



Urbanization effects on floral morphology and plant-pollinator relationships

James Desaegher

► To cite this version:

James Desaegher. Urbanization effects on floral morphology and plant-pollinator relationships. Sym-biosis. Université Paris Saclay (COMUE), 2017. English. NNT : 2017SACLS408 . tel-01665328

HAL Id: tel-01665328

<https://theses.hal.science/tel-01665328>

Submitted on 15 Dec 2017

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.

NNT : 2017SACLAY408

THESE DE DOCTORAT
DE L'UNIVERSITE PARIS-SACLAY,
préparée à l'Université Paris-Sud

ÉCOLE DOCTORALE N° 567
Sciences du Végétal : du Gène à l'Ecosystème

Spécialité de doctorat : Biologie

Par

M. James Desaezgher

Effets de l'urbanisation sur la morphologie florale et les relations plantes-pollinisateurs

Thèse présentée et soutenue à Orsay, le 20 novembre 2017 :
Composition du Jury :

Mme Till-Bottraud Irène	Directrice de Recherche CNRS, Université Clermont Auvergne, GEOLAB	Rapporteure
Mme Maurice Sandrine	Maître de Conférences, Université Montpellier, ISEM	Rapporteure
M. Cheptou Pierre-Olivier	Directeur de Recherche CNRS, laboratoire CEFE	Examineur
M. Henry Mickaël	Chargé de recherche INRA Avignon, laboratoire Abeilles et Environnement	Examineur
Mme Lecomte Jane	Professeure, Université Paris-Sud, Directrice du laboratoire ESE	Présidente
M. Colas Bruno	Maître de Conférences, Université Paris- Diderot, laboratoire ESE	Directeur de thèse
Mme Nadot Sophie	Professeure, Université Paris-Sud, laboratoire ESE	Invitée (co-encadrante)



Remerciements

Une thèse, c'est avant tout des bons encadrants et un travail d'équipe

En premier lieu, je remercie chaleureusement mes deux encadrants de thèse, Bruno et Sophie. Merci pour votre confiance et la liberté de réflexion que vous m'avez accordées, tout en ayant su m'orienter avec précision. Au cours de ces trois années, votre gentillesse, votre soutien et votre rigueur scientifique m'ont permis d'aller de l'avant tout en prenant du plaisir à faire de la science. Tant du point de vue scientifique que personnel vous m'avez appris énormément de choses, je suis heureux de vous avoir rencontré et d'avoir travaillé à vos côtés. Vous représentez de véritables mentors pour moi.

Je remercie Isabelle Dajoz, Natalie Machon et Colin Fontaine, de m'avoir fait profiter de leur expérience scientifique, concernant la rédaction des différents articles présentés dans ce manuscrit de thèse. Isabelle, je te remercie également pour le temps que tu as consacré pour m'initier la reconnaissance des insectes pollinisateurs ainsi que pour ton aide lors de la récolte de données sur le terrain. Un grand merci également à Eric Motard, Xavier Raynaud et Gwendoline Grandin pour leur aide lors de la récolte des graines des quatre espèces de plantes sur lesquelles j'ai planché tout au long de ma thèse. Merci aussi à ma petite armée de stagiaires, Alexandra Cerqueira de Araujo, Esther Debray, Jamie Lozoff, Jan Perret, Lucie Berthon, Jean-Baptiste Bonnin, ayant passé de longues et pénibles journées à compter de nombreuses et minuscules petites fleurs ainsi que des grains de pollen et sans qui ma thèse n'aurait jamais pu aboutir. Adeline Decourcelle et Fabien Cichonski, je vous remercie également pour la réalisation des inventaires floristiques réalisés sur nos sites d'expérimentation et de vos jolies photos d'insectes et de plantes qui m'ont permis d'illustrer mes présentations orales et de décorer mon bureau.

Je suis également très reconnaissant à Sébastien Ollier d'avoir pris le temps de m'aider pour la rédaction de scripts sur R, au moment même où je commençais à désespérer de trouver une solution. Tes explications m'ont fait gagner énormément de temps et m'ont également ouvert le champ des possibles pour l'exploration statistique de mes autres jeux de données, ainsi que pour la création d'un petit programme de simulation.

Je remercie également l'ensemble des membres de mon comité de thèse, Bernard Vaissière, Jacqui Shykoff, Mathilde Baude, Emmanuelle Porcher, Sandrine Pavoine, Natalie Machon, pour leur suivi, leur bienveillance, leur bonne humeur et leurs commentaires constructifs au cours de ma thèse. Jacqui, je te remercie tout particulièrement pour tes coups de

pouce réguliers en statistique, tes supers idées et aussi tes supers recettes de cuisines (les jeunes pousses de houblons, c'est trop bon !). Jacqui et Martine, je vous remercie pour votre aide concernant mes démarches administratives.

Je remercie également des membres de l'équipe TESS et EVA, avec qui j'ai régulièrement eu l'occasion de discuter et tout particulièrement Kader, Baptiste, Antoine, Timothée, Roxane, Julie, Tania, Angevine, Pauline, Jilmar, Juan, Nathalie, Jane, Sébastien, Samuel, Chloé, Hervé, Elisabeth, Julien, Laetitia, Qian, Véronique et Thierry. Virginie, Kader et Maxime, c'était un véritable plaisir de partager le même bureau avec vous.

Je tiens également à remercier les membres de mon jury de thèse, Irène Till-Bottraud, Sandrine Maurice, Pierre-Olivier Cheptou, Mickael Henry et Jane Lecomte pour leurs précieux commentaires. C'était un honneur et un plaisir pour moi de vous avoir rencontré et d'avoir eu l'occasion de discuter avec vous de mes travaux.

Une thèse, c'est aussi un thésard en bonne santé

Comme dit la citation d'Anatole Morlet et de Pierre de Coubertin « *mens fervida in corpore lacertoso* », un esprit ardent dans un corps musclé. Maxime, Noppol, Guillaume, Thibault et Antoine, j'ai adoré nos parties de Tennis, le soir, après le boulot. Bien sûr, je ne peux pas parler de sport à Orsay sans penser à toi Yannick et nos séances de Tennis, de vélo, d'escalade, de Lafay... et aussi à nos séances de Brico musclées et bruyantes ! Je n'oublierai pas nos soirées avec Maud, Alexia, Kader et Rémi, qui étaient de véritables soupapes de décompression.

Je n'oublie pas non plus mes parents qui ont toujours cru en moi et qui m'ont transmis, entre autres, leur curiosité du monde qui nous entoure. Un grand merci, à vous Ingrid et Michel, vous qui m'avez soutenu à un moment difficile de ma vie. Vous avez su récolter les morceaux avec patience et avez également grandement contribué à la personne que je suis devenu aujourd'hui. Je vous suis très reconnaissant.

Bien sûr, un immense merci à toi Alexia. Ton soutien, sans défaut, depuis le début de ma thèse, m'a permis de surmonter toutes les baisses de morales et m'a permis de reprendre confiance en moi. C'est également grâce à toi que j'ai pu déconnecter du travail le soir et le week-end et donc revenir au labo avec la pêche et l'envie. Je te suis évidemment infiniment reconnaissant pour toute l'aide que tu m'as apportée, en serre, sur le terrain, au labo, pour mes présentations ou même pour certains écrits. Tu es géniale, j'ai beaucoup de chance de t'avoir rencontré et que tu continues de me supporter.

Sommaire

Introduction générale.....	1
Chapitre I : Contexte scientifique.....	6
I. 1. L'expansion du milieu urbain sur le milieu rural.....	6
I. 2. L'étalement urbain	8
I. 3. L'urbanisation : un syndrome de changements environnementaux	9
I. 4. Effet des perturbations liées à l'urbanisation sur l'assemblage des communautés de plantes et de pollinisateurs.....	11
I. 4.1. Les communautés de plantes en ville.....	11
I. 4.2. Les communautés de pollinisateurs en ville.....	15
I. 5. Effet des perturbations liées à l'urbanisation sur l'évolution des plantes	20
I. 6. Objectifs de la thèse	28
Chapitre II : Urbanisation et communautés d'insectes floricoles.....	31
Abstract	33
Introduction	34
Material and methods	36
The SPIPOLL protocol.....	36
Biological data.....	37
Geographical data.....	37
Effects of land use on family occurrence and richness	38
Partial least squares regressions	39
Results	40
Affinity of families to land uses and family richness.....	40
Ranking factors influencing insect occurrence on flowers.....	42
Standard PLS-R regression coefficients and landscape scales.....	44
Affinity to impervious areas and floral preference.....	45
Discussion	47
Affinity of flower visitors to impervious areas	47
Family richness.....	48
Floral factors.....	49
Landscape indices.....	50
Landscape scales	50
Limitations	51
Conclusion.....	52
Acknowledgments	53
Appendices chapter II.....	54

Chapitre III : Communautés végétales des rues	65
Abstract	67
Introduction	68
Material and methods	70
Data collection protocol	70
Geographical data.....	71
Sample points clustering	72
Biological data.....	73
Statistical analyses.....	76
Results	78
Assembly of the floral dataset	78
Species composition of plant communities	78
Plant traits.....	81
Discussion	84
Urbanisation and abiotic ecological conditions.....	84
Urbanisation and plant reproduction	85
Acknowledgements	88
Appendices chapter III	89
Chapitre IV: BUZZ in Paris.....	91
Abstract	93
Introduction	94
Material and methods	96
Set up of experimental plant communities	96
Land use characteristics of the locations of seed collection and of experimental sites	97
Plant and flower visiting insect observations	98
Statistical analysis	98
Results	99
General overview of floral visits	99
Floral visits according to plant species.....	99
Impacts of the landscape contexts on floral display size.....	100
Effect of landscape context of seed origins and experimental sites on floral visits	104
Discussion	107
Flower visitors of the study plant species.....	108
Urbanisation effect on the abundance of plant-insect interactions among experimental sites	108
Plant floral display size evolution under different pollinator behaviours.....	109
Conclusion.....	111
Acknowledgements	112

Appendices chapter IV	113
Chapitre V : Traits de reproduction de <i>Cymbalaria muralis</i>	119
Abstract	121
Introduction	122
Material and methods	125
Experimental set up	125
Study species	125
Land use around sampled populations and plantation sites.....	126
Plant and floral visitor observations	126
Photographic analysis of flower traits	126
Estimation of pollen, ovule and seed production	127
Statistical analyses.....	128
Results	130
<i>Cymbalaria muralis</i> mean reproductive traits	130
Plant trait differentiation among the origin of seeds	130
Correlations between pre-fertilization characteristics	135
Relationship between floral traits and floral visits	136
Discussion	138
<i>Cymbalaria muralis</i> mating system	138
Floral characteristics and seed origins.....	139
Genetic trade-offs between plant characteristics	140
Plant-pollinator interactions	141
Acknowledgements	142
Appendices chapter V	143
Chapitre VI : Discussion générale et perspectives	154
VI. 1. Urbanisation et assemblage des communautés de plantes et de pollinisateurs	154
VI. 1.1. Retour sur les résultats des chapitres II et III	154
VI. 1.2. Synthèse des résultats et interprétations générales.....	155
VI. 1.3. Freins des interprétations et perspectives scientifiques.....	161
VI. 2. Urbanisation et évolution des traits de reproduction des espèces végétales	163
VI. 2.1. Synthèse des résultats et interprétations générales.....	163
VI. 2.2. Simulation de butinage optimal en milieu fragmenté	170
VI. 2.3. Freins importants des interprétations et perspectives scientifiques.....	175
Conclusion générale	179
Références bibliographiques :	181
Annexe	197

Introduction générale

Il y a une vingtaine d'années, l'expression « crise de la pollinisation¹ » a été introduite pour rendre compte du déclin des pollinisateurs, de la gravité de ses conséquences et de l'aspect global de ce phénomène (Kearns et al. 1998). Il ne s'agit pas uniquement du déclin des populations de l'espèce majoritairement domestiquée *Apis mellifera*, largement relayé dans la presse, mais d'un phénomène qui concerne également les espèces sauvages de pollinisateurs. Parallèlement à la perte de diversité de la faune pollinisatrice, un déclin des espèces végétales obligatoirement pollinisées par les insectes a été mis en évidence (Biesmeijer et al. 2006). Ces deux constats peuvent s'expliquer par un lien positif entre la diversité fonctionnelle des communautés de pollinisateurs et celle des plantes entomophiles² (Fontaine et al. 2006). Rappelons que l'analyse de cette interdépendance fonctionnelle est complexifiée par le fait qu'une espèce végétale peut être visitée par plusieurs espèces de pollinisateurs et qu'une espèce de pollinisateur peut elle-même visiter plusieurs espèces végétales, formant ainsi un réseau d'interactions aux propriétés encore peu connues (Bascompte et al. 2003). Les causes du déclin des pollinisateurs sont multiples et sont, entre autres, l'altération des habitats naturels, le changement climatique ou encore l'usage de certaines molécules chimiques utilisées en agriculture (Ollerton et al. 2014).

Très récemment, l'urbanisation a été identifiée, à l'échelle mondiale, comme l'un des trois facteurs principaux menaçant d'extinction les espèces animales et végétales, après la surexploitation des espèces et l'activité agricole (Maxwell et al. 2016). Dans certaines régions du globe, l'expansion des espaces urbains se fait au détriment d'espaces naturels présentant de forts taux d'endémisme (Seto et al. 2012). L'un des facteurs exacerbant les conséquences néfastes de l'urbanisation sur la biodiversité est qu'historiquement les populations humaines se sont majoritairement installées dans les régions les plus diversifiées en espèces animales et végétales (Luck et al. 2004; Pautasso 2007). Ce dernier point souligne l'importance de préserver les espaces naturels dans les régions peuplées afin de limiter les impacts du développement humain sur la biodiversité.

¹ Pollinisation : transport du pollen des étamines vers le stigmate chez les plantes à fleurs (angiospermes et gymnospermes).

² Plantes entomophiles : plantes dont la pollinisation se fait par l'intermédiaire des insectes, qualifiés de pollinisateurs.

L'urbanisation est responsable de l'altération des paysages naturels, provoquant notamment la disparition ou la fragmentation d'habitats mais pouvant également modifier les conditions climatiques locales et régionales (US EPA: Climate Protection Partnership Division 2008; Seto et al. 2013). Néanmoins, l'impact de l'urbanisation sur la composition de la flore ainsi que de la faune pollinisatrice reste controversé. La faune pollinisatrice a été répertoriée dans certaines villes comme abondante et diversifiée (ex. Matteson et al. 2009; Matteson and Langellotto 2009; Potter and LeBuhn 2015) tandis que dans d'autres contextes, l'urbanisation a été identifiée comme un facteur de réduction de la diversité spécifique et fonctionnelle (Deguines et al. 2012; Geslin et al. 2016). Des résultats contrastés selon les auteurs et les contextes géographiques ont également été identifiés pour les espèces végétales (McKinney 2008). Jusqu'à présent, encore peu d'études se sont intéressées aux conséquences de l'urbanisation sur l'interdépendance fonctionnelle entre les communautés de plantes et de pollinisateurs.

