbit downy mildew-methodological, biological and population aspects. Annals of Applied Biology 149, 63 – 75.

Vlijm L, van Dijk TS & Wijmans SY (1968) Ecological studies on carabid beetles. III. Winter mortality in adult *Calathus melanocephalus* (Linn.). Egg production and locomotory activity of the population which has hibernated. Oecologia 1, 304 – 314.

Wallin H & Ekbom BS (1988) Movements of carabid beetles (Coleoptera: Carabidae) inhabiting cereal fields: a field tracing study. Oecologia 77, 39 – 43.

Webb SC, Hedges REM, Simpson SJ (1998) Diet quality influences the d13C and d15N of locusts and their biochemical components. Journal of Experimental Biology 201, 2903 – 2911.

Whitworth TL, Dawson RD, Magalon H & Baudry E (2007) DNA barcoding cannot reliably identify species of the blowfly genus Protocalliphora (Diptera: Calliphoridae). Proceedings of the Royal Society of London B 274, 1731 – 1739.

Wiens JJ, Ackerly DD, Allen AP, Anacker BL Buckley LB, Cornell HV, Damschen EI, Jonathan Davies T, Grytnes JA, Harrison SP, Hawkins BA, Holt RD, McCain CM, Stephens PR (2010) Niche conservatism as an emerging principle in ecology and conservation biology. Ecology Letters 13, 1310 – 1324.

Wilson C & Tisdell C (2001) Why farmers continue to use pesticides despite environmental, health and sustainability costs. Ecological Economics 39, 449 – 462.

Wilson EE & Wolkovich EM (2011) Scavenging: how carnivores and carrion structure communities. Trends in Ecology and Evolution 26, 129 – 135.

Wimp GM, Murphy SM, Lewis D, Douglas MR, Ambikapathi R, Van-Tull L, Gratton C & Denno RF (2013) Predator hunting mode influences patterns of prey use from grazing and epigeic food webs. Oecologia 171, 505 – 515.

Wizen G & Gasith A (2011) Predation of amphibians by carabid beetles of the genus Epomis found in the central coastal plain of Israel. *In* Kotze DJ, Assmann T, Noordijk J, Turin H, Vermeulen R (Eds) 2011. Carabid Beetles as Bioindicators: Biogeographical, Ecological and Environmental Studies. ZooKeys 100, 181 – 191.

Wolff A, Paul J-P, Martin J-L & Bretagnolle V (2001) The benefits of extensive agriculture to birds: the case of the little bustard. Journal of Applied Ecology 38, 963 – 975.

Wratten SD, Gillespie M, Decourtye A, Mader E & Desneux N (2012) Pollinator habitat enhancement: Benefits to other ecosystems services. Agriculture, Ecosystems and Environment 159, 112 – 122.

Yachi S & Loreau M (1999) Biodiversity and ecosystem productivity in a fluctuating environment: the insurance hypothesis. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 96, 1463 – 1468.

Yoccoz NG, Bråthen KA, Gielly L, Haile J, Edwards ME, Goslar T, von Stedingk H, Brysting AK, Coissac E, Pompanon F, Sønstebø JH, Miquel C, Valentini A, de Bello F, Chave J, Thuiller W, Wincker P, Cruaud C, Gavory F, Rasmussen M, Gilbert MTP, Orlando L, Brochmann C, Willerslev E & Taberlet P (2012) DNA from soil mirrors plant taxonomic and growth form diversity. Molecular Ecology 21, 3647–3655.

Young OP (2008) Body weight and survival of *Calosoma sayi* (Coleoptera: Carabidae) during laboratory feeding regimes. Annals of the Entomological Society of America 106, 104 – 112.

Valentini A, Miquel C, Nawaz MA, Bellemain E, Coissac E et al (2009a) New perspectives in diet analysis based on DNA barcoding and parallel pyrosequencing: the trnL approach. Molecular Ecology Resources 9, 51 – 60.

Valentini A, Pompanon F & Taberlet P (2009b) DNA barcoding for ecologists. Trends in Ecology and Evolution 24, 110 – 117.

Vanderklift MA & Ponsard S (2003) Sources of variation in consumer-diet δ15N enrichment: a meta-analysis. Oecologia 136, 169 – 182.

Vander Zanden MJ, Rasmussen JB (2001) Variation in d15N and d13C trophic fractionation: implications for aquatic food web studies. Limnology and Oceanography 46, 2061 – 2066.

Vences M, Thomas M, Bonett RM & Vieites DR (2005b) Deciphering amphibian diversity through DNA barcoding: chances and challenges. Proceedings of the Royal Society B 360, 1859 – 1868.

Vences M, Thomas M, van der Meijden A, Chiari Y & Vieites DR (2005a) Comparative performance of the 16S rRNA gene in DNA barcoding of amphibians. Frontiers in Zoology 2, 5.

Vergé X, DeKimpe C & Desjardins R (2007) Agricultural production, greenhouse gas emissions and mitigation potential. Agricultural and Forest Meterology 142, 255 – 269.

Vestheim H & Jarman SN (2008) Blocking primers to enhance PCR amplification of rare sequences in mixed samples – a case study on prey DNA in Antarctic krill stomachs. Frontiers in Zoology 5, 11.

Voigt CC & Matt F (2004) Nitrogen stress causes unpredictable enrichments of 15N in two nectar-feeding bat species. The Journal of Experimental Biology 207, 1741-1748.

Volterra V (1926) Variazione e fluttuazione del numero d'individiu in specie animali conviventi. *Mem. R.* Accademia Nazionale *dei Lincei* 2, 31 – 113. (Translated in Chapman RN, 1931. Animal ecology. New York: McGraw-Hill.)

Wallinger C, Juen A, Staudacher K, Schallhart N, Mitterrutzner E, Steiner E-M, Thalinger B & Traugott M (2012) Rapid plant identification using species- and group-specific primers targeting chloroplast DNA. PLoS One 7, e29473.

Walton MP, Powell W, Loxdale HD & Allenwilliams L (1990) Electrophoresis as a tool for estimating levels of Hymenopterous parasistism in field populations of the cereal aphid, *Sitobion avenae*. Entomologia Experimentalis et Applicata 54, 271 – 279.

Warner DJ, Allen-Williams LJ, Warrington S, Ferguson AW & Williams IH (2003) Mapping, characterisation, and comparison of the spatio-temporal distributions of cabbage stem flea beetle (*Psylliodes chrysocephala*), carabids, and Collembola in a crop of winter oilseed rape (*Brassica napus*). Entomologia Experimentalis et Applicata 109, 225-234.

Willerslev E, Hansen AJ, Poinar HN (2004) Isolation of nucleic acids and cultures from fossil ice and permafrost. Trends in Ecology and Evolution 19, 141 – 147.

Wilson EE & Wolkovich EM (2011) Scavenging: how carnivores and carrion structure communities. Trends in Ecology and Evolution 26, 129-135.

Wilson EE, Young CV & Holway DA (2010) Predation or scavenging? Thoracic muscle pH and rates of water loss reveal cause of death in arthropods. The Journal of Experimental Biology 213, 2640-2646.

Winqvist C, Bengtsson J, Aavik T, Berendse F, Clement LW, Eggers S, Fischer C, Flohre A, Geiger F, Liira J, Part T, Thies C, Tscharntke T, Weisser WW & Bommarco

R (2011) Mixed effects of organic farming and landscape complexity on farmland biodiversity and biological control potential across Europe. Journal of Applied Ecology 48, 570-579.

World Resources Institute, 1998. World Resources, 1998/1999.A joint publication of the World Resources Institute (WRI), the United Nations Environment Programme (UNEP), the United Nations Development Programme (UNDP) and the World Bank.Oxford University Press, New York and Oxford, UK, 370pp.

Yelton AP, Comolli LR, Justice NB, Castelle C, Denef VJ, Thomas BC & Banfield JF (2013) Comparative genomics in acid mine drainage biofilm communities reveals metabolic and structural differentiation of co-occurring archaea. BMC Genomics 14, 485.

Zaidi RH, Jaal Z, Hawkes NJ, Hemingway J & Symondson WOC (1999) Can multiple-copy sequences of prey DNA be detected amongst the gut contents of invertebrate predators? Molecular Ecology 8, 2081 – 2087.

Zaller JG, Moser D, Drapela T & Frank T (2009) Ground-dwelling predators can affect within-field pest insect emergence in winter oilseed rape fields. BioControl 54, 505-514.

Zangger A, Lys J-A & Nentwig W (1994) Increasing the availability of food and the reproduction of *Poecilus cupreus* in a cereal field by strip-management. Entomologia Experimentalis et Applicata 71, 111 – 120.

Zeale MR, Butlin RK, Barker GLA, Lees DC & Jones G (2011) Taxon-specific PCR for DNA barcoding arthropod prey in bat faeces. Molecular Ecology Resources 11, 236-2.

ANNEXE 1: Analyse des dynamiques spatio-temporelles des populations de carabes dans un paysage agricole breton

Nous avons analysé ici les données des suivis de populations de carabes, réalisés dans le cadre du projet ANR “Landscaphid”, au sein de la zone-atelier “Armorique”, Ille-et-Vilaine. Le jeu de données couvre deux années d’échantillonnages, réalisés dans vingt-cinq parcelles de grandes cultures. Notre but a été de rechercher des patrons de différentiation de niche au sein des communautés de carabes à une échelle spatio-temporelle plus large (e.g. la parcelle et la date d’échantillonnage). Pour cela nous avons comparé le degré de différentiation observé entre les espèces présentes dans notre zone d’étude et le degré de différentiation au sein de communautés générées aléatoirement. Ce travail apporte des éléments intéressants pour répondre à notre deuxième objectif de thèse, qui s’intéresse aux mécanismes de coexistence entre espèces et aux applications potentielles que l’on peut tirer pour l’optimisation des services rendus.

Les détails des protocoles ainsi que les résultats sont présentés sous forme d’un manuscrit d’article ci-dessous.

Patterns of coexistence in generalist insects' assemblages - the case of carabid beetles in agricultural landscapes

S. Kamenova[1,2]*, A. Marie[2]*, M. Cateine[2] & M. Plantegenest[2]

[1]Centre d'Etudes Biologiques de Chizé, Villiers-en-Bois, France
[2]UMR 1349 Institut de Génétique, Environnement et Protection des Plantes, Rennes, France

*These authors contributed equally

Correspondence
Manuel Plantegenest: plantage@agrocampus-ouest.fr

Keywords: biodiversity, agriculture, assembly rules, niche theory, community ecology

Abstract

Understanding forces driving patterns of coexistence in natural assemblages is a central question in community ecology. Indeed, identify mechanisms structuring species interactions could provide valuable tool for the conservation and management of biodiversity. In agricultural areas, carabid beetles form a rich and abundant community with a high potential for the natural regulation of pests. However, factors operating their diversity in apparently homogenous agro-ecosystems are not completely elucidated. We investigated possible niche partitioning in carabid beetles communities by analyzing spatio-temporal dynamics in a common arable landscape. We observed significant degree of niche partitioning among carabid species present in our study area, compared to randomly generated assemblages. Our results suggest that the homogeneity of agricultural landscapes is only apparent and that the dynamic and heterogeneous mosaic of habitats allows persistence of functionally diversified carabid communities. These findings point out the importance of ago-ecosystems as drivers of biodiversity and the aspiring contribution of functional diversity for the provisioning of ecosystem services as biological control.

Introduction

The relative influence of niche differentiation and dispersal on community assemblage is an old debate in community ecology. This question has been especially popularized by the work of McArthur. On one hand, his classical theory of island biogeography assigned to dispersal a major role in the local assemblage of species (MacArthur & Wilson 1967). On the other hand, his seminal work on American warblers advocated the major role of niche differentiation in promoting the local coexistence of species (MacArthur 1958). This old debate has been recently revitalized notably by the major contributions of Hubbell (Hubbell 1997, 2001) and Tilman (2004) and is currently a very active field of research.

Agricultural areas received significant attention by community ecologists these recent years. Beyond concerns about long-term food security and ecosystem services natural communities might provide in agro-ecosystems (meadows productivity, pollination, regulation of pests, maintenance of nutrients cycles) (Zhang et al. 2007), interest for agro-ecosystems arose from the complex and diversified communities they harbor (Macfadyen et al. 2009; Pocock et al. 2012). Earlier advancements in community ecology have focused chiefly on natural ecosystems, especially tropical rainforests (Simberloff & Wilson 1969; Jabot & Chave 2011). Meanwhile, the development of agroecology and the necessity for a better understanding of agricultural biodiversity and services it provides have rendered agricultural areas a perfect playing field to address fundamental ecological questions. Indeed, managed agroecosystems with their moderate levels of biodiversity could be seen as relatively simple model systems for large-scale studies in community ecology.

Carabid beetles are among the most diversified groups of organisms encountered in temperate agricultural ecosystems (Melnychuk et al. 2003; Gobbi & Fontaneto 2008). In a typical European arable landscape, one may find more than 400 species (Allen 1979). Nearly 100 species are regularly sampled in agricultural fields in the restricted area of the *LTER* site “Zone Atelier Armorique”, Brittany, France. This large diversity remains puzzling considering the strong homogeneity of crop fields that suggests a relatively low numbers of available distinct niches. One possible explanation could be that habitat instability resulting from agricultural practices results in ecosystem being highly unsaturated and species experiencing frequent events of colonization and extinction (Elzinga et al. 2007; Rauch & Weisser 2007). Such instable dynamics could relax competition between species and hence promote their coexistence by suppressing the exclusion of poor competitors. Community assemblages of carabid

beetles in agricultural fields would be, as a consequence, mostly driven by more or less random dispersal.

However, carabid beetles are generally viewed as possessing poor dispersal capacity (Petit & Burel 1998). In addition, the taxonomic homogeneity of carabid beetles hides a wide phenotypic diversity (Holland 2002). Their trophic regime ranges from exclusively phytophagous or granivorous to specialist or generalist carnivorous including omnivorous species able to feed on a wide variety of resources (Larochelle 1990; Holland 2002). A large variation in size is also observed with species size ranging between an average of 2.5mm and 40mm in the area under study (Roger et al. 2012). Species also exhibit large variation in dispersal ability and lifecycles (Thiele 1977; den Boer et al. 1980; den Boer &den Boer-Daanje 1990). Some species are wingless when the others are winged or even polymorphic. Some species are autumn-breeders, spring-breeders or both that generally results in overwintering at different stages. Possibilities of niche-differentiation are accordingly important. Consequently, the number of species actually coexisting in the same place and at the same time and exploiting the same pool of resources could be much more reduced than it seems at first glance. In this work, we aimed at assessing whether and in what extent carabid communities exploiting agricultural fields actually exhibit patterns of random assemblage or, conversely, whether they exhibit patterns of spatial, temporal and trophic differentiation. To this purpose, we compared the observed degree of niche overlapping to the one expected by random assemblage in a community of carabids monitored in a large sample of fields in a typical agricultural landscape of Western France.

Material and Methods

Sampling protocol

The sampling *LTER* area 'ZA Armorique', situated in the south of the Mont St-Michel Bay, Brittany, France (48° 36' N, 1° 32' W) is a typical western European agricultural landscape. This study area is characterized by a gradient of agricultural intensification from the South to the North of the area (fig. 1). The southern part is characterized by a denser hedgerows network (160m/ha *vs* 70m/ha in the North) and by a higher proportion of pastures and of semi-natural habitats. Extreme temperature means oscillate between 6°C (January) and 18,2°C (August). Sampling sessions took place in 2010-2011 between April and July. Twenty-five agricultural fields of three different crop types (cereals, oilseed rape and leguminous) were selected along the gradient of

agricultural intensification. In each field, three randomly chosen pitfall traps (H=120 mm, Ø 8,5 cm) were placed. In 2010, carabid community was monitored continuously by emptying pitfall traps every 7 days (9 dates of sampling). In 2011, traps were opened for 7 days, every 2 weeks to reduce the number of captures (5 dates of sampling). Collected beetles were sorted in the laboratory, identified to the species level and stored in alcohol 96° in a dark chamber. For each sampling point and for each sampling date, abundance and richness of carabid beetles were recorded.

Statistical analyses

All data analyses were computed in R 3.0.1 (R Core Team, 2013). Carabid richness and abundances were compared using linear models (R *lm* function). Only species with more than one individual captured during the whole sampling season were kept for niche partitioning analysis. Pairwise spatio-temporal overlapping of species was estimated using Pianka's index (Pianka 1973). The degree of spatio-temporal overlapping of species *i* and *j* is given by

$$(1) \qquad O_{ij} = O_{ji} = \frac{\sum_{k=1}^{n} p_{jk}\ p_{ik}}{\sqrt{\sum_{k=1}^{n} (p_{jk}^{2})(p_{ik^2})}}$$

where p*jk* is the proportion of individuals of the species j caught in the combination between a field and a date k, and, p*ik* is the proportion of individuals of the species *i* caught in the same combination of field and date k. Pianka indexes were calculated for each couple of species, using *pgirmess* package (Giraudoux 2013). Then, Pianka's index was used as an index of similarity between species. To visualize species proximity in terms of spatio-temporal niche overlapping, unrooted trees were made using Neighbor Joining (NJ) with Pianka's dissimilarities (D*ij* =1- O*ij*) as a measure of the distance between species (*ape* package, Paradis et al. 2004).

Differences in the magnitude of Pianka's indexes between diets were checked using non-parametrical Kruskall-Wallis tests and comparison between each modality was made with Kruskal *mc* function in *pgirmess* package (Giraudoux 2013). To compare carabid distributions we observed to random situation (null hypothesis), we realized a randomization of individuals within each combination of field and sampling date, assuming that each combination can host a given number of individual regardless of species.

Diet and size species were collected from literature (Jeannel 1941; Larochelle 1990; Ribera et al. 1999;Purtauf et al. 2004; Ulrich & Zalewski 2006) and only records for adults were taken into accont. Thus, species were classified as generalist or specialist carnivorous, omnivorous (mixed diet of animals and plants) and phytophagous, when plant matter dominated in the diet. Concerning average size of each species, we grouped carabid beetles intofour size classes according to Schirmel et al. (2012): T1 if inferior to 5mm, T2 from 5mm to 9mm, T3 from 9mm to 15mm, and T4 if superior to 15mm.

Results

In total, we collected 16900 individuals from 69 different species in 2010 and 7864 individuals from 50 different species in 2011. The most dominant species for both years were *Poecilus cupreus* (fig. 2a,b). 55% of species were common to both years. Only one individual represented 22% and 26% of species over the entire sampling period in 2010 and in 2011, respectively. We observed significant differences in terms of total abundance between fields ($p<0.001$ for both 2010 and 2011) but not between crop types ($p=0.605$ and $p=0.107$ for 2010 and 2011 respectively) or sampling dates ($p=0.419$ and $p=0.328$ for 2010 and 2011 respectively) within a year of sampling. There were also no significant differences between years in terms of total abundance ($p=0.419$).

Pianka's indexes varied from 0-0.88 (mean 0.11) in 2010, and between 0-0.98 (mean 0.14) in 2011. According to neighbor joining (NJ) trees (fig. 3a, b) species were quite well separated from each other but species, which were close in 2010, were not anymore in 2011 as *Poecilus cupreus* and *Amara similata*, for example.

Comparison between NJ trees obtained with observed data and NJ trees obtained by random permutation showed that species niche differentiation is much higher than expected under the null hypothesis of random assemblage of species. Mean Pianka's index value was significantly lower than expected by chance both in 2010 and 2011. By construction Pianka's index was generally low between pairs of species including at least one rare species. Consequently, the contrast between observed niche differentiation and its expectation under random assembly hypothesis was particularly marked when abundant species (represented by > 60 individuals) were considered. The most obvious difference between the two NJ trees was that random assemblages resulted in clustering of all abundant species even though they were actually spread over the entire tree.