Les perturbations environnementales induites par l'urbanisation peuvent être à l'origine d'une modification des forces évolutives conduisant à l'évolution des espèces (Johnson et al. 2015). Ainsi, il a déjà été observé des évolutions adaptatives³ chez certaines espèces végétales en ville, dans des milieux fragmentés ou pauvres en pollinisateurs (Cheptou et al. 2008; Jacquemyn et al. 2012). Cependant, au regard de la multiplicité des facettes de l'urbanisation ainsi que de la diversité des systèmes de reproduction chez les plantes, les connaissances dans ce domaine d'étude sont encore largement lacunaires.

L'objectif de la thèse est de clarifier les effets de l'urbanisation sur les relations plantes-pollinisateurs dans un même contexte géographique. Ainsi, l'ensemble des chapitres constituant ce manuscrit se base sur des données collectées dans la région Île-de-France. Cette région a été choisie car elle présente un gradient d'urbanisation complet avec de très forts niveaux d'urbanisation associés à l'agglomération parisienne mais également des espaces naturels et semi-naturels encore peu affectés par les perturbations anthropiques.

Les **chapitres II et III** sont basés sur des données issues de programmes de sciences participatives nommés respectivement « **SPIPOLL** » et « **Sauvages de ma rue** ». Les travaux présentés dans ces deux chapitres visent à caractériser les conséquences de l'urbanisation sur l'assemblage respectif des communautés de pollinisateurs et de plantes. L'attention a été portée sur l'interdépendance fonctionnelle entre les communautés de plantes et de pollinisateurs en tâchant d'identifier les traits fonctionnels associés aux milieux urbains et ruraux. Les **chapitres**

³ Evolution adaptative : changement de la fréquence des traits ayant des bases génétiques, causé par des pressions sélectives et se traduisant par un succès reproducteur plus important (Donihue and Lambert 2014)

IV et V sont liés à une expérience de **transplantation réciproque** mise en place en 2015 et menée sur quatre espèces végétales. Ces deux chapitres sont le développement d'un work package (WP2) du projet BUZZinParis (2013-2016), porté par Isabelle Dajoz, financé par la ville de Paris en réponse à l'appel à projet « Paris 2030 ». Les objectifs principaux des travaux présentés dans ces chapitres sont de (i) tester l'existence de différences de visites florales entre des sites de plantation situés en milieux urbains et ruraux et (ii) d'identifier des différences intra-spécifiques de traits reproducteurs pour les quatre espèces végétales selon leur origine urbaine ou rurale. A la suite du contexte scientifique, objet du **chapitre I**, les questions associées à chacun des chapitres seront exposées plus précisément.

Chapitre I : Contexte scientifique

Chapitre I : Contexte scientifique

I. 1. L'expansion du milieu urbain sur le milieu rural

En 2014, près de 54% de la population humaine mondiale résidait en ville, contre seulement 30% en 1950 (United Nations 2014). A l'horizon 2050, les prédictions annoncent que près des deux tiers (66%) de la population sera urbaine (United Nations 2014). Ces chiffres soulignent de façon éloquente le phénomène démographique d'urbanisation et traduisent la tendance des populations à se concentrer en ville. Malgré l'idée intuitive attachée à la distinction entre la ville et la campagne, aucune définition du milieu urbain n'est universelle. En effet, il existe une hétérogénéité des définitions dans l'espace, entre les différents pays du monde, mais également dans le temps au sein d'un même pays. Les critères employés pour classer des espaces comme « urbains » sont le plus souvent des seuils et des densités de populations humaines, le nombre et la proportion des secteurs d'emploi, les infrastructures liées aux routes, à l'électricité, à l'eau, à l'éducation ou encore aux services de santé (United Nations 2014). Dans les pays occidentaux, définir les espaces urbains est d'autant plus délicat que l'homogénéisation des territoires au fil des années tend à faire disparaître l'opposition classique entre la ville et la campagne (Chapuis 2014).

En France, l'actuelle définition donnée par l'INSEE (Institut National de la Statistique et des Etudes Economiques) d'une unité urbaine repose sur la continuité du bâti et le nombre d'habitants. Un espace est considéré comme urbain si une ou plusieurs communes présentent une zone de bâti continu, c'est-à-dire sans séparation de plus de 200 m entre deux zones de bâti, et comportant plus de 2000 habitants (voir la notion d'aire urbaine dans l'**encadré I.1**). Les seuils de 200 m pour la continuité du bâti et de 2000 habitants pour la population sont conformes aux recommandations internationales de la Conférence des statisticiens européens de la Commission économique des Nations Unies pour l'Europe (Clanché and Rascol 2011). Les calculs de continuité entre deux constructions sont réalisés par l'analyse des bases de données spatiales sur le bâti, issues de l'Institut Géographique National (IGN). En 2010, 21,8% du territoire métropolitain français a été classé comme espace urbain, dans lequel réside 77,5% de la population (Clanché and Rascol 2011). L'espace rural, autrement dit la campagne, est défini par opposition aux espaces urbains (<https://www.insee.fr/fr/metadonnees/definition>).

L'unité urbaine la plus importante en France est l'agglomération parisienne (Figure I.1). Cette dernière compte près de 10,3 millions d'habitants au recensement de la population en 2007 et s'étend sur 412 communes (Clanché and Rascol 2011). Par définition, avec plus de 10

millions habitants, l'unité urbaine parisienne fait partie des 29 mégacités au monde et est la plus importante de l'Union Européenne (Kotkin et al. 2014). L'augmentation de la population entre 1999 et 2007 dans l'agglomération a été de 5,8% alors que pendant la même période la superficie de l'unité urbaine a augmenté de 4,5%. En 2010 la densité d'habitants se chiffrait à 3621 hab./km² contre une moyenne de 403 hab./km² sur l'ensemble des unités urbaines de la France métropolitaine et de 113 hab./km² sur l'ensemble de la France métropolitaine (Clanché and Rascol 2011).

Encadré I.1 : Définitions de l'INSEE concernant le milieu urbain

Unité urbaine : commune, ou ensemble de commune, qui présente une zone de bâti continu (absence de coupure de plus de 200 m entre deux zones de bâti) et qui compte plus de 2000 habitants. Il en résulte la distinction entre communes urbaines et rurales. Lorsque l'unité urbaine s'étend sur plusieurs communes et que la zone de bâti continu héberge plus de la moitié de la population de chacune des communes alors l'unité est nommée **agglomération multicommunale**.

Pôle urbain : unité urbaine présentant au moins 10 000 emplois et n'étant pas située dans la couronne d'un autre pôle urbain. Il existe également des pôles moyens (5 000 à 10 000 emplois) et des petits pôles (1 500 à moins de 5 000 emplois).

Aire urbaine : ensemble de communes, d'un seul tenant et sans enclave, formé par un pôle urbain ainsi que par des communes rurales ou des unités urbaines (couronne périurbaine) qui accueille au minimum 40 % des résidents ayant un emploi dans le pôle urbain ou dans des communes attirées par celui-ci.

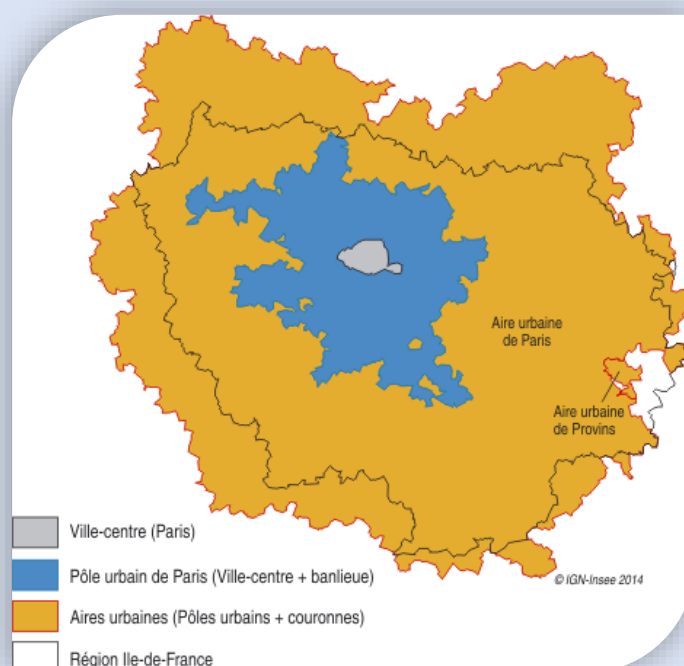


Figure I.1 : Cartographie illustrant la distinction entre la ville de Paris, l'unité urbaine (pôle urbain) et l'aire urbaine (www.insee.fr/fr/statistiques/1285578 consulté le 02/08/17).

I. 2. L'étalement urbain

L'un des constats qui a pu être établi à l'échelle mondiale, traduisant la surconsommation des espaces ruraux, est un accroissement des surfaces urbaines deux fois plus important que l'accroissement de la population (Seto et al. 2013).

L'**étalement urbain** représente l'expansion du périmètre de territoire urbanisé. Selon certains auteurs, une distinction entre l'étalement urbain et la périurbanisation peut être faite : l'étalement urbain représente l'expansion urbaine en continuité avec la ville alors que la périurbanisation caractérise une expansion en discontinuité (Laugier 2012). L'Agence européenne pour l'environnement décrit l'étalement urbain comme une expansion des surfaces urbaines se caractérisant par une discontinuité (mitage du territoire) avec un développement en patches des surfaces urbaines. L'étalement urbain se produit souvent au détriment des surfaces agricoles environnantes. Une distinction est également faite entre les villes compactes et les villes étalées (European Environment Agency 2006).

Ainsi il est important de faire la distinction entre l'étalement urbain et la **croissance urbaine**. Cette dernière représente l'augmentation de la population urbaine et n'est donc pas nécessairement synonyme d'expansion des surfaces urbaines et donc d'étalement urbain, notamment s'il existe une politique de densification des unités urbaines déjà existantes.

La **pression foncière** induite par l'urbanisation découle de la concurrence entre les logiques résidentielles et récréatives d'une part et les logiques agricoles et forestières d'autre part. En région Île-de-France cette pression foncière est la plus marquée aux franges de l'agglomération parisienne, dans les vallées et aux abords des grands axes routiers. Les zones les plus touchées entre 2011 et 2014 sont les vallées de la Marne, de l'Oise, de Chevreuse et de la Seine amont. D'autres espaces peuvent être cités comme l'axe routier de l'A104 entre Marne-la-Vallée et Melun ou encore le plateau de Saclay, le val d'Europe ou la plaine de France (Omhovere et al. 2015).

Si actuellement en France la **densification urbaine** est considérée comme un moyen de lutte contre l'étalement urbain et la perte d'habitat naturels, il est intéressant de remarquer que la densification n'a pas toujours été perçue de la même manière (Laugier 2012). En effet, à la fin du 18^{ème} siècle, les théories politiques et sociales associées à l'hygiénisme préconisait l'ouverture des villes, délimitées par des fortifications, en vue d'abaisser la densité de population et améliorer la circulation de l'air et de la lumière. La densité urbaine était donc perçue, à cette époque, comme synonyme de dissémination de maladies.

Après la seconde guerre mondiale, entre 1945 et 1970, un courant de modernisation et de rationalisation de l'aménagement est apparu. La densification est perçue comme l'instrument le plus efficace de cette rationalisation. Au cours des vingt années qui suivirent, émerge un nouvel idéal favorisant la « qualité de vie », rompant dans le même temps avec le courant de densification du milieu urbain. Cette période est marquée par une volonté de retour à la terre et un afflux des classes moyennes vers les périphéries des villes et est associée à la création de maisons individuelles. En 1975, la loi Galley s'inscrit dans une politique de dédensification avec pour objectif de diminuer les fortes densités dans les agglomérations. Les années 90' marquent une nouvelle perception de la densification alors vue comme un instrument permettant de limiter les pollutions et gaz à effet de serre associés à l'utilisation de la voiture en ville. Une lutte contre l'étalement urbain est alors lancée (Touati 2010).

Avec la loi SRU (Solidarité et Renouvellement Urbain) de 2000, la densité est maintenant considérée comme un objectif allant de pair avec la lutte contre l'étalement urbain. Néanmoins il est suggéré que la densité la plus vertueuse pour l'environnement est très probablement une densité intermédiaire, suffisamment élevée pour faciliter les transports collectifs et le développement de commerces de proximités mais suffisamment faible pour limiter les envies de quitter la ville pour se mettre au vert (Charmes 2010). La loi Grenelle 2 de 2010 s'inscrit dans la lignée d'une lutte contre l'étalement urbain et la densification. Selon certains experts, cette loi est complexe et son application soulève plusieurs problèmes. L'échelon communal a été identifié comme parfois trop restreint pour faire face à l'étalement urbain et que la généralisation des PLU (Plan Local d'Urbanisme) intercommunaux, dont la loi introduit l'existence, devrait être rendue obligatoire. La volonté de réduire la consommation d'espaces ruraux fait également face à la difficulté de cerner et de quantifier l'étalement urbain. Par ailleurs, certains dispositifs fiscaux et financiers favorisent des constructions en périphérie et s'opposent ainsi à l'objectif de densification (Laugier 2012).

I. 3. L'urbanisation : un syndrome de changements environnementaux

L'urbanisation s'accompagne d'un ensemble de changements paysagers tels qu'une imperméabilisation et une artificialisation des sols. L'**imperméabilisation** se réfère à toutes les surfaces bâties, impliquant un recouvrement des sols par du goudron ou du béton. L'**artificialisation** concerne les espaces non bâtis comme les espaces verts en ville (parcs, squares, équipements sportifs etc.). Il est également possible d'observer, au sein des villes, des enclaves de larges étendues boisées (exemple dans l'agglomération parisienne : bois de Vincennes et bois de Boulogne). Le milieu urbain est donc composite et représente une

mosaïque complexe d'espaces imperméabilisés et d'espaces verts (Sattler et al. 2010; Fortel et al. 2014). Les facteurs majeurs liés à l'urbanisation et cités de façon récurrente dans la littérature pour expliquer la perte de biodiversité sont la perte d'habitats naturels ainsi que la fragmentation *en soi*⁴ des habitats (voir Fahrig 2003). L'étalement urbain est associé à la transformation des espaces agricoles, forestiers ou semi-naturels en des surfaces imperméabilisées. Le mitage du territoire induit par l'étalement urbain est à l'origine d'une modification de la composition du paysage mais également de la structure du paysage avec possiblement une modification de la taille, de la forme et de l'isolement des espaces verts restants (Fahrig 2003).