Indexes in random distribution of individual through time and space were higher than in the real observations and this was particularly true for the most abundant species (fig. 3a, b). Indeed, Pianka's indexes for random distribution ranged from 0-0.98 (mean 0.26) in 2010, and from 0-0.96 (mean 0.31) in 2011. When distributed randomly, Pianka's indexes between abundant species ranged from 0.57-0.98 (mean 0.83) in 2010 and from 0.50-0.96 (mean 0.78) in 2011, whereas for observed distributions, they ranged from 0-0.66 (mean 0.22) in 2010 and from 0.037-0.66 (mean 0.28) in 2011. If individuals were distributed randomly, widespread species should be really associated but it seems that those species, in our case, tend to get separated from each other, which appears clearly in neighbor joining trees (fig.3 a b).

In most cases, when a significant spatio-temporal niche overlapping occured between a group of species, the assemblage was composed of species differing in size and diet. For instance, the most clustered group of species observed in 2010 included four phytophagous species, four carnivorous species and three omnivorous species (fig. 3a). Moreover, the four most abundant species included one phytophagous (*Amara similata*), one carnivorous (*Brachinus sclopeta*) and two omnivorous (*Poecilus cupreus* and *Anchomenus dorsalis*). There was some exception for some small carnivorous species in 2010 but this might be because the spatio-temporal scale was too broad and they better responded to a smaller spatial scale as it has been shown in Kamenova et al. (*submitted*), where *Phyla obtusa* and *Bembidion quadrimaculatum,* two small carnivorous carabid beetles, which occur in the same place and time, differ in circadian rhythm and vertical stratum.

Concerning diets, mean of indexes were not significantly different when species had the same diet compared to when diets were different ($p=0.221$) (fig. 4). But there was a significant difference between mean of indexes for different diet combinations ($p<0.001$). Each association, which involved a carnivorous species, showed a lower mean of indexes then other association, especially when the diet of the two species was carnivorous (mean=0.026). This implies that especially carnivorous species seemed to avoid each other. Other associations between species with the same diet, phytophagous/phytophagous or omnivorous/omnivorous showed higher indexes implying that they do not exclude themselves as much as carnivorous.

Discussion

The main result that arose from our study is that, despite the apparent homogeneity of agricultural systems, the highly diversified carabid community exhibits a strong signature of spatio-temporal and trophic niche-differentiation. Moreover the apparent

richness of carabid community seems an artifact provoked by the mixture of observations carried out at a relatively large temporal scale and at the landscape scale. At a more functional scale (a short period of time and a field), carabid communities show a much lower species richness and assemblages are generally made of a few species differing in trophic regime and size. This latter trait being generally related to the size of preferred preys can be considered as a proxy of trophic regime (Loreau 1983). In some cases, habitat sharing could denote some functional relationship between species. For instance, it is noticeable that *Brachinus sclopeta* seems to share its preferred habitat with *Amara similata* especially in 2011. Yet, it has been showed by Saska and Honek (2004) that two other species of *Brachinus* develop as an ectoparasitoid of carabid beetles belonging to the *Amara* genus. This apparent niche sharing could then actually result from a host-parasitoid interaction. In conclusion, apparent carabid richness is probably rather an effect of the structure of agricultural landscape characterized by a heterogeneous mosaic of habitats than of the local coexistence of a highly diversified community.

This finding also provides a consistent explanation to the surprisingly high level of biodiversity observed in agricultural systems compared to natural ecosystems such as forest (Latty et al. 2006) or Mediterranean maquis (Kaltsas et al. 2012) that are more homogeneous at the landscape scale. This view seems contradictory to the reputation of many carabid beetles to be very opportunistic feeders. However, this contradiction could be solved if one considers much strict ecological requirements at larval stage as suggested by previous authors (Lövei & Sunderland 1996).

From an applied point of view in relation to the ecosystem service of pests and weeds regulation provided by carabid beetles, these findings have profound implications. It suggests that carabid communities are not a collection of largely exchangeable species but rather an association of complementary species. Hence carabid beetles' community seems not to exhibit a large degree of functional redundancy and the efficient and continuous in space and time provision of ecosystem services would require a high integrity of carabid biodiversity. This confirms the work of Trichard et al. (2013) and Jonason et al. (2013) who found that quality of weed control was more correlated to carabid biodiversity than to total abundance.

Conclusion

In conclusion, our work suggests that despite the strong instability in cultivated fields and despite their opportunistic feeding behaviour, carabid community seems to be more structured by niche-assembly rules rather by dispersal-assembly rules. This

suggests a functional complementarity rather than redundancy between carabid species. This advocates the value of biodiversity of biocontrol agent for the efficient provision of the ecosystem service of pests and weeds control.

References

Allen RT (1979) The occurrence and importance of ground beetles in agricultural and surrounding habitats. *In*: Halpern AL (Ed.) Carabid Beetles. Junk Publishers, pp. 485–505.

den Boer PJ & den Boer-Daanje W (1990) On life-history tactics in carabid beetles: are there only spring and autumn breeders? *In*: Stork NE (Ed.) The Role of Ground Beetles in Ecological and Environmental Studies. Intercept, Andover, pp. 247–258.

den Boer PJ, van Huizen THP, den Boer-Daanje W, Aukema B & den Bieman CFM (1980) Wing polymorphism and dimorphism as stages in an evolutionary process (Coleoptera, Carabidae). Entomologia Generalis 6, 107-134.

Elzinga JA, van Nouhuys S, van Leeuwen D-J & Biere A (2007) Distribution and colonisation ability of three parasitoids and their herbivorous host in a fragmented landscape. Basic and Applied Ecology 8, 75-88.

Giraudoux P (2013) pgirmess: Data analysis in ecology. R package version 1.5.7. http://CRAN.R-project.org/package=pgirmess

Gobbi M & Fontaneto D (2008) Biodiversity of ground beetles (Coleoptera: Carabidae) in different habitats of the Italian Po lowland. Agriculture, Ecosystems and Environment 127, 273-276.

Hubbell SP (1997) A unified theory of biogeography and relative species abundance and its application to tropical rain forests and coral reefs. Coral Reefs 16, Suppl.: S9-S21.

Hubbell SP (2001) The Unified Neutral Theory of Biodiversity and Biogeography.Monographs in Population Biology, Princeton Univ. Press, Princeton.

Holland JM (2002) The Agroecology of Carabid Beetles. Intercept Ltd, UK.

Jabot F & Chave J (2011) Analyzing Tropical Forest Tree Species Abundance Distributions Using a Nonneutral Model andthrough Approximate Bayesian Inference. The American Naturalist 178, pp. E37-E47.

Jeannel R (1941) Coléoptères Carabiques, Faune de France.

Jonason D, Smith HG, Bengtsson J & Birkhofer K (2013) Landscape simplification promotes weed seed predationby carabid beetles (Coleoptera: Carabidae). Landscape Ecology 28, 487-494.

Kaltsas D, Trichas A& Mylonas M (2012) Temporal organization patterns of epigean beetle communities (Coleoptera: Carabidae, Tenebrionidae) in different successional stages of eastern Mediterranean maquis. Journal of Natural History 46, 495-515.

Larochelle A (1990) The Food of Carabid Beetles. Fabreries Supplement 5.

Latty EF, Werner SM, Mladenoff DJ, Raffa KF & Sickley (2006) Response of ground beetle (Carabidae) assemblages to logging history in northern hardwood–hemlock forests. Forest Ecology and Management 222, 335-347.

Loreau M (1983) Le régime alimentaire de huit carabides (Coleoptera) communs en milieu forestier. Acta Oecologia 4, 331-343.

Lövei GL & Sunderland KD (1996) Ecology and behavior of ground beetles (Coleoptera: Carabidae). Annual Review of Entomology 41, 231-256.

MacArthur RH (1958) Population ecology of some warblers of northeastern coniferous forests. Ecology 39, 599-619.

Macfadyen S, Gibson R, Polaszek A, Morris RJ, Craze PG, Planque R, Symondson WOC & Memmott J (2009) Do differences in food web structure between organic and conventional farms affect the ecosystem service of pest control? Ecology Letters 12, 229–238.

Paradis E, Claude J & Strimmer K (2004) APE: analyses of phylogenetics and evolution in R language. Bioinformatics 20, 289-290.

Petit S & Burel F (1998) Effects of landscape dynamics on the metapopulation of a ground beetle (Coleoptera, Carabidae) in a hedgerow network. Agriculture, Ecosystems and Environment 69, 243-252.

Pianka RD (1973) The structure of lizard communities. Annual Review of Ecology and Systematics 4, 53-74.

Pocock MJO, Evans DM & Memmott J (2012) The robustness and restoration of a network of ecological networks. Science 335, 973–977.

Purtauf T, Dauber J & Wolters V (2004) Carabid communities in the spatio-temporal mosaic of a rural landscape. Landscape and Urban Planning 67, 185-193.

Rauch G & Weisser WW (2007) Local and spatial dynamics of a host–parasitoid system in a field experiment. Basic and Applied Ecology 8, 89-95.

Ribera I, McCracken DI, Foster GN, Downie IS & Abernethy VJ (1999) Morphological diversity of ground beetles (Coleoptera: Carabidae) in Scottish agricultural land. Journal of Zoology 247, 1-18.

Sasakawa K, Ikeda H & Kubota T (2010) Feeding ecology of granivorous carabid larvae: a stable isotope analysis. Journal of Applied Entomology 134, 116-122.

Saska P & Honek A (2004) Development of the beetle parasitoids, *Brachinus explodens* and *B. crepitans* (Coleoptera: Carabidae). Journal of Zoology 262, 29–36.

Schirmel J, Blindow I & Buchholz S (2012) Life-history trait and functional diversity patterns of ground beetles and spiders along a coastal heathland successional gradient. Basic and Applied Ecology 13, 606-614.

Simberloff DS & Wilson EO (1969) Experimental zoogeography of islands: the colonization of empty islands. Ecology 50, 278-296.

Thiele HU (1977) Carabid Beetles in Their Environments. Berlin/Heidelberg, Springer.

Tilman D (2004) Niche tradeoffs, neutrality, and community structure: A stochastic theory of resource competition, invasion, and community assembly. Proceedings of the National Academy of Sciences of United States of America 101,10854–10861.

Trichard A, Alignier A, Biju-Duval L & Petit S (2013) The relative effects of local management and landscape context on weed seed predation and carabid functional groups. Basic and Applied Ecology 14, 235-245.

Ulrich W & Zalewski M (2006) Abundance and co-occurrence patterns of core and satellite species of ground beetles on small lake islands. Oikos 114, 338-348.

Zhang W, Ricketts TH, Kremen C, Carney K & Swinton SM (2007) Ecosystem services and dis-services to agriculture. Ecological Economics 64, 253-260.

Figure 1. Localization of study area (a) and position of fields sampled in 2010 (b).

Figure 2. Distribution of global abundances per carabid species (a) 2010 and (b) 2011.

Figure 3a. Neighbor joining tree built with Pianka's dissimilarity D*ij* indexes between species in 2010. Average size classes (T1<5mm, T2=5-10mm, T3=10-15mm, T4>15mm) and diet (carni: carnivorous, omni: omnivorous, phyto: phytophagous) of species are specified in parenthesis. Species written in bold count more than 60 individuals collected during the whole sampling season. Mean dissimilarity = 0.895, variance = 0.218.

Figure 3b. Neighbor joining tree built with Pianka's dissimilarity *Dij* indexes between species in 2011. Mean dissimilarity index = 0.863, variance = 0.227.

Figure 4. Mean indexes per diet association (2011). carni*carni: species are both carnivorous, carni*omni: one carnivorous and one omnivorous species combination, carni* phyto: one carnivorous and one phytophagous species combination, omni*omni: both species are omnivorous, phyto*phyto: both species are phytophagous, omni*phyto: one omnivorous and one phytophagous species combination. Mean Pianka index: carni*carni= carni*omni= carni*phyto= omni*omni= omni*phyto= phyto*phyto. Letter above boxplot indicated if mean are significantly different, a different letter is assigned when the difference is significant.

Figure 1.

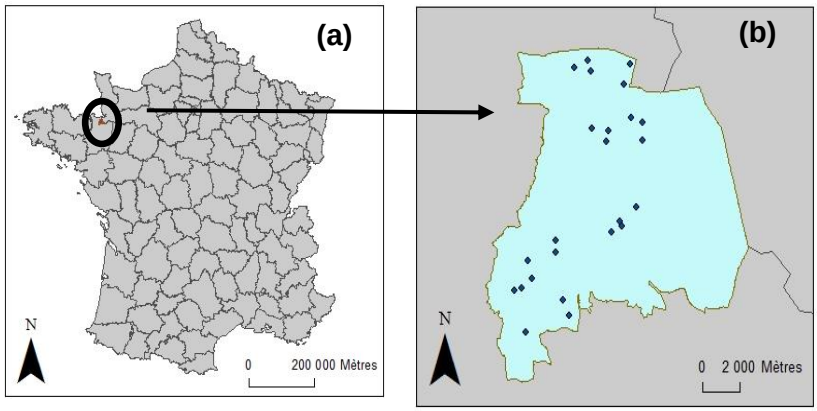


Figure 2a.

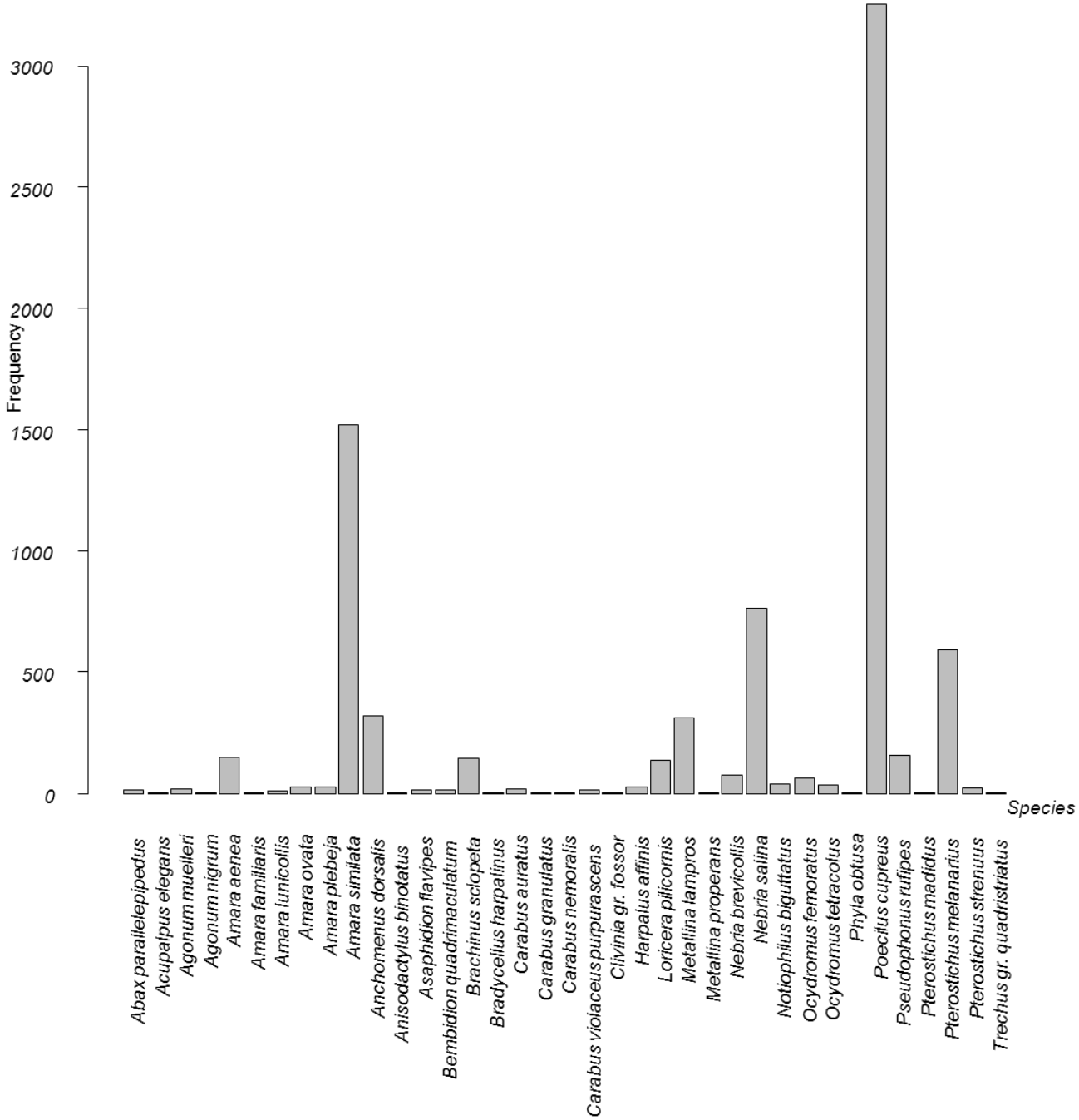

3000
2500
2000
1500
1000
500
0
Frequency
Species
Abax parallelepipedus
Acupalpus elegans
Agonum muelleri
Agonum nigrum
Amara aenea
Amara familiaris
Amara lunicollis
Amara ovata
Amara plebeja
Amara similata
Anchomenus dorsalis
Anisodactylus binotatus
Asaphidion flavipes
Bembidion quadrimaculatum
Brachinus sclopeta
Bradycellus harpalinus
Carabus auratus
Carabus granulatus
Carabus nemoralis
Carabus violaceus purpurascens
Clivinia gr. fossor
Harpalus affinis
Loricera pilicornis
Metallina lampros
Metallina properans
Nebria brevicollis
Nebria salina
Notiophilus biguttatus
Ocydromus femoratus
Ocydromus tetracolus
Ptyla obtusa
Poecilus cupreus
Pseudophonus rufipes
Pterostichus madidus
Pterostichus melanarius
Pterostichus strenuus
Trechus gr. quadristriatus

Figure 2b.