Il est maintenant bien connu que les propriétés des matériaux utilisés pour la construction des bâtiments et des surfaces imperméabilisées ainsi que la topographie du bâti vont largement modifier les conditions météorologiques locales (Watkins et al. 2007). On peut citer le phénomène d'**îlot de chaleur urbain** représentant une bulle de chaleur sur la ville et qui est notamment associé à une différence des températures nocturnes de l'ordre de 2 à 3°C en moyenne annuelle entre le centre de Paris et les zones moins urbanisées (ex. forêt de Meudon ou Fontainebleau). La morphologie de la ville et l'orientation des bâtiments peut affecter l'écoulement de l'air (Desplat et al. 2013). D'autres facteurs abiotiques, néfastes au développement des plantes, comme l'augmentation du stress hydrique (Whitlow et al. 1992) ou encore l'augmentation du niveau de **salinité des sols**, due à l'utilisation régulière de sel de déneigement dans les zones à climat froid, ont été mis en lumière dans certaines villes (Cunningham et al. 2008).

L'une des caractéristiques du milieu urbain la plus souvent citée dans les médias, est la **pollution**. Les pollutions urbaines sont multiples et peuvent toucher les compartiments de l'air, de l'eau et du sol. Pour ne citer qu'un exemple, les pollutions chroniques associées aux automobiles sont notamment les émissions de gaz polluants, de matières en suspension, de micropolluants inorganiques (plomb, zinc, cadmium, cuivre, etc.) ou organiques (hydrocarbures) (Branchu et al. 2013).

Outre les changements abiotiques, rappelons que de nombreuses **modifications biotiques** ont également lieu dans les zones urbaines en comparaison avec les milieux ruraux alentours (Johnson et al. 2015). Par exemple, les communautés végétales urbaines sont généralement composées de fortes proportions d'espèces invasives et non-indigènes (Harrison and Winfree 2015). Certaines d'entre elles ont été introduites volontairement, comme certaines

⁴ Fragmentation *en soi* : division de l'habitat, à surface totale d'habitat égale (d'après Fahrig 2003)

plantes ornementales ou cultivées (McKinney 2008), et peuvent ainsi avoir été l'objet de sélections anthropiques (Chrobock et al. 2011).

Bien que beaucoup plus marquée pour les espèces végétales, l'introduction d'espèces non-indigènes en ville existe également pour les animaux vertébrés ou invertébrés (McKinney 2008). L'introduction dans les villes de pollinisateurs tels que l'abeille domestique, par l'installation de nombreux ruchers, en est la parfaite illustration. En 2015, la ville de Paris comportait près de 700 ruches réparties dans 25 ruchers (<http://www.paris.fr/actualites/paris-se-mobilise-pour-les-abeilles-3488>, consulté le 02/08/17). D'autres espèces sont également introduites, comme par exemple le bourdon *Bombus terrestris*, utilisé pour la pollinisation de certaines cultures (Harrison and Winfree 2015).

Les facteurs biotiques (ex. introductions volontaires d'espèces) et abiotiques cités dans cette section représentent des caractéristiques imposées par le milieu urbain aux communautés de plantes ou de pollinisateurs sauvages. Ces caractéristiques constitueront un premier filtre de sélection de ces deux communautés d'organismes. Selon les niveaux interactions et d'interdépendances entre les espèces de plantes et de pollinisateurs ayant outrepassé ce premier filtre, un second filtre de sélection s'appliquera à ces deux communautés. Ces deux filtres de sélection auront pour conséquence la persistance ou l'extinction de certains taxons selon leur tolérance aux conditions de vie imposées par le milieu urbain et ainsi modifier la composition et le fonctionnement des communautés urbaines de plantes et de pollinisateurs par rapport aux communautés rurales. Ces perturbations induites par l'urbanisation pourront également conduire, au sein des espèces de plantes et de pollinisateurs, à des divergences adaptatives entre les populations urbaines et rurales.

I. 4. Effet des perturbations liées à l'urbanisation sur l'assemblage des communautés de plantes et de pollinisateurs

I. 4.1. Les communautés de plantes en ville

En réponse à la nature composite des effets de l'urbanisation et de la variabilité des contextes géographiques, des résultats très contrastés concernant la richesse et la composition des communautés végétales urbaines ont été obtenus (McKinney 2008 ; Williams et al. 2015).

L'examen de la richesse spécifique en plantes le long de gradients d'urbanisation indique dans de nombreux cas la présence d'un maximum d'espèces à des niveaux intermédiaires d'intensité d'urbanisation (McKinney 2008). L'hypothèse émise, pour expliquer cette forte richesse à des intensités intermédiaires d'urbanisation, est que la diversité des

habitats est souvent maximale dans la zone de transition entre deux milieux très distincts favorisant ainsi un maximum de diversité spécifique (Zerbe et al. 2003; McKinney 2008). La diversité et la structuration spatiale des habitats, le mode de gestion de ces espaces et leur histoire floristique sont autant de facteurs à considérer pour appréhender la variabilité floristique que l'on peut rencontrer en milieu urbanisé (Zerbe et al. 2003; Politi Bertoncini et al. 2012). Remarquons également qu'au sein d'une même ville les variables socio-économiques telles que le revenu moyen par famille et l'âge d'implantation des logements dans le quartier peuvent être positivement corrélés à la diversité végétale présente (Hope et al. 2003). Selon l'échelle spatiale à laquelle les effets de l'urbanisation sont analysés, les résultats peuvent être contrastés voire opposés (Pautasso 2007; Jackson and Fahrig 2015). Par exemple, la corrélation entre l'urbanisation et la richesse spécifique en plantes est positive pour les études conduites à des échelles supérieures à 10 000 km² et négative à des échelles inférieures. A l'échelle régionale (>10 000 km²), la corrélation positive entre l'urbanisation et la richesse en plantes s'expliquerait, d'une part, par la préférence des populations humaines à s'installer dans les habitats riches en biodiversité et, d'autre part, par l'introduction d'espèces ou par la création habitats diversifiés (Pautasso 2007).

Il faut souligner que cette forte richesse végétale en zone urbanisée à l'échelle régionale ne se traduit pas obligatoirement en termes de diversité fonctionnelle. L'analyse conduite en Allemagne, à l'échelle nationale, par Knapp et al. (2008a), a mis en évidence que la forte richesse spécifique trouvée en milieu urbain s'explique essentiellement par la présence de nombreuses espèces fonctionnellement similaires et ayant une diversité phylogénétique réduite.

De la même manière que pour la richesse spécifique, les traits floristiques identifiés comme caractéristiques des communautés urbaines sont très différents selon les villes considérées. En effet, selon les villes ou agglomérations, le nombre et la nature des stress liés à l'urbanisation est variable et peut ainsi avoir des conséquences sur l'occurrence des traits floristiques le long des différents gradients d'urbanisation (Figure I.2).

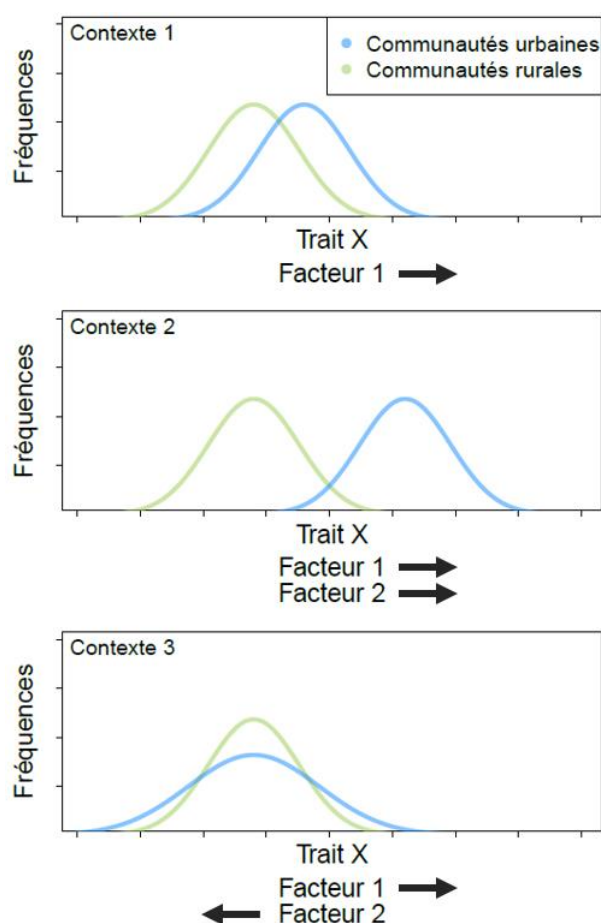


Figure I.2 : Illustration de trois contextes d'urbanisation ayant des perturbations environnementales distinctes par leur nombre et leur nature et affectant la distribution d'occurrence d'un caractère végétal. La ligne verte représente la distribution des fréquences du trait X, au sein des communautés rurales, la ligne bleue la distribution des fréquences au sein des communautés urbaines, en réponse aux facteurs environnementaux associés à chaque contexte d'urbanisation (d'après Williams et al. 2015).

Néanmoins, dans une revue de 29 articles portant chacun sur l'étude de traits floristiques ou d'indicateurs de préférences écologiques des espèces constituant les flores urbaines, Williams et al. (2015) ont mis en lumière certaines caractéristiques communes. Généralement, les flores urbaines sont constituées d'espèces plus thermophiles, plus tolérantes aux sécheresses et préférant des substrats plus alcalins et riches en nutriments (ex. Vallet et al. 2010) que les flores rurales. La thermophilie des espèces végétales colonisant les villes s'expliquerait par l'existence d'îlots de chaleur urbains, communs à beaucoup de villes. Le milieu urbain présente également des sols plus riches en nitrate, provenant notamment de la transformation d'oxydes nitriques (NO_x) émis par les activités anthropiques, favorisant ainsi des plantes nitrophiles (ex. Pellissier et al. 2008). La nature des matériaux utilisés pour la construction des bâtiments (ciment, mortier, très basiques car constitués de beaucoup de calcaire), dont des débris se retrouvent déposés dans de nombreux endroits en ville, expliquerait la plus forte occurrence des

espèces basophiles (affinité au sols alcalins) observée en milieu urbain en comparaison au milieu rural (Knapp et al. 2009).

Selon la classification triptyque de la végétation (Compétitrices – Rudérales - Tolérantes aux stress) proposée par Grime (1974), les perturbations induites par l'urbanisation pourraient favoriser les plantes « rudérales » et « tolérantes aux stress ». Les plantes dites rudérales se caractérisent par leur tolérance aux perturbations environnementales (ex. piétinement, tonte, labour, etc.). Elles sont majoritairement annuelles ou à courte durée de vie et présentent une croissance post-semis rapide. La tolérance aux stress se réfère à des stress continus et marqués, comme le manque de nutriments dans des sols acides ou basiques, l'ombrage ou encore la sécheresse (Grime 1974). Le nombre de travaux comparant les communautés végétales urbaines et rurales, en utilisant la classification de Grime, reste encore limité. Dans l'état actuel des connaissances, il est difficile de percevoir un patron de distribution des différentes stratégies de Grime commun à de nombreux gradients d'urbanisation (Williams et al. 2015).

Pour ce qui est de la biologie de la reproduction, il a été montré que l'urbanisation favorise les espèces à pollinisation anémophile et défavorise les plantes à pollinisation biotique (Knapp et al. 2008b). Néanmoins d'autres études n'identifient aucune différence (Williams et al. 2015). Knapp et al. (2008b) ont également montré une plus grande fréquence en ville d'espèces avec des fleurs qui réfléchissent aux rayons UV. Ce dernier point pourrait être lié à des différences d'abondance ou de composition des communautés de pollinisateurs en ville, pour qui l'aptitude à percevoir les UV varie entre espèces.

Un des effets les plus clairs de l'urbanisation sur les plantes est une modification de leur phénologie. L'augmentation des températures en ville induit une précocité de feuillaison et de floraison (Neil and Wu 2006). D'autres éléments associés au milieu urbain sont suspectés avoir des effets sur la phénologie des plantes. Il s'agit entre autres de (1) la modification de la photopériode induite par la pollution lumineuse en ville, (2) la modification de l'humidité des sols, (3) l'augmentation de la concentration en CO₂, (4) la production de composés organiques volatils (COV) ou encore (5) la diminution de l'exposition aux UV-B due à la pollution urbaine (Neil and Wu 2006). Rappelons par ailleurs que les espèces ornementales plantées en milieu urbain peuvent avoir une phénologie très dépendante des dates de plantation et peuvent également avoir été l'objet d'une sélection pour leur précocité de germination (Chrobock et al. 2011). De manière générale, en réponse au réchauffement climatique, les espèces ayant une floraison printanière, les espèces annuelles et les espèces pollinisées par les insectes semblent plus susceptibles à fleurir plus précocement (Fitter and Fitter 2002). Des résultats similaires sont donc à attendre en milieux urbains.

A plusieurs reprises, des travaux ayant répertorié les caractéristiques des graines des communautés végétales urbaines et rurales ont révélé que les espèces des communautés urbaines présentaient des graines plus lourdes que celles des communautés rurales (Williams et al. 2015). L'une des explications avancée pour rendre compte de ce résultat est que les espèces ayant des graines plus lourdes serait avantagées sur les espèces aux graines plus légères dans des environnements contraignants (forte compétition, ombrage, sols peu fertiles ou peu profond, sécheresse etc.) (voir la revue de Westoby et al. 2002). Le milieu urbain représente un environnement particulièrement sujet à ce type de perturbations (voir section I. 3).

I. 4.2. Les communautés de pollinisateurs en ville

De même que pour les communautés végétales urbaines, les résultats concernant les effets de l'urbanisation sur les communautés de pollinisateurs sont très variables selon les taxons, les contextes géographiques ainsi que les méthodologies utilisées. D'après une étude réalisée très récemment sur 12 villes du Royaume-Uni, les milieux urbains pourraient présenter des richesses spécifiques en pollinisateurs comparables à celles des milieux agricoles et naturels (Baldock et al. 2015). Néanmoins, l'augmentation de la proportion des surfaces imperméables dans le paysage a également été identifiée à plusieurs reprises comme ayant un impact négatif sur la richesse spécifique de visiteurs floraux⁵ tels qu'abeilles, bourdons ou syrphes (Hernandez 2009; Ahrné et al. 2009; Bates et al. 2011; Deguines et al. 2016), notamment dans l'agglomération parisienne (Geslin et al. 2016). Dans l'agglomération lyonnaise en revanche, un maximum de richesse spécifique en abeilles a été observé à des niveaux d'imperméabilisation intermédiaires (Fortel et al. 2014). Ce résultat a été mis en relation avec le maximum d'hétérogénéité paysagère, atteint à 50% de surfaces imperméables, déjà évoqué précédemment pour la richesse en espèces végétales (McKinney 2008).

Plusieurs auteurs ont montré que l'abondance totale en pollinisateurs était négativement affecté par l'imperméabilisation (Bates et al. 2011; Geslin et al. 2013; Fortel et al. 2014). Cependant, ce constat général masque une grande hétérogénéité de réponses à l'urbanisation, qui dépendent des taxons considérés (Deguines et al. 2012). Contrairement à l'idée reçue qui consiste à penser que les organismes vivants seront essentiellement affectés négativement par l'urbanisation, il s'avère que les réponses peuvent prendre toutes les formes possibles, allant

⁵ Une distinction est faite entre les visiteurs floraux (ou floricoles) et les pollinisateurs. Par définition les pollinisateurs sont des animaux, souvent des insectes, qui assurent la pollinisation chez les plantes entomophiles. Comme il est parfois difficile de déterminer l'efficacité de transport du pollen de certains taxons animaux, la catégorie des visiteurs floraux, comprenant notamment celle des pollinisateurs, est parfois utilisée. Les visiteurs floraux, c'est-à-dire qui visitent les fleurs, se nourrissent très souvent des ressources florales (nectar, pollen, etc.).

d'une réponse monotone positive ou négative à des réponses multimodales plus complexes (McDonnell and Hahs 2008, Figure I.3). Ceci a été particulièrement souligné dans le cas des pollinisateurs, avec certains taxons dits « urbanophiles » et d'autres « urbanophobes » (Banaszak-Cibicka and Zmihorski 2012; Fortel et al. 2014).

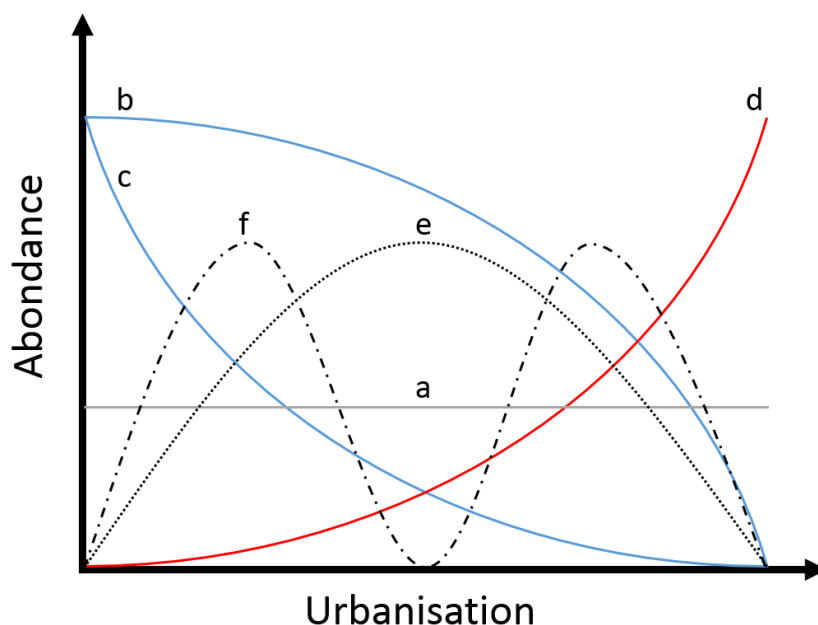


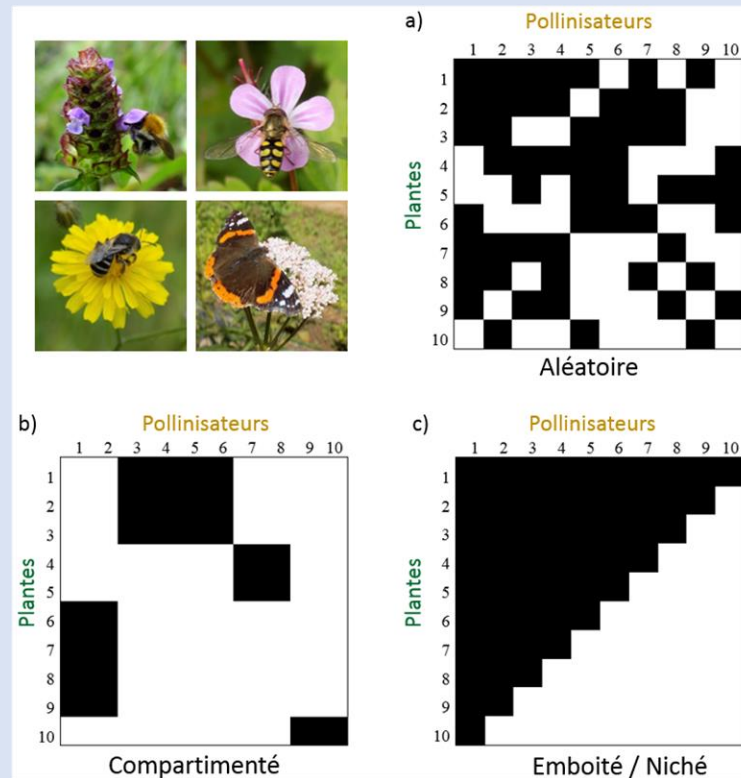
Figure I.3 : Illustration de la grande variabilité de réponses des taxons face à un gradient d'urbanisation. Les courbes bleu, rouge et grise représentent respectivement des cas où l'urbanisation a un effet neutre (a), négatif (courbe concave (b), ou convexe (c)) ou positif (d) sur l'abondance d'un taxon. Les réponses de l'abondance d'un taxon à l'urbanisation peuvent également être unimodale (e) ou multimodale (f) (d'après McDonnell and Hahs 2008).

Les taxons généralement référencés comme ayant une préférence pour les milieux urbains sont les espèces ayant la capacité de nidifier dans des cavités de forme allongée, comme les trous présents dans les murs et les poutres des bâtiments (Hernandez 2009; Fortel et al. 2014). A l'opposé, les taxons nidifiant uniquement dans le sol sont négativement affectés par l'urbanisation (Geslin et al. 2016). Certaines espèces nidifiant sous terre peuvent néanmoins être retrouvées dans les espaces verts urbains pas ou peu gérés (ex. végétation en friche, tontes peu fréquentes, présence de branches mortes), présentant moins de perturbations au niveau du sol (compaction, imperméabilisation) et une ressource florale abondante (Threlfall et al. 2015). En parallèle, il est généralement admis que les espèces dites oligolectiques (spécialistes d'une ou quelques espèces de plantes à fleur) sont plus sensibles à l'urbanisation que les espèces polylectiques (généralistes) (Hernandez 2009; Deguines et al. 2016). Ce dernier point est probablement à mettre en relation avec la plus faible diversité fonctionnelle des espèces végétales retrouvée en milieu urbain par rapport au milieu rural (Knapp et al. 2008a).

Encadré I.2 : Les relations plantes-pollinisateurs

La relation plantes-pollinisateurs est dite mutualiste. En effet, ces interactions confèrent un bénéfice réciproque, en terme de fitness, pour les deux types organismes. Le pollinisateur va visiter les fleurs des espèces végétales pour récolter la nourriture qu'elles fournissent (ressources florales : nectar, pollen, résines, huiles) et en retour, ils vont fournir à la plante un service de pollinisation (transport du pollen des étamines vers les stigmates).

Comme chaque espèce de pollinisateur peut visiter plusieurs espèces végétales et que réciproquement chaque espèce végétale peut être visitée par plusieurs espèces de pollinisateurs, les relations plantes-pollinisateurs constituent un réseau d'interactions complexe. Par définition, les espèces de pollinisateurs dits « spécialistes » vont interagir avec un petit nombre d'espèces végétales alors que les espèces « généralistes » vont interagir avec de nombreuses espèces végétales. Au même titre, il est défini des espèces de plantes spécialistes et généralistes. Les études des réseaux plantes-pollinisateurs ont révélé que les interactions ne sont pas structurées de façon aléatoire (Figure I.4a), ni compartimentée (Figure I.4b) mais plutôt de façon emboîtée (ou nichée) (Figure I.4c) (Bascompte et al. 2003). Cette structure est la conséquence d'une tendance des pollinisateurs spécialistes à visiter des plantes généralistes, et vice-versa. Memmott et al. (2004) ont montré qu'un réseau emboîté, associé à la redondance des pollinisateurs par rapport aux plantes (environ 1:3), conféraient à la fonction de pollinisation une stabilité face à l'extinction d'espèces de plantes ou de pollinisateurs.



Les abeilles à langue longue semblent être plus tolérantes à l'urbanisation que les abeilles à langue courte (Fortel et al. 2014). En effet, les abeilles à langue courte peuvent butiner uniquement dans des corolles en tube peu profondes ou très évasées alors que les abeilles à langue longue peuvent visiter une plus grande variété de formes de corolles, ce qui leur confère une plus grande flexibilité de butinage (Fontaine et al. 2006). Il faut souligner qu'il peut également exister une relation positive entre la capacité de nidifier dans des cavités et la longueur des langues. Par exemple, les insectes de la famille des Megachilidae ont généralement une longue langue et nichent dans des cavités de forme allongée (murs, bois) alors les insectes de la famille des Halictidea ou Andrenidea ont une langue courte et nichent dans le sol (Fortel et al. 2014).

Il existe un large panel de facteurs affectant les effectifs de pollinisateurs en ville, incluant des facteurs non-sélectifs, touchant tout pollinisateurs confondus, et d'autres facteurs sélectifs, affectant certains taxons plus que d'autres. Ainsi, on peut par exemple s'attendre à ce que le niveau de pollution en composés organiques volatils produit par les moteurs à combustion, influençant la perception des fleurs par les insectes (Riffell et al. 2014), ou encore que la circulation des véhicules, causant la mortalité des pollinisateurs (Baxter-Gilbert et al. 2015) soient des facteurs qui affectent la majorité des taxons de pollinisateurs. A l'opposé, la composition des flores urbaines, la disponibilité des différents sites de nidification ou encore la fragmentation des habitats vont jouer le rôle de filtres sélectifs s'appliquant notamment à l'échelle interspécifique, en impactant préférentiellement les taxons les moins adaptés et ayant une moins grande plasticité phénotypique (ex. comportement de butinage).

Comme évoqué précédemment, notamment par l'intermédiaire de l'abondance relative des formes de corolles, la composition floristique urbaine va possiblement représenter un filtre important pour la survie de certains taxons de pollinisateurs en milieu urbain (Harrison and Winfree 2015). L'introduction et le choix des plantes (indigènes ou exotiques) dans les espaces verts semblent également avoir un impact sur les préférences de butinage de certains taxons (Salisbury et al. 2015). De la même manière, l'introduction d'espèces de pollinisateurs en ville, comme par exemple l'abeille domestique, peut entraîner une compétition directe ou indirecte avec les pollinisateurs sauvages (en termes de disponibilité en ressource florale, en sites de nidification, présence de pathogènes en communs...) et ainsi affecter le réseau d'interactions entre les communautés de plantes et de pollinisateurs. L'introduction de pollinisateurs en ville implique également de possibles effets sur la survie de certains taxons de plantes spontanées en ville (voir la synthèse Geslin et al. 2017).

Malgré la tolérance des réseaux d'interactions plantes-pollinisateurs face à l'extinction des espèces animales et végétales (Memmott et al. 2004)(**encadré I.2**), il semble néanmoins que la fonction de pollinisation soit impactée par la perte d'habitat et la fragmentation (Hadley and Betts 2011). La réduction de la taille des espaces verts va notamment affecter la démographie des plantes et des pollinisateurs par des modifications de la probabilité de colonisation, du taux d'extinction ainsi que de la taille des populations. Les multiples effets positifs ou négatifs des bordures, induits par la forme des espaces verts, pourront notamment affecter l'abondance et la reproduction des espèces de plantes et de pollinisateurs. Pour finir, l'isolement des espaces verts aura des conséquences sur la connectivité fonctionnelle⁶ au sein du paysage en bouleversant la mobilité animale ainsi que les taux de dispersion de semences et de pollens pour les espèces végétales (voir les synthèses de Hadley and Betts 2011 et Harrison and Winfree 2015 pour les effets de la fragmentation sur les interactions plantes-pollinisateurs). A plusieurs reprises il a été observé empiriquement que le comportement de butinage des pollinisateurs était sensible à la fragmentation du paysage (Goulson 1999; Goverde et al. 2002; Baguette et al. 2003; Andrieu et al. 2009). La théorie mathématique de butinage optimal (*optimal foraging theory*) modélisant, entre autres, le comportement de recherche alimentaire d'un pollinisateur dans un habitat fragmenté, prédit que les patches de petite taille seront de moins en moins visités à mesure que la distance inter-patches sera grande (Charnov 1976). En milieu urbain, présentant un habitat fragmenté, ces prédictions mathématiques ont effectivement été observées, accompagnées par une plus grande exploitation de la ressource florale au sein des patches isolés (Andrieu et al. 2009), probablement pour compenser les dépenses énergétiques associées aux plus grand trajets inter-patches.

Il est actuellement encore difficile de savoir si la fragmentation a un effet sélectif sur les espèces de pollinisateurs en fonction de leurs traits. Rappelons que les conditions nécessaires à l'installation d'une population de pollinisateurs à un endroit donné sont l'accès à une ressource florale suffisante tout au long de la saison de butinage ainsi que l'accès à un site offrant des opportunités de reproduction et de nidification (Meyer et al. 2009; Fortel et al. 2014). Ces conditions recouvrent les deux processus fondamentaux à l'échelle du paysage que sont la **complémentation**, et la **supplémentation**. La **complémentation** assure la complémentarité des différentes fonctions écologiques entre différents sites (ex. site pour la nutrition ou la nidification). La **supplémentation** assure la complémentarité des ressources (ex. ressources florales) au sein d'un site ou entre différents sites et est nécessaire à l'accomplissement de

⁶ Connectivité fonctionnelle : fait qu'un individu (ou les propagules d'une espèce) puisse passer d'une tache [éléments éco-paysagers] à l'autre, même si elles sont éloignées (Burel and Baudry 1999).

chacune des fonctions en cas de carences temporelles ou spatiales (voir le principe de « Ecological landuse complementation » dans Colding 2007). Comme les espaces verts urbains ne rassemblent pas toujours ces conditions en un même endroit pour un taxon donné (Hernandez 2009), le déplacement des individus est nécessaire pour accomplissement de l'ensemble de leur cycle de développement (Pope et al. 2000). Ainsi, il existe une controverse dans la littérature concernant une sélection sur la capacité de vol des pollinisateurs, souvent corrélée à la taille du corps pour les abeilles (par exemple Gathmann and Tschamntke 2002; Greenleaf et al. 2007). D'un côté, on pourrait s'attendre à ce que les pollinisateurs ayant des capacités de vol à grande distance soient plus tolérants à la fragmentation en milieu urbain (voir Geslin et al. 2013). A l'opposé, les taxons ayant la capacité de survivre sur des plus petits patches, avec peu de besoins en ressources, ayant possiblement une plus petite capacité de vol, sont également supposés être moins sensibles à la fragmentation. Cela suggère qu'il existe potentiellement un trade-off⁷ entre la capacité de survie sur des petits patches et la capacité de vol à grande distance, à l'origine de cette controverse (Harrison and Winfree 2015). A cela vient s'ajouter le fait que les pollinisateurs peuvent modifier leurs comportements de déplacement en fonction de la fragmentation (Andrieu et al. 2009) ou encore de l'hostilité de la matrice inter-patches (ex. trafic routier). Ainsi, même en ayant une capacité de vol à grande distance, les pollinisateurs peuvent se cantonner à un unique patch d'espace vert si le risque de mortalité lors des déplacements inter-patch est trop important et que les conditions nécessaires à la survie sont présentes dans le patch.