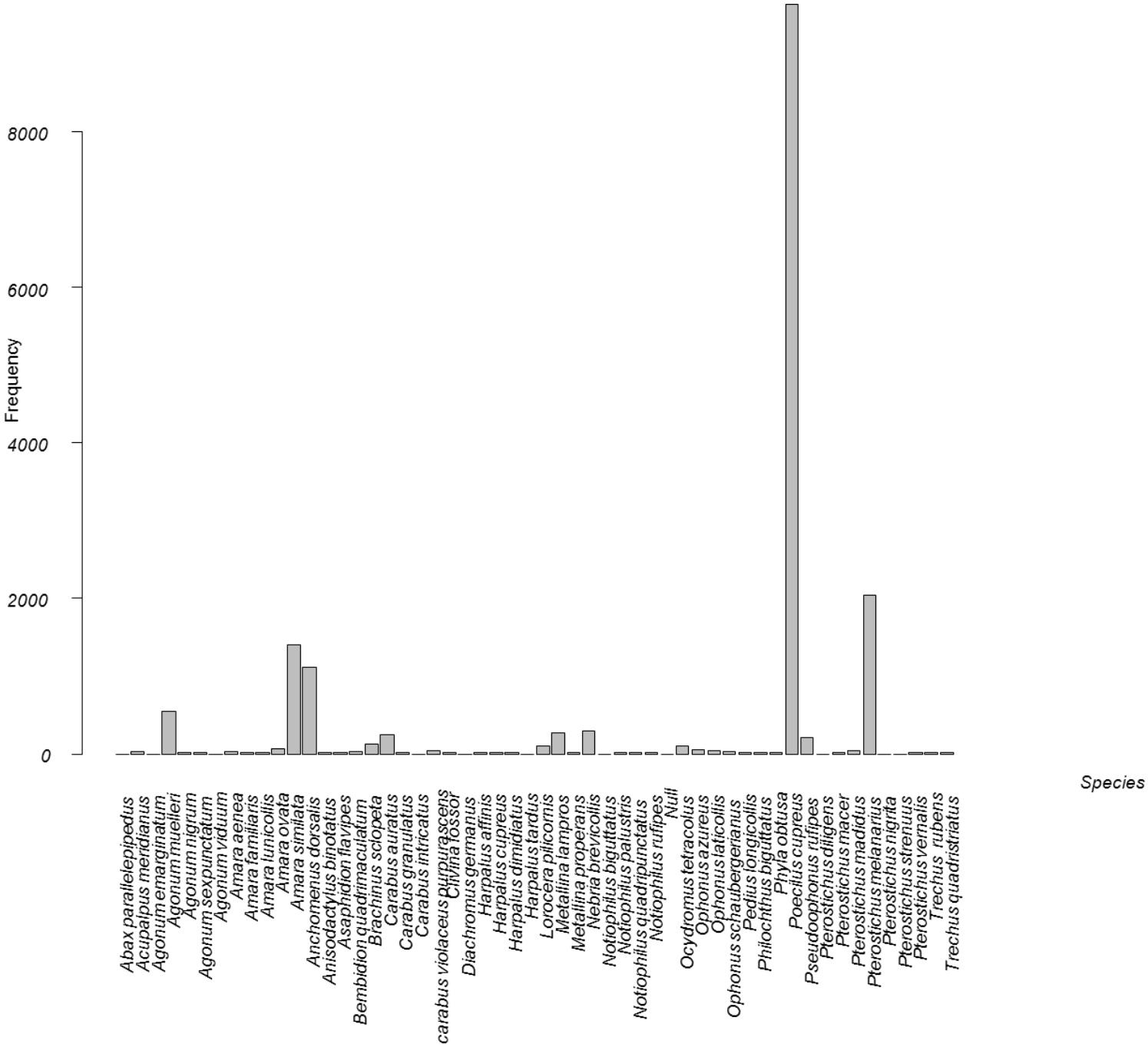

8000
6000
4000
2000
0
Frequency
Species
Abax parallelepipedus
Acupalpus meridianus
Agonum emarginatum
Agonum muelleri
Agonum nigrum
Agonum sexpunctatum
Agonum viduum
Amara aenea
Amara familiaris
Amara lunicollis
Amara ovata
Amara similata
Anchomenus dorsalis
Anisodactylus binotatus
Asaphidion flavipes
Bembidion quadrimaculatum
Brachinus sclopeta
Carabus auratus
Carabus granulatus
Carabus intricatus
carabus violaceus purpurascens
Cicina fossor
Diachromus germanus
Harpalus affinis
Harpalus cupreus
Harpalus dimidiatus
Harpalus tardus
Lorocera pilicornis
Metallina lampros
Metallina properans
Nebria brevicollis
Notiophilus biguttatus
Notiophilus palustris
Notiophilus quadripunctatus
Notiophilus rufipes
Null
Ocydromus tetracolus
Ophonus azureus
Ophonus laticollis
Ophonus schaubergerianus
Pedius longicollis
Philochthus biguttatus
Phyla obtusa
Poecilus cupreus
Pseudoophonus rufipes
Pterostichus diligens
Pterostichus macer
Pterostichus madidus
Pterostichus melanarius
Pterostichus nigrita
Pterostichus strenuus
Pterostichus vernalis
Trechus rubens
Trechus quadristriatus

Figure 3a.

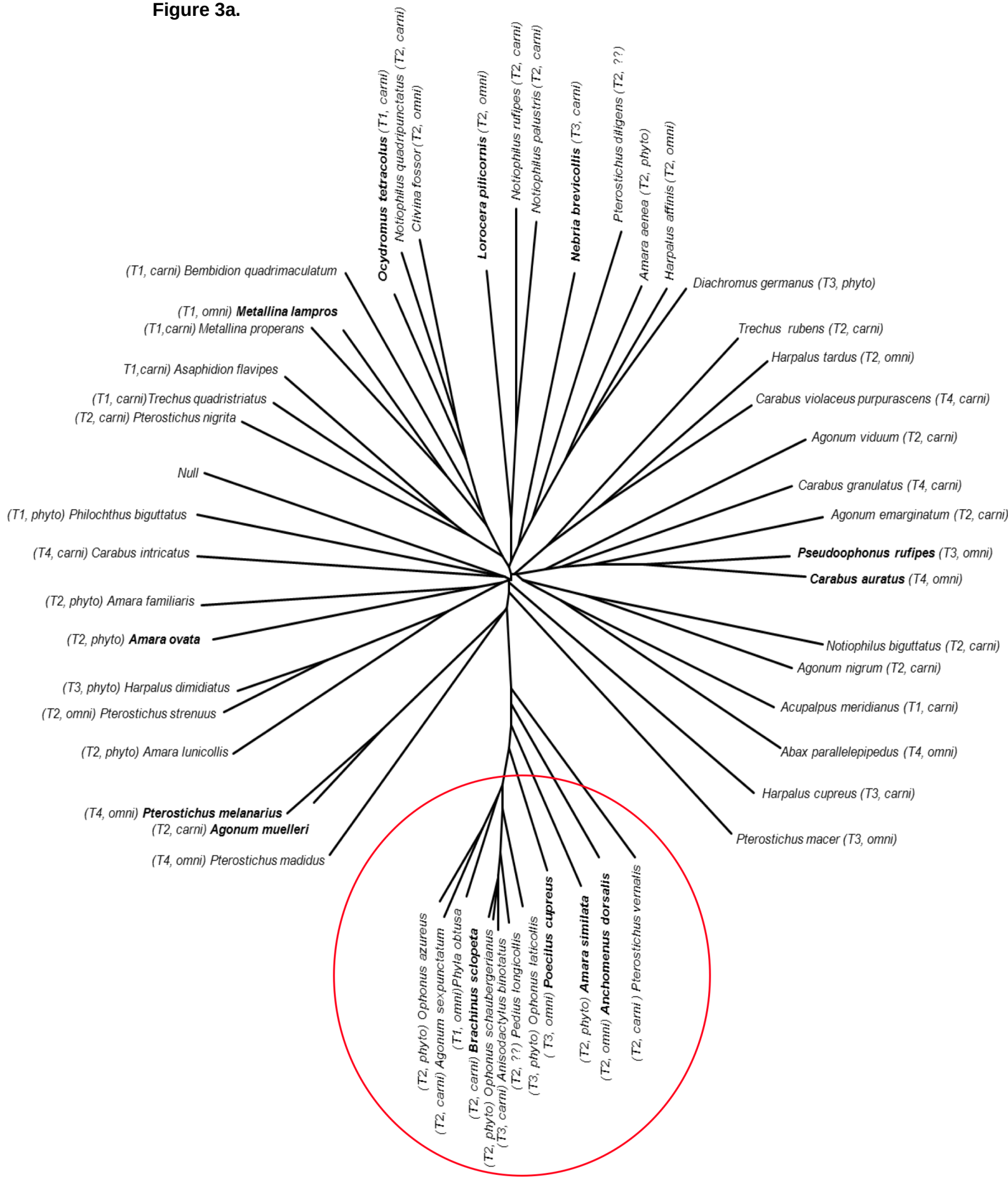

Ocydromus tetracolus (T1, carni)
Notiophilus quadripunctatus (T2, carni)
Clivina fossor (T2, omni)
Lorocera pilicornis (T2, omni)
Notiophilus rufipes (T2, carni)
Notiophilus palustris (T2, carni)
Nebria brevicollis (T3, carni)
Pterostichus diligens (T2, ??)
Amara aenea (T2, phyto)
Harpalus affinis (T2, omni)
(T1, carni) Bembidion quadrimaculatum
(T1, omni) Metallina lampros
(T1,carni) Metallina properans
T1,carni) Asaphidion flavipes
(T1, carni)Trechus quadristriatus
(T2, carni) Pterostichus nigrita
Null
(T1, phyto) Philochthus biguttatus
(T4, carni) Carabus intricatus
(T2, phyto) Amara familiaris
(T2, phyto) Amara ovata
(T3, phyto) Harpalus dimidiatus
(T2, omni) Pterostichus strenuus
(T2, phyto) Amara lunicollis
(T4, omni) Pterostichus melanarius
(T2, carni) Agonum muelleri
(T4, omni) Pterostichus madidus
Diachromus germanus (T3, phyto)
Trechus rubens (T2, carni)
Harpalus tardus (T2, omni)
Carabus violaceus purpurascens (T4, carni)
Agonum viduum (T2, carni)
Carabus granulatus (T4, carni)
Agonum emarginatum (T2, carni)
Pseudoophonus rufipes (T3, omni)
Carabus auratus (T4, omni)
Notiophilus biguttatus (T2, carni)
Agonum nigrum (T2, carni)
Acupalpus meridianus (T1, carni)
Abax parallelepipedus (T4, omni)
Harpalus cupreus (T3, carni)
Pterostichus macer (T3, omni)
(T2, phyto) Ophonus azureus
(T2, carni) Agonum sexpunctatum
(T1, omni)Phyla obtusa
(T2, carni) Brachinus sclopeta
(T2, phyto) Ophonus schaubergerianus
(T3, carni) Anisodactylus binotatus
(T2, ??) Pedius longicollis
(T3, phyto) Ophonus laticollis
(T3, omni) Poecilus cupreus
(T2, phyto) Amara similata
(T2, omni) Anchomenus dorsalis
(T2, carni) Pterostichus vernalis

Figure 3b.