La compréhension des facteurs de déplacements des pollinisateurs en ville ainsi que des échelles spatiales pertinentes écologiquement est encore largement lacunaire (Jackson and Fahrig 2012, 2015). La grande majorité des études menées sur les distances de vols des pollinisateurs sont faites sur les abeilles domestiques et les bourdons (ex. Goulson and Stout 2001; Westphal et al. 2006; mais voir Krauss et al. 2003; Meyer et al. 2009; Wright et al. 2015) alors que d'autres taxons peuvent également jouer un rôle majeur dans la pollinisation d'espèces végétales spontanées et cultivées.

I. 5. Effet des perturbations liées à l'urbanisation sur l'évolution des plantes

Comme mentionné ci-dessus (**encadré I.2**), les réseaux d'interactions plantes-pollinisateurs, notamment par leur structuration emboîtée (Bascompte et al. 2003), ont le

⁷ Trade-off : compromis évolutifs

potentiel de tamponner les extinctions en chaîne entre les espèces végétales et les espèces de pollinisateurs en situation d'urbanisation (Memmott et al. 2004). L'évolution adaptative à court terme des espèces de plantes face au déclin des pollinisateurs, ou à d'autres facteurs associés à l'urbanisation, peut également prévenir leur extinction (Thomann et al. 2013).

De manière générale, les conditions nécessaires à l'évolution d'un trait par sélection sont (1) l'existence d'une variabilité interindividuelle au sein d'une population pour ce trait, (2) que la valeur du trait soit associée à des différences de valeur sélective⁸ et (3) que ce trait soit en partie héritable. Contrairement à l'idée reçue selon laquelle l'évolution des espèces est un processus lent, il a déjà été montré que l'évolution adaptative d'un trait phénotypique peut se faire à l'échelle de moins d'une dizaine d'années (Franks et al. 2007). De par les modifications drastiques de l'environnement, les villes sont susceptibles d'imposer de très fortes intensités de sélection sur les populations naturelles et représentent ainsi des « expériences non-intentionnelles » portant sur l'évolution rapide des espèces (Milius 2016). Les adaptations contemporaines ayant été répertoriées en populations naturelles sont très souvent associées à des perturbations anthropiques (ex. la pollution, l'utilisation d'insecticides ou d'herbicides) (Reznick and Ghalambor 2001). Historiquement, l'un des premiers exemples d'évolution adaptative face à une activité anthropique est illustré par le célèbre cas de mélanisme chez la phalène du Bouleau (*Biston betularia*) en réponse au noircissement des troncs d'arbres causé par la pollution atmosphérique et à une sélection imposée par la prédation par les oiseaux (Kettlewell 1955).

Comme mentionné plus haut, l'urbanisation est un phénomène complexe impliquant un ensemble de changements biotiques et abiotiques. Les composantes et conséquences de l'urbanisation sont susceptibles de modifier des forces évolutives (migration, sélection, effet du hasard d'échantillonnage) qui conduiront à l'évolution des espèces, notamment végétales. La théorie nous informe que les perturbations liées à l'urbanisation peuvent non seulement conduire à une évolution adaptative mais également non adaptative associée à une dérive génétique, des effets de fondation ou encore l'altération des flux génétiques (Donihue and Lambert 2014; Johnson et al. 2015). Par exemple, la fragmentation des habitats, entraînant une réduction de la taille des populations et leur isolement, peut conduire par dérive génétique à une perte d'allèles et à une augmentation du taux d'homozygotie et de la consanguinité. L'isolement des populations réduit également la probabilité de réintroduction, par migration, des allèles

⁸ La valeur sélective d'un génotype (ou fitness) est égale au nombre moyen de descendants viables et fertiles fourni par les individus porteurs de ce génotype à la génération suivante (http://uel.unisciel.fr/biologie/genepop/genepop_ch04/co/apprendre_ch4_03.html, consulté le 10/08/17) .

perdus par dérive (ex. Jacquemyn et al. 2012). Ces deux éléments de la fragmentation (réduction de taille des populations et isolement) peuvent ainsi accroître la différenciation génétique des populations sans intervention d'un mécanisme de sélection naturelle. Par ailleurs, une différenciation phénotypique n'est pas obligatoirement synonyme de différenciation génétique. En effet, selon les conditions environnementales de développement des plantes (sols, lumière, disponibilité de l'eau, etc...) la plasticité phénotypique peut entraîner des différences morphologiques, physiologiques et reproductives.

Pour établir de façon empirique l'existence d'une évolution adaptative face au milieu urbain il est nécessaire de montrer des différences phénotypiques entre les populations urbaines et rurales, de prouver que ces différences sont au moins partiellement héritables et qu'elles apportent un avantage en termes de fitness dans les environnements d'origine (Donihue and Lambert 2014). Pour cela, il est possible réaliser des expérimentations en environnement commun, couplées à des tests de fitness dans des environnements d'origine, ou encore de réaliser des expériences de transplantation réciproque. Pour s'affranchir de possibles effets maternels⁹, il est préférable de réaliser les observations morphologiques sur les individus issus de la génération F1 ou F2 plutôt que sur la génération issue des graines directement récoltées dans les environnements d'origine (Weiner et al. 1997). Cependant, les effets maternels se manifestent essentiellement à des stades de développement précoces (masse/taille des graines, taux de germination) et deviennent imperceptibles à des stades plus avancés (croissance, reproduction) (Bischoff and Müller-Schärer 2010). Ainsi, pour l'étude de caractères intervenant au stade de reproduction des plantes, les effets maternels seront limités et l'observation de la génération issue des graines récoltées dans des environnements divers informe déjà correctement de l'évolution des espèces.

En toute rigueur, pour pouvoir détecter l'adaptation d'une espèce au milieu urbain en général, il est nécessaire de mener l'expérience sur un nombre statistiquement suffisant de couples d'observations, sur des populations d'origines urbaines et rurales, associés à des villes différentes pour montrer qu'il s'agit bien d'un processus commun à plusieurs villes (Yakub and Tiffin 2017). Au-delà de s'assurer de la répétabilité des résultats, ce dernier point est également un bon moyen pour identifier les facteurs environnementaux à l'origine de l'évolution adaptative des espèces. Toutefois, en plus d'être chronophage, la répétition inter ville n'est pas

⁹ Effet maternels : influences d'une plante mère sur le phénotype de ses descendants par l'intermédiaire d'un mécanisme différent que celui expliqué par l'information génétique contenue dans les chromosomes (*e.g.* par l'intermédiaire de la quantité de réserves nutritives contenues dans les graines, dépendante de l'environnement de développement des plantes mères)(Weiner et al. 1997).

nécessairement un objectif possible à atteindre pour toutes les études portant sur l'évolution adaptative des espèces aux milieux urbains. En effets, certains changements environnementaux entre milieux urbain et rural ne peuvent se retrouver que dans un nombre limité de situations géographiques (accidents industriels à l'origine de pollutions, agencement des espaces verts, etc...). En général, les objectifs de l'ensemble des études évolutives en milieu urbain, conduites ou non sur plusieurs villes, sont doubles. En premier lieu, ces travaux empiriques ont le potentiel d'éclairer directement certains aspects des théories évolutives (Donihue and Lambert 2014) ou de fournir des données essentielles à la calibration de modèles de génétique quantitative. Un second objectif, plus appliqué, est de comprendre les trajectoires évolutives actuelles des espèces face à ces nouveaux contextes environnementaux en pleine expansion, en vue de construire des villes plus durables, qui maintiennent des fonctions écosystémiques dont certains sont nécessaires au bien-être humain (Donihue and Lambert 2014; Johnson et al. 2015; Alberti et al. 2017). L'augmentation des températures retrouvée en ville conduit même certains auteurs à penser que ces études évolutives peuvent, dans une certaine limite, informer du potentiel adaptatif des espèces face aux problématiques de réchauffement climatique global (Lambrecht et al. 2016; Yakub and Tiffin 2017).

Malgré les intérêts théoriques et appliqués de cette thématique de recherche ainsi que la relative commodité de travail sur des espèces végétales, les études empiriques conduites sur l'évolution adaptative des plantes face aux milieux urbains sont extrêmement rares. Dans ce domaine, l'une des études faisant office de référence est celle de Cheptou et al. (2008) sur la réponse adaptative de l'espèce *Crepis sancta* face à la fragmentation. Cette espèce présente une diminution de la proportion de graines dispersantes par rapport au nombre total de graines produites par capitule pour les populations urbaines fragmentées par rapport aux populations rurales non fragmentées (Cheptou et al. 2008). Ceci est peut-être à mettre en relation avec les résultats issus de la synthèse de Williams et al. (2015) (voir section I. 4.1), montrant que les espèces des communautés urbaines présentent des graines plus lourdes que celles des communautés rurales. Dans la même espèce, *Crepis sancta*, il existe également des adaptations morphologiques (plantes plus grandes), physiologiques (augmentation de la photosynthèse et de la concentration en azote des feuilles) et phénologiques (retard de floraison et de senescence) dans les populations issues d'un milieu urbain par rapport à des populations issues d'un milieu rural (Lambrecht et al. 2016). L'étude de Yakub et Tiffin (2017), portant sur *Lepidium virginicum* dans cinq villes d'Amérique du Nord, a révélé que les plantes d'origine urbaine (1) arrivaient au stade de montaison plus rapidement, (2) étaient plus grosses et (3) produisaient plus de graines que les populations d'origines rurales. Une autre étude, menée sur l'espèce

Trifolium repens, a mis en évidence que dans trois des quatre villes étudiées les plantes d'origine urbaine présentaient une perte de leur capacité de cyanogénèse¹⁰ (Thompson et al. 2016). Ceci a été mis en relation avec, d'une part, l'absence de différence d'herbivorie entre les milieux urbain et rural et, d'autre part, les plus faibles températures hivernales observées dans les villes. Ce dernier point serait impliqué dans la contre-sélection de la capacité de cyanogénèse. En effet, le froid pourrait endommager les cellules et donc provoquer de l'auto-toxicité (Thompson et al. 2016). Cette étude illustre bien la difficulté de prédiction des réponses évolutives face à l'urbanisation puisque les résultats étaient à l'exact opposé de l'hypothèse initiale supposant qu'en l'absence de différence d'herbivorie entre ville et campagne, l'îlot de chaleur urbain réduirait les événements de gels en villes et par conséquent réduirait la contre-sélection de la cyanogénèse en ville par rapport à la campagne.

De manière générale, dans le domaine de la biologie évolutive chez les plantes, l'un des systèmes ayant été le plus amplement examiné par l'intermédiaire de travaux théoriques et empiriques est le système de reproduction des plantes entomophiles (Cruden 1977; Arroyo et al. 2006; Harder and Aizen 2010; Sicard and Lenhard 2011; Devaux et al. 2014). Les théories sur l'évolution du système de reproduction sont complexes et font intervenir un grand nombre de facteurs spécifiques à chaque environnement, chaque espèce végétale, elle-même associée à un cortège de pollinisateurs. Les modifications des communautés de pollinisateurs induites par l'urbanisation, représentant des expériences non-intentionnelles, ont le potentiel de fournir de nombreuses données empiriques inédites permettant de valider et d'approfondir nos connaissances sur l'évolution des systèmes de reproduction (Thomann et al. 2013).

Faisons l'hypothèse d'une réduction des visites de pollinisateurs d'une espèce végétale donnée face à un niveau croissant d'urbanisation (ex. Geslin et al. 2013; Fortel et al. 2014). Si l'espèce végétale est auto-compatible et au moins partiellement allogame, la réduction des visites florales pourraient se traduire par une **limitation en pollen** (PL), c'est-à-dire une réduction du succès reproducteur (qualité/quantité de fruits ou graines produits) induite par une réduction de la quantité (ou de la qualité) de pollen reçu sur les stigmates (Devaux et al. 2014). En ville, la limitation en pollen peut résulter d'autres causes, comme par exemple la réduction du nombre d'individus donneurs de pollen (Harder and Aizen 2010). Face à une telle situation de déclin des pollinisateurs deux grands scénarios d'évolution sont possibles (Thomann et al. 2013), bien que d'autres études revendiquent une plus grande complexité des options évolutives

¹⁰ Cyanogénèse : défense chimique, que possèdent certaines plantes, contre les herbivores et qui consiste en la production de cyanure d'hydrogène (HCN), qui inhibe la respiration cellulaire et est toxique pour les plantes et les animaux (d'après Thompson et al. 2016).

(voir la synthèse de Harder and Aizen 2010). Le premier scénario évolutif consisterait en une augmentation de l'autofécondation autonome (Figure I.5) et le second en une augmentation de l'attractivité des fleurs pour les pollinisateurs restants (Eckert et al. 2009; Thomann et al. 2013). Il est presque imprédictible, *a priori*, d'identifier lequel de ces deux scénarii, aux conséquences morphologiques souvent opposées, se réalisera.

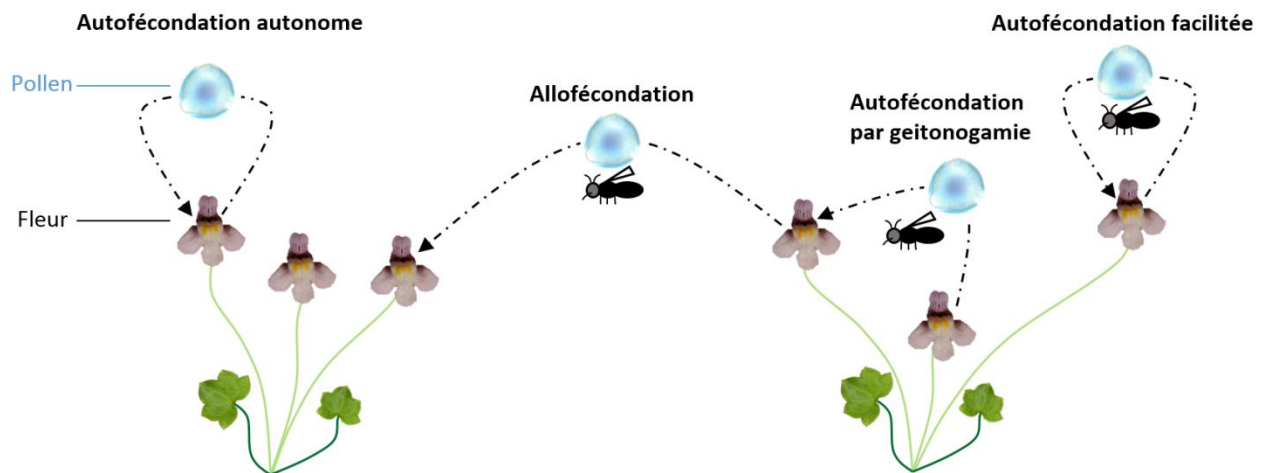


Figure I.5 : Illustration des différents modes de fécondation des plantes entomophiles et auto-compatibles, avec l'exemple de *Cymbalaria muralis*. L'**allofécondation** correspond à la fécondation issue du transport du pollen des étamines d'un individu vers le stigmate d'un autre individu. L'autofécondation peut être divisée en trois catégories : l'autofécondation issue de geitonogamie, l'autofécondation facilitée et l'autofécondation autonome. La **geitonogamie** est une autofécondation issue du transport du pollen des étamines d'une fleur vers le stigmate d'une autre fleur sur le même individu. L'**autofécondation autonome** est une autofécondation issue du transfert du pollen des étamines d'une fleur vers le stigmate de la même fleur sans l'intervention d'un pollinisateur. L'**autofécondation facilitée** est une autofécondation issue du transport du pollen des étamines d'une fleur vers le stigmate de la même fleur avec l'intervention d'un pollinisateur.

En fait, selon l'origine de la limitation en pollen, les conséquences évolutives peuvent être différentes (Eckert et al. 2009). Sous condition d'un faible nombre de visites florales et d'un faible nombre de donneurs de pollen, la forte limitation en pollen, avantagerait les individus avec les plus grands taux d'autofécondation autonome leur procurant ainsi une plus forte assurance reproductive. Généralement, la transition vers l'autofécondation autonome est accompagnée d'un syndrome de changements morphologiques et fonctionnels associés aux fleurs, comme un changement d'allocation à la fonction mâle ou femelle ou bien une modification de l'attractivité des fleurs et/ou de la distance entre les anthères et le stigmate (nommée herkogamie) (Sicard and Lenhard 2011). Une réduction de l'investissement dans la fonction mâle (production de pollen) par rapport à la fonction femelle (production d'ovule) a été observée pour les espèces réalisant de l'autofécondation, par rapport aux espèces réalisant

de l'allofécondation (Cruden 1977). Ce constat résulte de l'étude des ratios pollen/ovule (ratios P/O). L'une des explications serait que chez les espèces à autofécondation autonome, en comparaison aux espèces à allofécondation, il y a une plus forte probabilité qu'un grain de pollen atteigne un stigmate de la même espèce. Ainsi, pour la plante, il y aurait un intérêt à produire moins de grains de pollen (coûteux en énergie) pour féconder le même nombre d'ovules (Cruden 1977). En parallèle, la transition vers l'autofécondation s'accompagne d'une réduction de l'attractivité des fleurs, comme la taille des fleurs ou la quantité de nectar (Sicard and Lenhard 2011). Plusieurs mécanismes ont été proposés pour expliquer ces transitions parallèles avec les modifications florales tantôt comme causes, tantôt comme conséquences de l'autofécondation (voir les quatre mécanismes dans Sicard and Lenhard 2011). Ce scénario évolutif de la transition vers l'autofécondation semble s'être réalisé pour des populations de *Centaureum erythraea* issues de milieux perturbés par l'homme (zones industrielles) et présentant moins de visites de pollinisateurs, en comparaison avec des populations issues de milieux plus naturels (dunes côtières) et présentant plus de visites de pollinisateurs. Les populations issues de milieux présentant moins de visites de pollinisateurs présentent également (1) une réduction du nombre et de la taille de fleurs, (2) une plus faible herkogamie et (3) une réduction du ratio P/O. C'est très probablement la réduction de l'herkogamie chez ces populations qui aurait également induit une augmentation de près de 36% du taux d'autofécondation autonome par rapport aux populations de milieux présentant plus de visites de pollinisateurs (Brys and Jacquemyn 2012).

En contraste avec le scénario précédent, sous condition d'une situation de pollinisation plus erratique, provoquant une plus grande variabilité de la limitation en pollen entre les individus d'une population, associée à une situation de forte densité en congénères (donneurs de pollen), il pourrait y avoir plusieurs options évolutives différentes. Si une compétition entre les individus d'une population s'installe pour attirer des pollinisateurs, cela pourrait conduire à la sélection des individus ayant des structures florales attractives et réalisant moins d'autofécondation autonome (Eckert et al. 2009). Une autre alternative serait la sélection des individus réalisant de l'autofécondation retardée pour avoir une assurance reproductive. Pour tous les autres scénarii intermédiaires de disponibilité en pollinisateurs et en congénères, l'importance relative des deux causes de limitation en pollen et la nature des perturbations environnementales pourra avoir une importante capitale sur la direction de la sélection (Eckert et al. 2009).

A la complexité de la théorie existant sur l'évolution du système de reproduction des plantes en milieux perturbés s'ajoute la composante comportementale des pollinisateurs (voir

section précédente). Par exemple, il a été mentionné plus haut qu'en milieu fragmenté le comportement des pollinisateurs pouvait différer de celui des pollinisateurs en milieux non-fragmenté et que cela pouvait avoir de fortes conséquences sur l'évolution des traits floraux (Andrieu et al. 2009). Le comportement des pollinisateurs peut également affecter le taux d'autofécondation par geitonogamie et induire des coûts de consanguinité pour les plantes ayant beaucoup de fleurs et ainsi initier des évolutions florales (Harder and Barrett 1995). Toutefois, de manière générale les contraintes évolutives imposées par les comportements de pollinisateurs sont encore très peu étudiées (Devaux et al. 2014).

I. 6. Objectifs de la thèse

L'objectif global de la thèse est de dresser le portrait des relations plantes-pollinisateurs en région parisienne en fonction de l'urbanisation. L'exploration de ces relations sera conduite à la lumière d'analyses à l'échelle inter-spécifique des assemblages des communautés de plantes et de pollinisateurs mais également à l'échelle intra-spécifique.

Comme nous l'avons détaillé dans ce qui précède, l'urbanisation peut avoir des effets contrastés sur l'abondance et la diversité des espèces de plantes et de pollinisateurs selon le degré d'imperméabilisation et selon les contextes géographiques. En particulier, il existe pour les espèces de pollinisateurs une grande variabilité de réponses en termes d'abondance des taxons, avec certains taxons « urbanophiles » et d'autres « urbanophobes » (Figure I.3). Néanmoins, les facteurs responsables de ces différences d'affinités aux milieux urbains entre taxons sont encore peu connus. Par exemple, la relation entre la tolérance à la fragmentation des habitats et la capacité de vol à grande distance des espèces de pollinisateurs n'a toujours pas été élucidée. Il apparaît ainsi que l'identification des échelles spatiales pertinentes écologiquement et propres à chaque taxon est essentielle à la compréhension de la sensibilité de ces taxons à la fragmentation induite par l'urbanisation.

Ainsi, dans le **chapitre II** de ce manuscrit est présentée une étude dans laquelle nous avons choisi de nous servir d'une base de données issue du programme de science participative nommée « SPIPOLL » pour approfondir ces interrogations. Elle répertorie l'ensemble des visiteurs floraux des espèces végétales échantillonnées. Ces visiteurs peuvent être des coléoptères, des diptères, des lépidoptères et bien sûr des hyménoptères. L'intérêt majeur de cette base de données est qu'elle comporte un très grand nombre d'observations, rendant possible des analyses statistiques fiables. Comme signalé plus haut il existe très peu d'études conduites sur un aussi large panel d'insectes floricoles. Les objectifs de cette étude sont multiples car elle vise à (i) déterminer les effets de l'imperméabilisation sur les différents taxons de visiteurs floraux le long d'un gradient d'urbanisation (ii) hiérarchiser l'importance relative de facteurs floraux, paysagers, météorologiques et temporels sur l'occurrence des taxons, (iii) identifier les échelles spatiales auxquelles l'imperméabilisation affecte le plus l'occurrence des taxons (iv) mettre en relation l'affinité des taxons à l'imperméabilisation avec leurs préférences florales ainsi qu'avec l'échelle spatiale affectant le plus leurs occurrences.

Le **chapitre III** de ce manuscrit présente une étude fondée sur la base de données « Sauvages de ma rue », visant à éclaircir comment l'urbanisation structure les communautés de plantes spontanées. Comme précisé dans l'introduction, la nature composite des stress

environnementaux composant l'urbanisation rend les résultats très dépendants des villes considérées. Par exemple, cela peut se traduire par des différences de fréquence d'occurrence de certains traits végétaux selon les contextes d'urbanisation (Figure I.2). Le degré et l'échelle d'imperméabilisation de l'agglomération parisienne représentent un contexte idéal pour identifier les effets extrêmes que peuvent entraîner l'urbanisation d'un territoire sur les communautés végétales. Pourtant, les études conduites sur les communautés végétales face à l'urbanisation dans cette région sont encore rares. L'objectif de ce troisième chapitre est double : Dans un premier temps, il s'agit de déterminer si l'imperméabilisation représente un facteur de structuration des communautés végétales. Dans un second temps il s'agit d'identifier un large panel de caractéristiques végétales associées aux milieux urbains et ruraux en se concentrant sur les traits végétaux qui sont impliqués dans les relations avec les communautés de pollinisateurs.

Le **chapitre IV** et **V** viseront à déterminer si certaines espèces végétales ont subi une évolution adaptative face aux perturbations induites par l'urbanisation. Pour établir de façon empirique l'existence d'une évolution adaptative, nous avons mis en place une expérience de transplantation réciproque. Nous avons collecté les graines de cinq populations rurales et cinq populations urbaines de quatre espèces végétales (*Cymbalaria muralis*, *Geranium robertianum*, *Geum urbanum* et *Prunella vulgaris*). Les plantules issues des graines récoltées ont été plantées sur des sites d'expérimentation en milieu urbain et rural. Ce dispositif a permis de faire des observations morphologiques et phénologiques sur les espèces végétales en nous assurant que les différences observées étaient en partie héréditaires. Par ailleurs, des observations de visites de pollinisateurs sur les sites de plantations urbains et ruraux nous ont donné l'opportunité d'identifier les potentiels avantages reproductifs conférés par les caractéristiques florales. Le **chapitre IV** présentera les résultats de cette expérimentation pour les quatre espèces végétales et visera à (i) identifier comment varient les fréquences de visites de pollinisateurs entre les sites de plantations urbains et ruraux et entre les populations d'origines urbaines et rurales (ii) déterminer si la production de fleurs varie selon l'origine urbaine et rurale des populations. Le **chapitre V** se concentrera plus précisément sur *Cymbalaria muralis*, l'une des espèces impliquées dans le dispositif expérimental. La quantité de grains de pollen, d'ovules, de fruits, de graines par fruit ainsi que le nombre, la taille et la couleur des fleurs ont été estimés pour chaque individu. Les objectifs de ce cinquième chapitre sont (i) d'identifier les caractéristiques florales associées aux populations d'origines urbaines et rurales, (ii) déterminer les corrélations et potentiels trade-offs entre les différentes caractéristiques, et (iii) d'évaluer parmi les caractéristiques florales lesquelles sont les plus impliquées dans les visites de pollinisateurs.

Le dernier chapitre consistera en une **discussion générale** visant à synthétiser et mettre en perspective l'ensemble des résultats exposés dans la thèse. Cette dernière partie sera également l'occasion de synthétiser les résultats préliminaires du travail de Jérôme Eschenbrenner, stagiaire co-encadré avec Bruno Colas. Les travaux menés portent sur une simulation informatique modélisant les mouvements d'un insecte pollinisateur au sein d'un paysage composé de multiples patchs fleuris et faisant suite aux résultats empiriques exposés dans le **chapitre V**. Ce modèle informatique est basé sur les équations de butinage optimal énoncées dans le théorème de la valeur marginale (Charnov 1976). L'objectif principal de ce travail de simulation vise à comprendre les relations existantes entre la proportion de fleurs visitées dans un patch par les pollinisateurs et l'isolement des patchs fleuris dans le paysage. L'intégralité de ce travail de stage est reportée en annexe.

La dernière partie de ce manuscrit constitue une rapide **conclusion** de l'ensemble de cette thèse.

L'article présenté dans ce chapitre est en cours de révision après demande de modifications majeures pour la revue Urban Ecosystems.

Toutes les références bibliographiques associées à cet article sont incluses dans la liste des références en fin de thèse.

Title: At which spatial scale does urbanisation mostly affect flower visitors? A case study in Paris region

James Desaegher¹, Sophie Nadot¹, Colin Fontaine², Bruno Colas^{1,3*}

Affiliation of authors:

¹ Ecologie Systématique Evolution, Université Paris-Sud, UMR 8079, CNRS, AgroParisTech, Université Paris-Saclay, 91400 Orsay, France,

² Centre d'Ecologie et des Sciences de la Conservation, UMR7204, (CNRS, MNHN, UPMC), Museum national d'Histoire naturelle, 55 rue Buffon, 75005 Paris, France

³ Université Paris-Diderot, Sorbonne Paris-Cité, Paris, France

*corresponding author: bruno.colas@u-psud.fr, Bâtiment 360, rue du Doyen André Guinier, 91405 Orsay CEDEX phone: +33 1 6915 5668 / fax: +33 1 6915 5696

Abstract

Context. Through the expansion of impervious areas and habitat fragmentation, urbanisation has strong consequences on the diversity of plants and animals. In a context of rapid urbanisation worldwide, quantifying these consequences is crucial.

Objectives. We focused on the effects of urbanisation on flower-feeding insects. Our aims were (i) to determine the affinity of insect taxa to land uses along an urbanisation gradient, (ii) to rank landscape, meteorological, temporal and floral factors according to their importance in predicting taxa occurrence (iii) to identify at which scales landscape factors have the greatest effect on taxa occurrence.

Methods. We analysed occurrences of flower-feeding insect from participatory science data in the Parisian region. To account for collinearity and a large quantity of variables, we performed Partial Least Squares Regressions to predict taxa occurrences at the family level.

Results. Among 46 families, 21 showed a negative affinity to impervious areas (urbanophobes) and three, a positive affinity (urbanophiles). Urbanophile families had a preference for tubular corollas, while urbanophobe families showed a preference for non-tubular corollas. The presence of urbanophobe families was mostly affected by the proportion of impervious areas in landscapes defined within a radius ranging from 200 m to 1400 m, depending on the family.

Conclusions. Urban sprawl is a major threat for floral insect diversity since notable losses of urbanophobe families can already occur before half of the landscape is occupied by impervious areas. The preference of city-dwelling insects for tubular flowers emphasizes the importance of flora management to conserve insect diversity in cities.

Keywords. Pollination; Floral traits; Partial Least Squares Regression; Urban planning; Impervious areas; Citizen science

Introduction

In the last century urbanisation has considerably increased worldwide and will probably further increase in the next decades. In 1950, 30% of the human population was urban, and this proportion is expected to double by 2050 (United Nations 2014). Moreover, urban areas are even growing faster, about twice as fast as the urban population (Seto et al. 2013). For example, in France, the total surface of urban spaces increased by 19% in only 11 years (1999-2010, Clanché and Rascol 2011). The rapid urban spreading is worldwide and constitutes a global change with large consequences on the diversity of animals and plants (McKinney 2008), including in biodiversity hotspots (Seto et al. 2012).