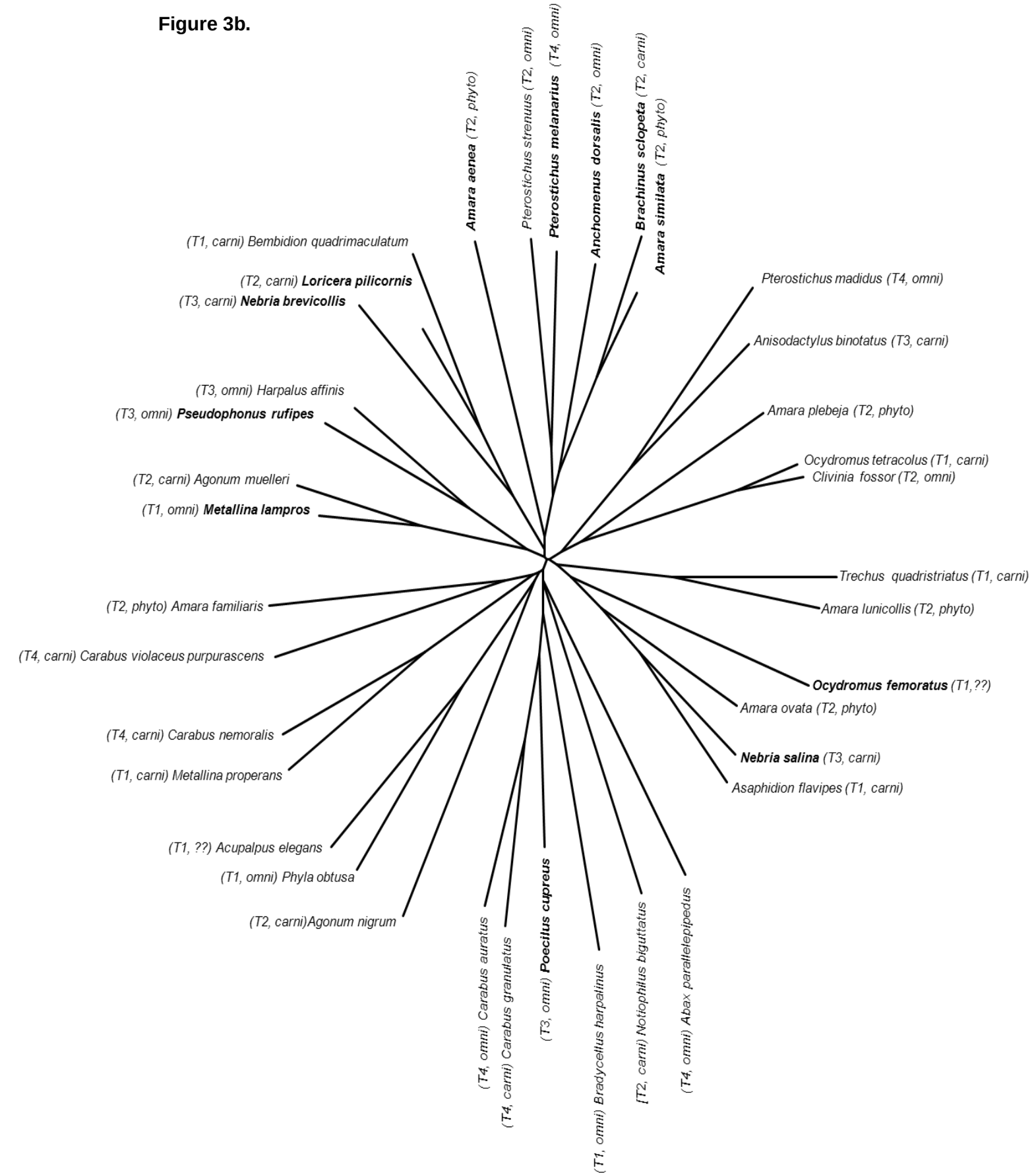
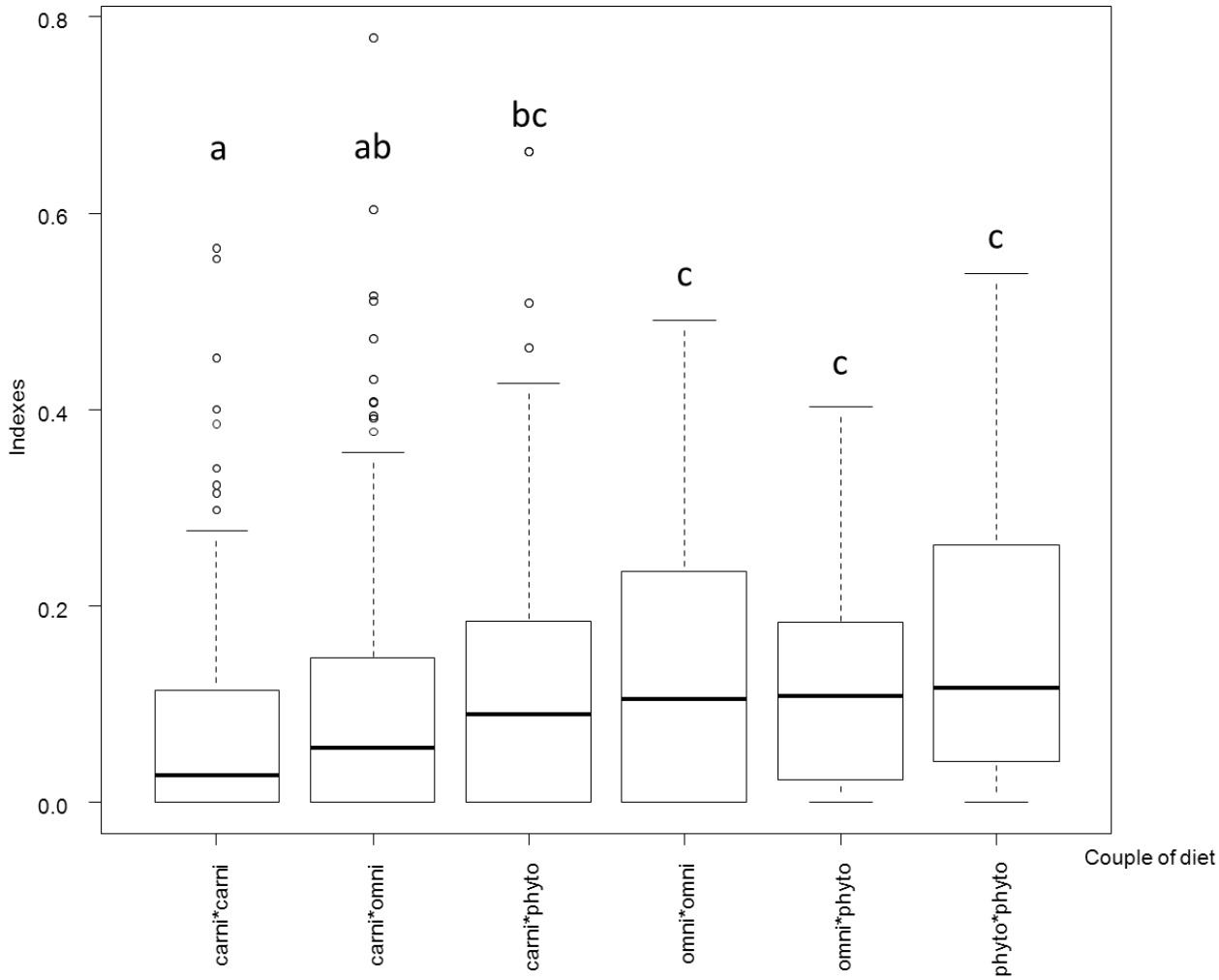

Amara aenea (T2, phyto)
Pterostichus strenuus (T2, omni)
Pterostichus melanarius (T4, omni)
Anchomenus dorsalis (T2, omni)
Brachinus sclopeta (T2, carni)
Amara similata (T2, phyto)
(T1, carni) Bembidion quadrimaculatum
(T2, carni) Loricera pilicornis
(T3, carni) Nebria brevicollis
Pterostichus madidus (T4, omni)
Anisodactylus binotatus (T3, carni)
(T3, omni) Harpalus affinis
(T3, omni) Pseudophonus rufipes
Amara plebeja (T2, phyto)
Ocydromus tetracolus (T1, carni)
Clivinia fossor (T2, omni)
(T2, carni) Agonum muelleri
(T1, omni) Metallina lampros
Trechus quadristriatus (T1, carni)
Amara lunicollis (T2, phyto)
(T2, phyto) Amara familiaris
(T4, carni) Carabus violaceus purpurascens
Ocydromus femoratus (T1,??)
Amara ovata (T2, phyto)
(T4, carni) Carabus nemoralis
Nebria salina (T3, carni)
(T1, carni) Metallina properans
Asaphidion flavipes (T1, carni)
(T1, ??) Acupalpus elegans
(T1, omni) Phyla obtusa
(T2, carni)Agonum nigrum
(T4, omni) Carabus auratus
(T4, carni) Carabus granulatus
(T3, omni) Poecilus cupreus
(T1, omni) Bradycellus harpalinus
[T2, carni) Notiophilus biguttatus
(T4, omni) Abax parallelepipedus

Figure 4.


0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
Indexes
a
ab
bc
c
c
c
carni*carni
carni*omni
carni*phyto
omni*omni
omni*phyto
phyto*phyto
Couple of diet

Conclusion

Les résultats présentés ci-dessus éclairent de façon très complémentaire les données que nous avons obtenues avec l'approche isotopique et comportementale. Ils confirment ainsi la différentiation de niche que nous observée au sein de la communauté de carabes. Ces résultats montrent l'importance de prendre en compte les interactions entre espèces à l'échelle de la communauté pour comprendre les mécanismes généraux de leur organisation. En effet, la majorité des études consacrées aux communautés de carabes s'est limitée essentiellement à la simple description des patrons de richesse ou d'abondance relative entre espèces (Boivin & Hance 2003; Purtauf et al. 2004; da Silva et al. 2008). Ce type d'approches peut apporter des informations précieuses sur la dynamique et la composition des communautés de carabes en milieu agricole, mais il ne permet pas de déduire les processus à l'origine de cette organisation.

Les communautés de carabes inféodées aux espaces agricoles semblent fortement structurées dans le temps, dans l'espace ou selon la ressource, suggèrant le rôle prépondérant des processus déterministes (niche-assembly rules) dans l'organisation de ces assemblages. De point de vue fondamental ces observations apportent des éléments précieux pour comprendre l'émergence et le maintien de la biodiversité dans les agro-écosystèmes. De point de vue agronomique, ces observations indiquent que les espaces agricoles intensifiéscontribuent activement au maintien des assemblages diversifiés d'auxiliaires, fonctionnellement complémentaires, et que leur préservation garantit un service de régulation optimal.

En perspective, il serait intéressant d'étendre ce genre d'analyses sur des communautés de carabes dans des paysages agricoles contrastés afin de vérifier si le partitionnement de niche apparaît comme un mécanisme fondamental ou il s'agit d'un phénomène déterminé par la spécificité des conditions locales. Il serait également intéressant d'investiguer les patrons de coexistence chez d'autres groupes d'auxiliaires, taxonomiquement éloignés pour évaluer dans quelle mesure les paysages agricoles exercent une pression de sélection sur des traits ou des patrons d'organisation particuliers. Une telle compréhension des forces sélectives, potentiellement exercées par l'agriculture moderne sur les interactions entre organismes devrait substantiellement améliorer nos capacités prédictives en termes d'approvisionnement en services écosystèmiques.