Several studies have shown that urbanisation negatively affects the presence and abundance of pollinators, and therefore reduces the number of plant-pollinator interactions (Deguines et al. 2012; Geslin et al. 2013; Fortel et al. 2014). The main cause is certainly that urbanisation reduces the places for nesting and feeding, but pollution is also suspected to affect the ability of pollinators to detect flower smells (Riffell et al. 2014). Nevertheless, the picture may not be as dark as it seems at first glance because some cities harbour a rich and abundant pollinating fauna (Matteson and Langellotto 2009; Matteson et al. 2009; Potter and LeBuhn 2015). Urban green spaces and gardens appear to play a crucial role in the conservation of pollinator communities (Threlfall et al. 2015) by providing floral resources during more or less long periods along the year depending on the combinations of plant species. In Paris, plant diversity within lawn communities is strongly related to the type of management of parks and gardens: public access, high mowing frequency and pesticide use all tend to reduce plant species richness (Politi Bertoncini et al. 2012) and thus the diversity of floral resources for flower-feeding insects. Interestingly, wind-pollinated trees may provide pollen resource for flower-feeding insects, as exemplified in Toronto where one third of the pollen collected by *Osmia* solitary bees (Megachilidae) comes from oaks and birches (MacIvor et al. 2014). Ornamental trees can restore connectivity in fragmented habitats (Ricketts 2001). The effects of urbanisation on pollinators thus appear heterogeneous according urban structure and management.

The persistence of flower-feeding insects in a fragmented landscape is strongly related to their functional traits (Williams et al. 2010, De Palma et al. 2015). Insects need to find food, nesting material and nesting sites within areas that depend on their dispersal ability (Meyer et al. 2009; Fortel et al. 2014, see also the concept of ecological land-used complementation in Colding 2007). Among the good predictors of the affinity of flower-feeding insects to cities are

the capacity to nest in anthropogenic cavities and either a weak floral specialization (Hernandez 2009), linked to the length of the mouthparts (Fontaine et al. 2006), or some degree of specialization to plant species commonly found in cities (MacIvor et al. 2014).

Because insects can rarely satisfy all needs in a single urban patch (Hernandez 2009), entomological flow among the different units of the urban space is required to accomplish the different phases of insect development cycles (Pope et al. 2000). Flight capacity is extremely variable among insects, being positively correlated with body size (*e.g.* Gathmann and Tscharntke 2002; Greenleaf et al. 2007). The observed foraging distances for bees range from a few hundred metres to several kilometres (Goulson and Stout 2001; Westphal et al. 2006; Wright et al. 2015), depending on the spatial arrangement of floral resources in the landscape in addition to insect species traits (Lopez-Urbe et al. 2008).

Thus, species occurrence and richness are affected by multiple and simultaneous ecological processes, including landscape effects at short (“spillover effects” or habitat complementation and supplementation) and long distances (metapopulational dynamics) (Rossi and van Halder 2010). Multi-scale studies aiming at identifying the relevant spatial scales at which landscape elements are most affecting flower-feeding insects are necessary to understand community dynamics (Westphal et al. 2006) facing urbanisation (Hernandez 2009) or habitat fragmentation in agro-ecosystems (Krauss et al. 2003; Meyer et al. 2009). With the new open source tools related to GIS and data analyses, the quantification of landscape structure is becoming more accessible and opens new horizons, especially in the field of landscape ecology (Jung 2016). Nevertheless, little is known about the independent effects of each landscape attribute (Hadley and Betts 2011) and about the relevance of the various geographical scales (Jackson and Fahrig 2015).

Besides landscape variables, other ecological factors like the time of the year, flower symmetry or weather conditions are important to predict the occurrence of flower visitors. Multiscale landscape variables and other potentially important ecological factors are thus numerous and often vary collinearly, which necessitates for their analyses appropriate statistical tools.

To study the multiscale effects of landscape structure and composition with other ecological factors on the occurrence of flower-feeding insects, we used Partial Least Squares Regressions because this method enables to cope with a large number of factors and collinearity. We used data from a French ‘citizen’ science program called SPIPOLL. Contrary to many studies focusing on bees, we analysed the occurrence of flower visitors from a wider range of insects belonging to Hymenoptera, Diptera, Coleoptera and Lepidoptera. We focused

on the Île-de-France region (around Paris) to benefit from both a high sampling density in a full urbanisation gradient and the availability of a detailed geographical database.

The questions addressed in the present study are: (i) What are the effects of impervious areas and other land uses on flower-feeding insects, along an urbanisation gradient? (ii) What is the hierarchical importance of landscape, meteorological, temporal and floral factors in determining taxa occurrence? (iii) If species share the same affinity to urban areas, do they also have a sensitivity to landscape characteristics at similar scales and do they also have the same floral foraging preferences?

We expect that answering these questions will have major applications in regional planning for the development of future urbanisation strategies and management practices, mitigating the negative consequences on pollinator diversity.

Material and methods

The SPIPOLL protocol

SPIPOLL is a citizen science project from the Museum national d'Histoire naturelle (MNHN) and the Office pour les insectes et leur environnement (Opie) aiming at collecting data on flower visitors in France following a standardized protocol. Volunteers are asked to choose a flowering plant species at any time and in any place in France. The observers must first take pictures of the plant species and of its environment, which will allow identifying the chosen species and obtaining basic data on its habitat. The protocol consists in taking pictures of all insects landing on the flowers of one or several individuals of the chosen plant species within a radius up to 5 m during 20 minutes. In addition, observers are asked to record information on location, weather conditions, date and time (see Deguines et al. 2012 for details).

Observers must then identify the plant species and all insects using a computer-aided identification tools available from the SPIPOLL website (<http://www.spipoll.org/>). For plants, identification is generally possible at least down to the genus level. Insects are classified into morphotypes with taxonomic resolution that varies according to the discriminating power of traits observable in the photographs, ranging from class to species levels. A full set of pictures and data from a 20-minute observation time at a date and a place constitutes what we hereafter call a session. For the majority of sessions, identifications are checked by botanists and entomologists from the MNHN and the Opie (see Deguines et al. 2012 for details).

Biological data

A total of 1203 sessions from 1194 different spatial locations were available from the SPIPOLL protocol database for the Île-de-France region over the years 2010-2014. We chose to perform our analyses of insect richness and occurrence at a single taxonomic level, in order to have the same standard for comparison. We chose the family level which appeared as a good compromise between keeping as good taxonomical resolution and as many sampling sessions as possible. When, in any session, an insect could not be assigned to a given family, it contributed to family richness only if it could be assigned with certainty to a group of families (*e.g.* order) different from all other recorded insects of the session, so that calculated family richness is conservative. We restricted our analysis to the families belonging to the four main orders of flower-feeding insects: Hymenoptera, Diptera, Coleoptera and Lepidoptera. Among these four orders, 75 insect families were observed at least once in the 1203 sessions, 46 families were observed more than 5 times and 30 families more than 20 times.

For most plants on which sessions were conducted, the taxonomic identification allowed us to characterize the corolla shape with two variables. The first variable was corolla symmetry using three categories: (i) zygomorphy (bilateral symmetry), (ii) actinomorphy (radial symmetry) or (iii) mixed (for species bearing flower heads with both corolla symmetries, like in many Asteraceae). The second variable was the presence or absence of a tubular corolla.

Geographical data

The Île-de-France region presents a full gradient of urbanisation, going from 0% to 95% of impervious surfaces in a buffer radius of 1000 metres, over a total area restricted to 12000 km², which minimizes the ecological variability potentially induced by macroclimatic variations.

We used 1/5000 GIS maps reporting land uses over the Île-de-France region in 2012, published by the Institut d'Aménagement et d'Urbanisme. Among the 11 categories defined in these maps, we chose to keep the following six categories: 1) forest; 2) semi-natural area; 3) agricultural land; 4) water; 5) artificial open space; 6) quarries, dumps and worksites. The remaining five categories (individual housing, group housing, business parks, facilities and transportation infrastructures) were all grouped into one category called impervious surfaces. A detailed description of each category is available online (<http://www.iau-idf.fr/>).

We delimited 40 different buffer areas every 100 m from a 100-m to a 4000-m radius around every sampling point. For each sampling point, each buffer area and each land use

category, three landscape indices were calculated by using Quantum GIS version 2.8 (QGIS Development Team 2015) and following McGarigal et al. (2002) implemented in R version 3.1 with the package SDMtools (Vanderwal et al. 2015). The three landscape indices were “Proportion of landscape”, “Patch density” and “Edge density”. They were selected because they are supposed to reflect both the composition and the structure of the landscape and are rather easily interpretable. Calculations were performed with GIS land use maps previously rasterized into square cells of 10 m.

Effects of land use on family occurrence and richness

To detect affinities to land uses among flower-feeding insect families, generalized linear models (GLM) with a binomial distribution and a logit link were performed on family occurrence over land use proportions. For each of the seven land uses and 40 buffer areas, we performed 46 tests corresponding to the 46 families observed at least five times in the data set. The significance of land use effects was tested with a likelihood ratio test. For each spatial scale and each land use, we corrected the type I error threshold (5%) for multiple tests (46 tests) following the Simes method (Simes 1986), a Bonferroni-like correction that is less conservative and more powerful than the classical Bonferroni procedure (Sarkar and Chang 1997). To clearly discriminate families according to their affinity to land uses, we defined three categories of affinity as follows: (i) a positive affinity of any family to any land use when the effects of land use proportion on family occurrence was significantly positive at more than two spatial scales and significantly negative at no scale; (ii) a negative affinity when it was significantly negative at more than two spatial scales, and significantly positive at no scale; (iii) in all other cases, i.e. no significant effect at any scale, or a significant effect at one or two scales only, or significant positive and negative effects depending on the scale, we considered no clear affinity of insect family to land use.

Mean family richness was calculated in 10 equally large classes of impervious surface proportions within a 1000-m radius. We then compared family richness along an impervious surface proportion gradient with GLM models over (i) all families, (ii) families with positive affinity to impervious surfaces, (iii) families with negative affinity to impervious surfaces, and (iv) families with no clear affinity to impervious surfaces. We used either a Poisson distribution and a log link, or a quasi-Poisson or a negative binomial distribution according to the presence of over dispersion and the best residual plots.

Partial least squares regressions

To disentangle the relative importance of landscape (at multiple scales), meteorological, temporal and floral factors in determining taxa occurrence, we grouped all variables in a single model. A total of 873 explanatory variables were used to predict the presence or absence of each insect family. To accommodate for the collinearity and the large quantity of variables, we used Partial Least Squares Regressions (PLS-R, see Tenenhaus 1998, Wold et al. 2001, and Mevik and Wehrens 2007, for details). Contrary to multiple linear regression, PLS-R has proved to support these two major statistical issues (Tenenhaus 1998; Vancolen 2004; Carrascal et al. 2009) and often require a smaller number of components than Principal Components Regression (PCR) (Wold et al. 2001; Vancolen 2004). We performed one PLS-R model per family, with family occurrence as the response, and the 873 other variables as predictors. Landscape factors were composed of the three indicators for each of the seven land uses and calculated at 40 different radii giving a total of 840 variables. Other factors included year, month, hour, temperature, cloud cover, wind speed, flower symmetry, presence of a tubular corolla, and shade occurrence. To take into account spatial pseudo-replication 5 quantitative variables were included: longitude, latitude, longitude x latitude, longitude², and latitude². Qualitative variables were replaced by a set of variables indicating the variable modalities (Tenenhaus 1998) (see Appendix II.1 for details).

Since the means and standard deviations of the 873 explanatory variables were heterogeneous, they were first standardized. We used the first PLS component as it appeared to be the single significant component by using the Q^2 criterion (Tenenhaus 1998) in most families. For each explanatory variable and each family, the standard PLS regression coefficients b_h were extracted from the resulting equations of PLS regressions. These PLS-R coefficients measure the contribution of each explanatory variable in the construction of the response variable (Tenenhaus 1998), i.e., the occurrence of a family.

PLS-R were computed on the R 3.2.2 software (R Core Team 2016), using the "plsRglm" package (Bertrand et al. 2015). We evaluated the confidence intervals of the standard PLS regression coefficients with subsequent bootstrap procedures. Confidence intervals at 95% were calculated by applying the percentile method (Bastien et al. 2015) from 1000 bootstrap replications. When the 95% confidence interval of standard PLS-R coefficients was overlapping the null value, we considered that the variable had no significant effect on the family occurrence.

Results

Affinity of families to land uses and family richness

The results from GLM analyses allowed us to determine the affinities of the 46 most frequent insect families for the seven land uses at the 40 spatial (Appendix II.2). For all 322 family x land use combinations (46 families x 7 land uses) no combination showed opposite significant effects on different scales. The effect of landscape variables on insect families was thus qualitatively consistent across spatial scales. After Simes corrections for multiple tests, seven families out of 46 showed either no significant affinity for any land use at any spatial scale (six families) or a significant effect at less than three scales (one family). Negative effects were mostly detected for Artificial, Working sites and Impervious land uses (27, 18 and 21 families, respectively) and positive effects for Semi-natural, Forests and Agricultural land uses (15, 15 and 26 families, respectively). Families with opposite patterns included the Megachilidae, Halictidae and Sphecidae (negative effect of 'Forest' and/or 'Agricultural', positive effect of 'Impervious') and to a lesser extent the Calliphoridae (negative effect of 'Forest'), Chrysididae (positive effect of 'Working sites'), and Lycaenidae (negative effect of 'Agricultural'). We listed the families according to their affinity to impervious surfaces (Table II.1). Among the 24 families recorded as clearly affected by impervious surfaces, 21 were negatively affected and 3 (all from Hymenoptera), were positively affected. Among the 22 families not clearly affected by impervious surfaces, some were so frequent in the data set (*e.g.* Syrphidae, Apidae) that this lack of affinity likely account for a biological reason rather than a lack of statistical power.

Table II.1 : Summary of the GLM results performed on the 46 most frequent insect families according to their significant affinity to impervious areas at 40 different spatial scales from 100 m to 4000 m around sampling points. Values in brackets indicate the number of sessions where the family was observed.