ANNEXE 2: Analyse de la diversité et de la répartition spatiale des coléoptères carabiques selon le type de culture

Introduction

La répartition et la dynamique spatiales des populations de carabes en milieu agricole sont un sujet qui a reçu beaucoup d'attention de la part des écologistes. Des études ont tenté par exemple d'inférer le régime alimentaire, à partir des dynamiques de carabes et de leurs proies potentielles (Bohan et al. 2000) ou de comprendre la régulation des ravageurs (Winder et al. 2001) par les carabes. D'autres types d'études se sont intéressés à la répartition de la richesse ou de l'abondance des carabes au sein du champ et en relation avec la distance à la bordure pour déduire les effets des éléments paysages par exemple (Holland et al. 1999; Al Hassan et al. 2013) sur les populations de carabes. Cependant, l'écologie spatiale des carabes n'a jamais été étudiée pour tenter de comprendre les interactions entre espèces ou les patrons d'organisation de leurs communautés à l'échelle du paysage.

Leréseau de pots-piègespour la collecte des coléoptères carabiques, que nous avons déployé dans le cadre de cette thèse offre une opportunité unique pour l'analyse simultanée de la répartition de la diversité et de l'abondance chez plusieurs espèces de carabes à fine échelle. En effet, la grille régulière de pièges couvrant la surface totale de chaque parcelle échantillonnée permet de comparer les motifs de distribution des espèces entre bordure et centre de la parcelle ou les motifs de répartition spatiale entre espèces. Enfin, la comparaison de paires de parcelles de cultures contrastées, blé et colza, permet d'identifier une éventuelle stratification des communautés de carabes à l'échelle du paysage, selon le type de culture.

Nous avons utilisé les informations fournies par ce réseau de pot-pièges pour cartographier la distribution spatiale des carabes échantillonnés entre mai et juin 2011 dans six parcelles de blé et de colza.

Matériel & Méthode

Les six parcelles échantillonnées ont été choisies aléatoirement le long d'un gradient d'intensification agricole, caractéristique de la zone-atelier "Armorique" (http://osur.univ-rennes1.fr/za-armorique/). Ensuite, la culture semée dans chaque parcelle a été vérifiée sur place et le choix a été ajusté si besoin, en choisissant la

parcelle la plus proche de la parcelle initialement choisie après accord avec l'agriculteur. Une fois les parcelles choisies (4 parcelles de blé et 2 parcelles de colza), nous avons généré pour chaque parcelle une grille régulière de points à l'aide du logiciel Quantum GIS (http://qgis.org) en se basant sur la cartographie du parcellaire de l'année précédente. Nous avons contraint le nombre de pots-pièges par parcelle (50) et la distance entre pots (toujours constante entre les pots d'une même parcelle mais variable entre les pots de parcelles différentes en fonction de leur taille). Les distances moyennes entre pots-pièges variaient entre 20 et 70 mètres selon les parcelles. A l'aide d'un GPS de terrain (Trimble® Juno®), nous avons ensuite placé les pots-pièges en adaptant la forme de la grille et les distances entre pots selon le désaccordentre le parcellaire de l'année précédente et la parcelle qui était en cours. Les coordonnées GPS de chaque pot placé ont été ensuite relevées. C'est cette cartographie finale qui a été utilisée pour analyser la répartition spatiale des populations de carabes, présentée dans la partie résultats ci-dessous. Pour cela, nous avons relié les données d'abondance et de richesse moyennes des carabes pour l'ensemble des trois dates d'échantillonnage, aux coordonnées GPS des pots-pièges à l'aide du logiciel Quantum GIS.

En plus de la cartographie, nous avons analysé les communautés de carabes dans les deux types de cultures par une Analyse de Composantes Principales (ACP) afin d'identifier des groupes homogènes. L'ACP a été réalisée avec le logiciel R, en utilisant la fonction *dudi.pca* (package *ade4*).

Résultats

L'Analyse en Composantes Principales nous a permis d'observer trois groupes distincts d'espèces (fig. 1). Les parcelles de blé étaient opposées aux parcelles de colza dans le plan factoriel de l'ACP. Le premier axe de l'ACP a expliqué 18.4% de la variance, le deuxième 8.9%.

La cartographie de la répartition spatiale des carabes a relevé des différences considérables entre les deux types de cultures en termes de richesse (fig. 2) et d'abondance pour les deux espèces les plus communes, *Poecilus cupreus* et *Amara similata* (fig. 3). Nous avons observé des communautés plus diversifiées (fig. 1 et 2) et des abondances plus élevées (fig. 3) dans les parcelles de colza comparé aux parcelles de blé. Nous avons observé aussi que les patterns de répartition de la richesse et de l'abondance des carabes n'étaient pas homogènes à l'échelle de la parcelle.

Conclusion & Perspectives

Les résultats de ces analyses préliminaires suggèrent qu'il existe une forte structuration spatiale des populations de carabes selon le type de culture, avec une communauté plus diversifiée dans les parcelles de colza.

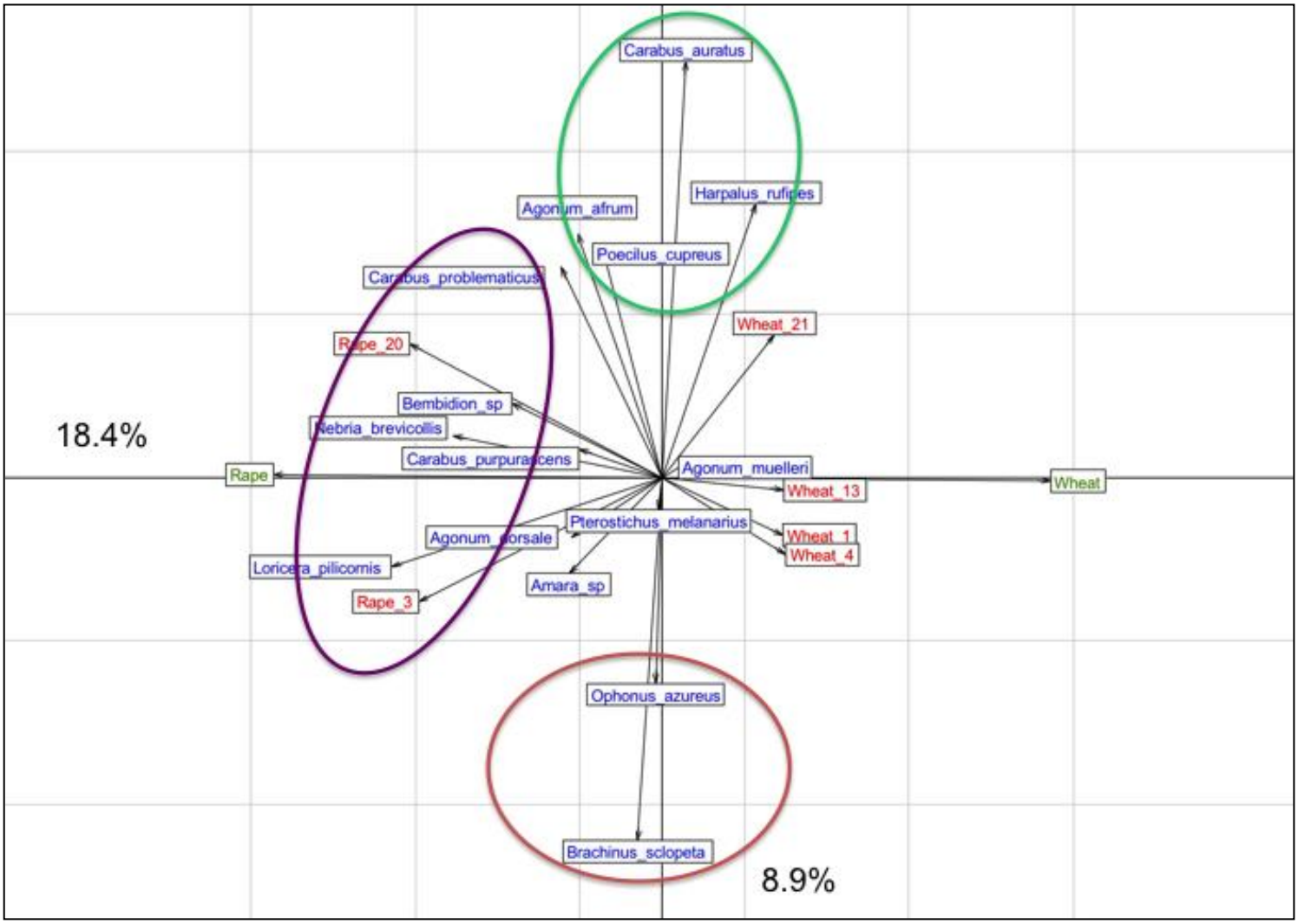


Figure 1. Analyse de Composantes Principales de la communauté de carabes échantillonnée dans 6 parcelles agricoles (quatre parcelles de blé et deux parcelles de colza) entre 11 mai et 10 juin 2011. Le pourcentage de variance expliquée par chaque axe est indiqué. Chaque cercle entoure des sous-ensembles d'espèces, proches dans le plan factoriel de l'ACP.

D’après les résultats de l’ACP, nous avons observé que les espèces présentes dans le blé sont également communes dans le colza mais que les parcelles de colza sont caractérisées par un cortège d’espèces supplémentaires qu’on ne trouve que rarement dans le blé. De plus, si on regarde les traits de ces espèces, on constate que dans le blé on retrouve essentiellement des espèces généralistes, tandis que le colza est caractérisé par des espèces plus spécialisées, essentiellement phytophages ou avec des affinités pour les habitats forestiers (les genres *Amara* et *Carabus* respectivement). Ces observations sont confirmées par la cartographie de la richesse spécifique qui semble plus importante dans les parcelles de colza. Les parcelles de colza semblent offrir des conditions de vie particulièrement favorables à toute une communauté de carabes, cette culture apparaît donc comme un élément du paysage déterminant pour la distribution de leurs populations.

Figure 2. Répartition de la richesse spécifique des carabes piégés entre 11 mai et 10 juin 2011, à l’intérieur ou entre 6 parcelles agricoles, situées dans la ZA “Armorique”, Ille-et-Vilaine. Les parcelles de blé sont en vert, les parcelles de colza sont en jaune. Chaque point correspond à un pot-piège. La taille des points est proportionnelle au nombre d’espèces dans chaque pot-piège.

Il serait donc intéressant d'approfondir les investigations sur ce modèle de culture afin de comprendre comment les conditions qu'il offre bénéficient aux carabes mais également pour comprendre comment ce type de culture intervient dans la mise en place des interactions entre espèces. Les agrégations de communautés de carabes, composées essentiellement d'espèces phytophages ou spécialistes, dans les parcelles de colza ont été confirmées dans d'autres études récemment (Eyre et al. 2013). Tandis que des études à large échelle confirmentque le type de culture, particulièrement le colza était un facteur déterminant dans structuration des communautés de carabes (Brooks et al. 2008). Les résultats que nous montrons ici concordent aussi assez bien avec les résultats obtenus par l'analysedes isotopes stables que nous avons déjà discutés dans le chapitre 2. Il serait stratégique d'évaluer quel est le potentiel de relier les informations trophiques à la répartition spatiale des carabes afin de s'en servir comme outil pour la gestion des communautés d'auxiliaires, comme il a été suggéré dans d'autres études auparavant (Bell et al. 2010; Birkhofer et al. 2011). Il serait intéressant aussi de comparer la dynamique de la richesse spécifique pour suivre son évolution spatiale en fonction des types de pratiques (travail du sol, application de pesticides, etc.). Cela permettra de visualiser rapidement la réponse à l'intensificationdes communautés d'auxiliaires ou d'identifier des zones refuges pour la diversité à l'échelle du paysage.

La cartographie de la répartition des carabes pourrait aussi permettre de suivre de façon indirecte les mouvements de certaines espèces dans le paysage.Si par exemple, on émet l'hypothèse que les espèces du genre *Amara* sont essentiellement inféodées au colza (ce qui semble être le cas), il serait intéressant de comprendre le devenir des populations avec les rotations culturales et d'identifier par l'analyse des patterns spatiaux comment les *Amara* localisent les parcelles de colza à l'échelle du paysage d'une année à l'autre.

Nos cartes suggèrent aussi que la répartition et l'abondance des espèces ne sont pas homogènes à l'échelle de la parcelle. Il est généralement admis dans la littérature que les conditions à l'intérieur des parcelles agricoles sont défavorables aux populations de carabes tandis que plus de diversité est attendue sur les bordures, où les ressources sont plus abondantes même si ces réponses semblent espèce-dépendantes (Holland et al. 2009 ; Anjum-Zubair et al. 2010). Dans notre cas, il semble difficile de déduire d'une tendance générale seulement à partir des cartes de l'abondance. Une analyse de la structure spatiale à l'intérieur du champ par des approches de géostatistiques comme l'autocorrélation spatiale par exemple (Badenhausser et al. 2012 ; Blanchet et al. 2013) pourrait contribuer à éclaircir ces questions.

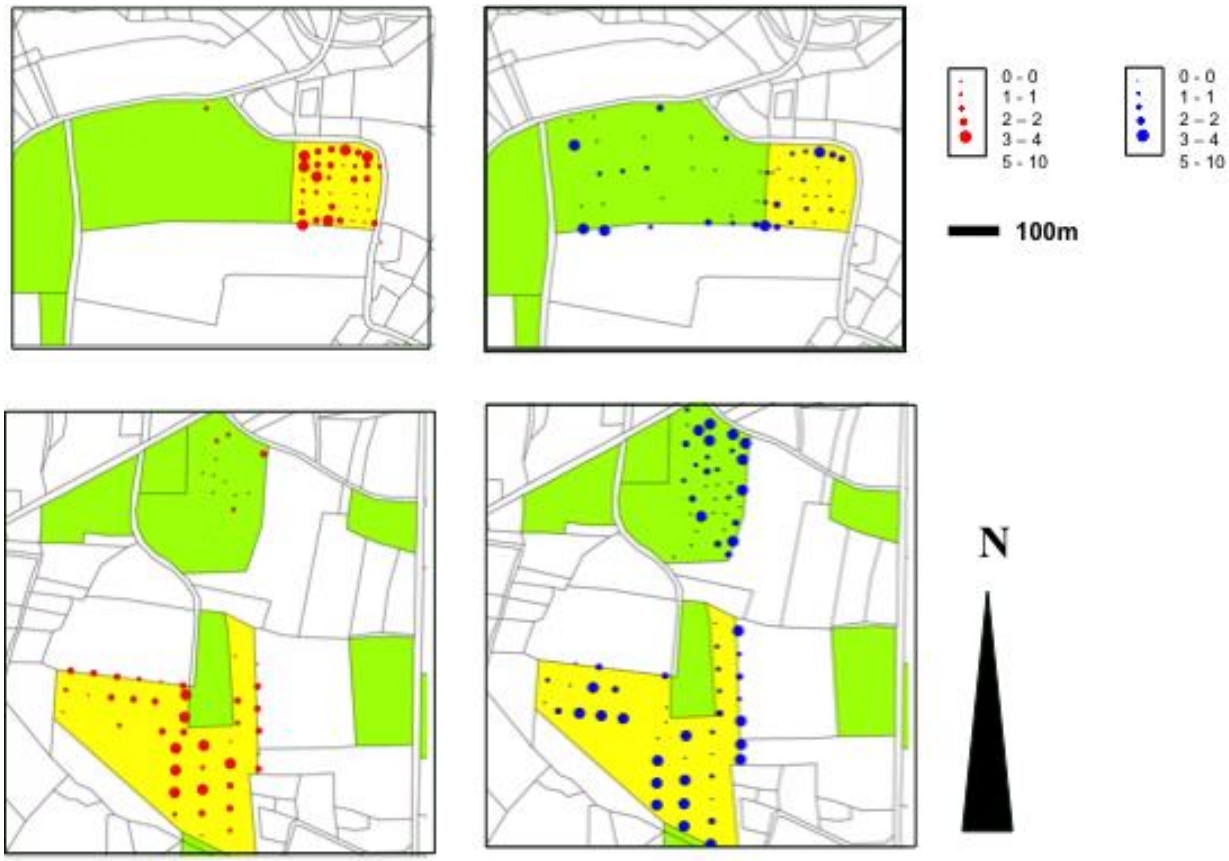


Figure 3. Comparaison de la répartition de l'abondance des deux espèces de carabes les plus communes, *Amara similata* (rouge) et *Poecilus cupreus* (bleu) entre les deux types de cultures, blé (vert) et colza (jaune). Les points correspondent à l'emplacement des pots-pièges dans chaque parcelle. La taille des points est proportionnelle au nombre d'individus dans chaque pot-piège.

Références

Al Hassan D, Georgelin E, Delattre T, Burel F, Plantegenest M, Kindlmann P & Butet A (2013) Does the presence of grassy strips and landscape grain affect the spatial distribution of aphids and their carabid predators? Agricultural and Forest Entomology 15, 24-33.

Anjum-Zubair M, Schmidt-Entling MH, Querner P & Thomas F (2010) Influence of within-field position and adjoining habitat on carabid beetle assemblages in winter wheat. Agricultural and Forest Entomology 12, 301-306.

Badenhausser I, Gouat M, Goarant A, Cornulier T & Bretagnolle V (2012) Spatial autocorrelation in farmland grasshopper assemblages (Orthoptera: Acrididae) in Western France. Environmental Entomology 41, 1050-1061.

Bell JR, King A, Bohan DA & Symondson WOC (2010) Spatial co-occurrence networks predict the feeding histories of polyphagous arthropod predators at field scales. Ecography 33, 64-72.

Birkhofer K, Wolters V & Diekotter T (2011) Density-dependent and -independent effects on the joint use of space by predators and prey in terrestrial arthropod food webs. Oikos 120, 1705 – 1711.

Blanchet FG, Bergeron JAC, Spence JR & He Fl (2013) Landscape effects of disturbance, habitat heterogeneity and spatial autocorrelation for a ground beetle (Carabidae) assemblage in mature boreal forest. Ecography 36, 636-647.

Bohan DA, Bohan AC, Glen DM, Symondson WO, Wiltshire CW & Hughes L (2000) Spatial dynamics of predation by carabid beetles on slugs. Journal of Animal Ecolology 69, 367–379.

Boivin G & Hance T (2003) Ground beetle assemblages in cultivated organic soil and adjacent habitats: temporal dynamics of microspatial changes. Pedobiologia 47, 193-202.

Brooks DR, Perry JN, Clark SJ, Heard MS, Firbank LG, Holdgate R, Mason NS, Shortall CR, Skellern MP & Woidwod IP (2008) National-scale metacommunity dynamics of carabid beetles in UK farmland. Journal of Applied Ecology 77, 265-274.

Eyre MD, Luff ML & Leifert C (2013) Crop, field boundary, productivity and disturbance influences on ground beetles (Coleoptera, Carabidae) in the agroecosystem. Agriculture, Ecosystems and Environment 165, 60-67.

Holland JM, Birkett T & Southway S (2009) Contrasting the farm-scale spatio-temporal dynamics of boundary and field overwintering predatory beetles in arable crops. Biocontrol 54, 19-33.

Holland JM, Perry JN & Winder L (1999) The within-field spatial and temporal distribution of arthropods in winter wheat. Bulletin of Entomological Research 89, 499–513.

Purtauf T, Dauber J & Wolters V (2004) Carabid communities in the spatio-temporal mosaic of a rural landscape. Landscape and Urban Planning 67, 185-193.

Da Silva PM, Aguiar CAS, Niemelä J, Sousa JP & Serrano ARM (2008) Diversity patterns of ground-beetles (Coleoptera: Carabidae) along a gradient of land-use disturbance. Agriculture, Ecosystems and Environment 124, 270–274.

Winder L, Alexander CJ, Holland JM, Woolley C & Perry JN (2001) Modelling the dynamic spatio-temporal response of predators to transient prey patches in the field. Ecology Letters 4, 568-576.