Order	Negative affinity to impervious areas	No significant affinity to impervious areas	Positive affinity to impervious areas
Coleoptera	Oedemeridae (116), Cerambycidae (92), Nitidulidae (58), Cetoniidae (48), Mordellidae (40), Malachiidae (38), Scraphiidae (15), Elateridae (11), Byturidae (10), Dasytidae (10)	Coccinellidae (145), Chrysomelidae (48), Dermestidae (38), Curculionidae (22), Cantharidae (8)	
Diptera	Tachinidae (52), Empididae (49), Sepsidae (31), Muscidae (22), Sciaridae (13)	Syrphidae (514), Sarcophagidae (76), Bombyliidae (49), Chloropidae (17), Conopidae (15), Stratiomyidae (13), Calliphoridae (12)	
Hymenoptera	Formicidae (112), Andrenidae (57), Tenthredinidae (39), Braconidae (5)	Apidae (736), Colletidae (124), Vespidae (110), Crabronidae (62), Gasteruptionidae (18), Chrysididae (10), Cephidae (7)	Halictidae (252), Megachilidae (120), Sphecidae (40)
Lepidoptera	Nymphalidae (58), Hesperidae (18)	Pieridae (75), Lycaenidae (26), Noctuidae (11)	

With increasing percentage of impervious areas, we observed (Figure II.1) a strong decrease of the richness in families with negative affinity to impervious areas ($\chi^2=316.16$, P-value<2.2e-16), an increase of the richness in families with positive affinity to impervious areas ($\chi^2=23.569$, P-value=1.205e-06) and no significant trend in the richness of families without clear affinity to impervious areas ($\chi^2=2.115$, P-value=0.1459). Overall families, family richness decreased with increasing percentage of impervious areas ($\chi^2=66.957$, P-value=2.775e-16), mainly between 0 and 50% of impervious areas (P-value<2.2e-16), no significant trend between 50 and 100% of impervious areas: P-value=0.1237). The contribution to the total family richness of families with no clear affinity to impervious surfaces increased together with the proportion of impervious surfaces (Appendix II.3).

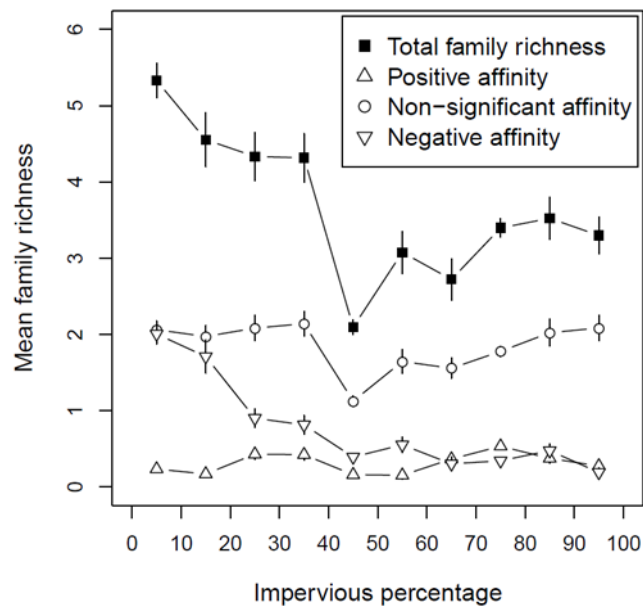


Figure II.1 : Mean family richness per session along the impervious gradient. The three family groups are defined according to their significant affinity to impervious areas by using GLM analyses. Mean richness is calculated for each 10 % impervious areas categories. Families with positive affinity (N = 3), without significant affinity (N = 22) and with negative affinity (N = 21) to impervious areas are respectively represented with upward triangles, circles and downward triangles. Error bars represent the Standard Error of the Mean (SEM)

Ranking factors influencing insect occurrence on flowers

The PLS-R on family occurrence yielded to a first component explaining 2.3% of total variance, on average over the 30 families observed more than 20 times (maximum of 9.7% in Syrphidae). With total family richness as the response variable, the first component explained 11.5 % of the total variance.

Despite a low percentage of total variance explained, 53% of the variables had a significant effect on family occurrence on average. The ranking of each factor category, according to the proportion of significant variables, revealed that corolla shape (i.e occurrence of corolla tubes and corolla symmetry to a lesser extent), month, and temperature were the variables most frequently implicated in insect observations on the flowers (Figure II.2). Only 41.8% of landscape variables had a standard PLS-R coefficient significantly different from zero. It is worth noting that, as expected, families with positive affinity to impervious areas were also more frequently observed when the temperature was higher.

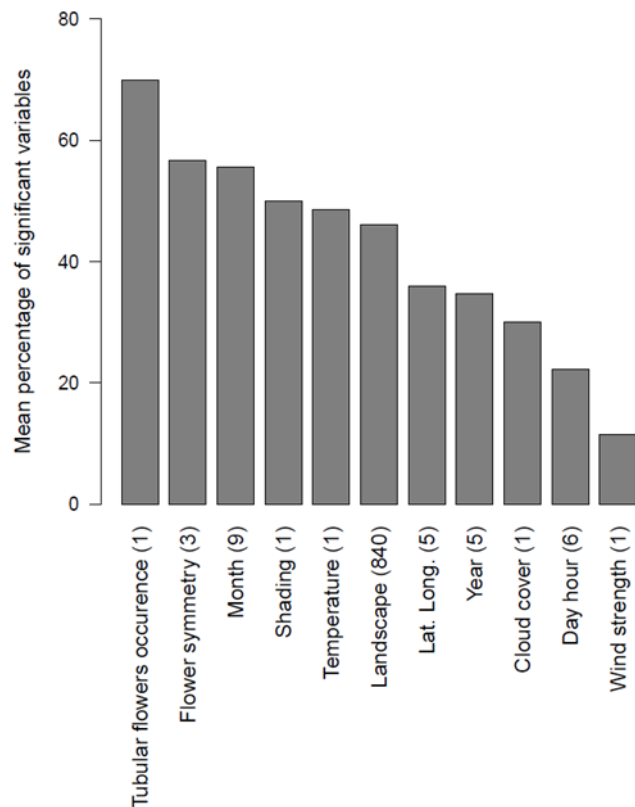


Figure II.2 : Mean percentage of variables with standard PLS-R coefficients significantly different from zero according to 11 factor categories. Mean percentage was calculated for 30 insect families observed in at least 20 sessions. Values in brackets indicate the number of PLS-R explanatory variables included in each factor category for a given family

The decomposition of landscape factors according to the three landscape indices and three categories of family affinity showed that families without clear affinity to impervious areas were less sensitive to landscape factors than the two other family groups (Figure II.3). The relative importance of the three landscape indices also varied among family categories. In particular, patch density was more often significant than other landscape indices for families with positive affinity to impervious areas, whereas the opposite was observed for families with negative affinity to impervious areas. A complementary chi-square analysis confirmed this tendency (Appendix II.4).

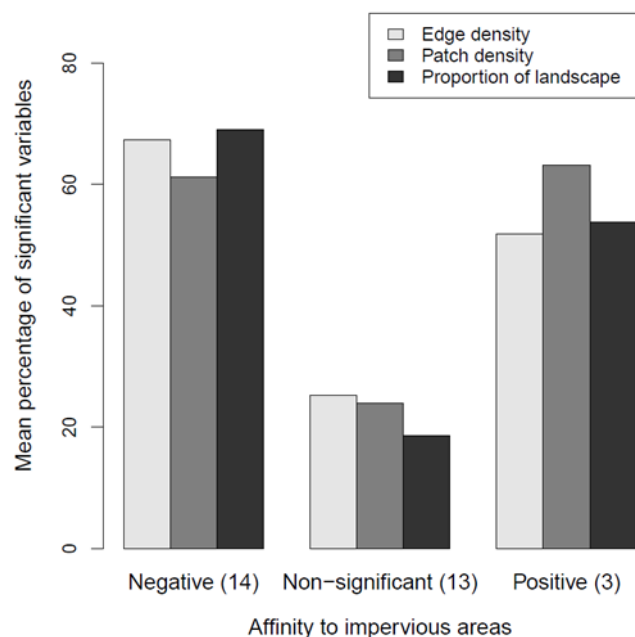


Figure II.3 : Mean percentage of landscape variables with standard PLS-R coefficients significantly different from zero for the three landscape indices in insect families according to their affinity to impervious areas. Values in brackets indicate the number of families considered

Regarding the density of impervious patches within 1000 m, standard PLS-R coefficients were positive ($1.39E-04$) for families with negative affinity, negative ($-4.71E-04$) for families with no clear affinity, and negative also ($-5.35E-04$) for families with positive affinity to impervious areas, on average.

Standard PLS-R regression coefficients and landscape scales

For any family the shape of the curves linking PLS-R regression coefficients and landscape scales was different across land uses and landscape indices. The relationship between the standard PLS-R coefficients associated with the proportion of impervious areas and the buffer radius was especially investigated, for the 30 families with more than 20 observations (Appendix II.5 and Figure II.4). For all 14 families with a negative affinity to impervious areas a similar pattern was detected. The PLS-R coefficients decreased steeply until a minimum below the 1500 m radius and then the coefficients gradually increased with increasing distance. This pattern was, on the contrary, not detected for the three families with positive affinity to impervious areas since the maximum was obtained at 4000 m. Nevertheless for Halictidae and Sphecidae the standard PLS-R coefficients reached a local maximum below 1500 m.

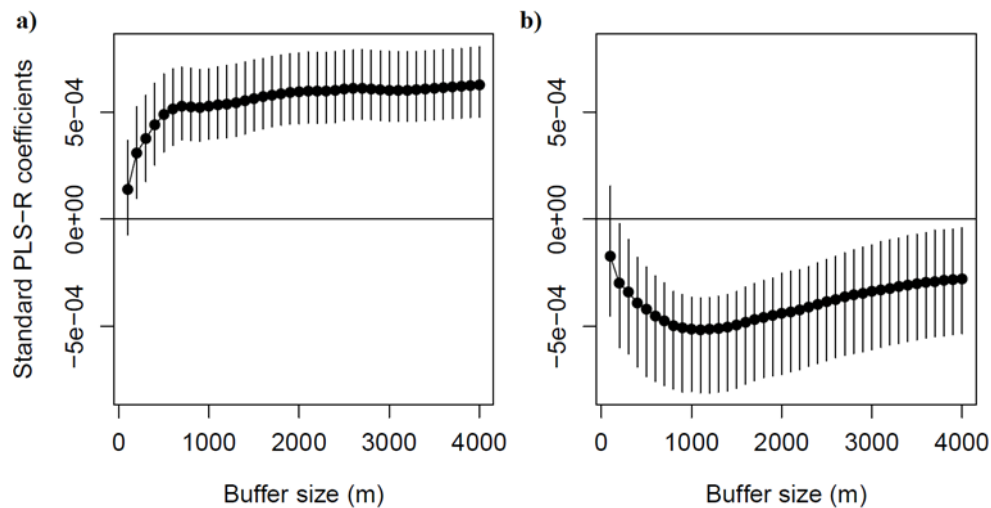


Figure II.4 : Examples of relationships between the standard PLS-R coefficients associated with the percentage of impervious areas according to buffer size (m). a) Family Megachilidae (Hymenoptera), b) Family Nymphalidae (Lepidoptera). Error bars represent 95% confidence intervals from bootstrap procedures applied on standard PLS-R coefficients using the percentile method

Affinity to impervious areas and floral preference

Given the major effect of floral shape on the observation of insect families (Figure II.2) we tested the incidence of the presence of a tubular corolla. The analysis was conducted on the foraging preferences of the different flower-feeding insect families by using standard PLS-R coefficients and the 95% confidence intervals. Most Coleoptera and Diptera were observed on plant species without tubular corollas whereas Lepidoptera tended to visit species with tubular corollas (Figure II.5). Regarding Hymenoptera, both preferences were observed depending on the family, with a preference of Megachilidae, Halictidae and Apidae for tubular corollas while Colletidae, Vespidae, Tenthredinidae, Crabronidae, Gasteruptionidae, Formicidae and Cephidae preferred plants without tubular flowers. Furthermore, we observed that family preference for tubular flowers was related to their affinity to impervious areas (Figure II.6). Families having a significant preference for tubular flowers had on average positive affinity to impervious areas while families visiting preferably plant species without corolla tubes had negative affinity to impervious areas. The PLS-R coefficients were intermediate for families without significant preference for any floral form. These results were confirmed by Chi-square tests applied on a contingency table consisting of the significant affinity of the 46 most observed families to impervious areas (GLM analyses) on the one hand, and their significant preference for tubular flowers (PLS-R analyses) on the other hand ($\chi^2=17.8942$, p-value=0.001294). The same results were obtained by using the contingency table consisting of the 30 most observed families ($\chi^2=11.6292$, p-value=0.02033).

Most of the families having foraging preference for tubular flowers had also a preference for zygomorphic flowers. Families with negative affinity to zygomorphic flowers had positive affinity to mixed symmetry and *vice versa*. No significant relationship was found between the preference for either actinomorphic, zygomorphic or mixed symmetries and the affinity to impervious areas of the insect families ($P > 0.29$).

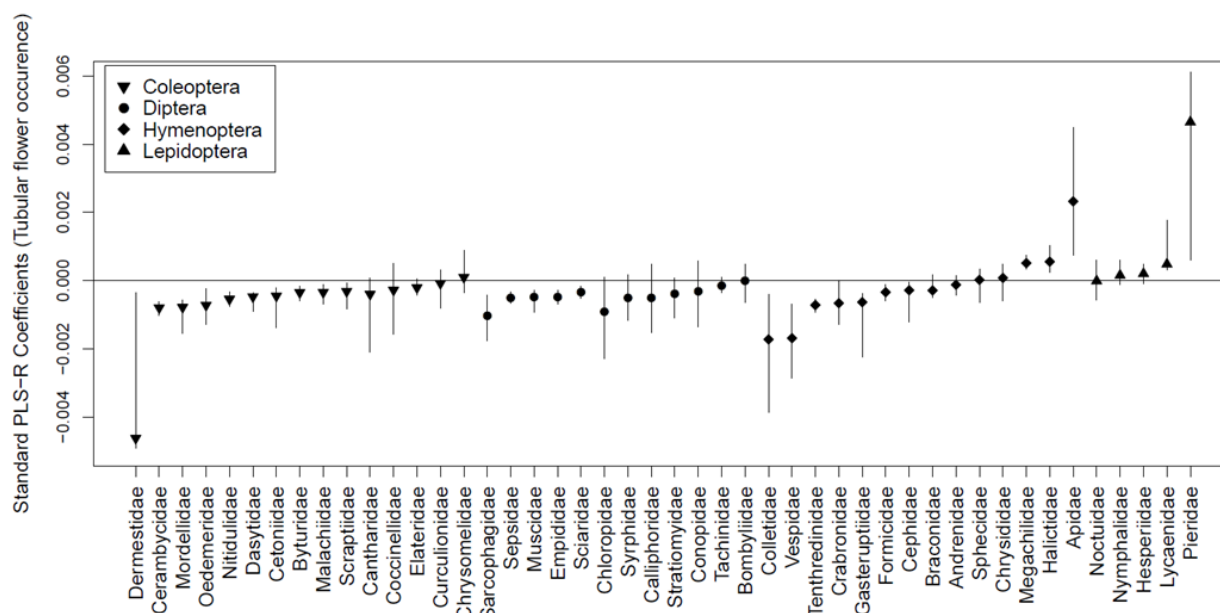


Figure II.5 : Standard PLS-R coefficients associated with the occurrence of tubular flowers for the 46 most observed families. Coleoptera, Diptera, Hymenoptera and Lepidoptera families are respectively represented with downward triangles, circles, diamonds and upward triangles. Error bars represent 95% confidence intervals extracted from bootstrap procedures applied on standard PLS-R coefficients using the percentile method

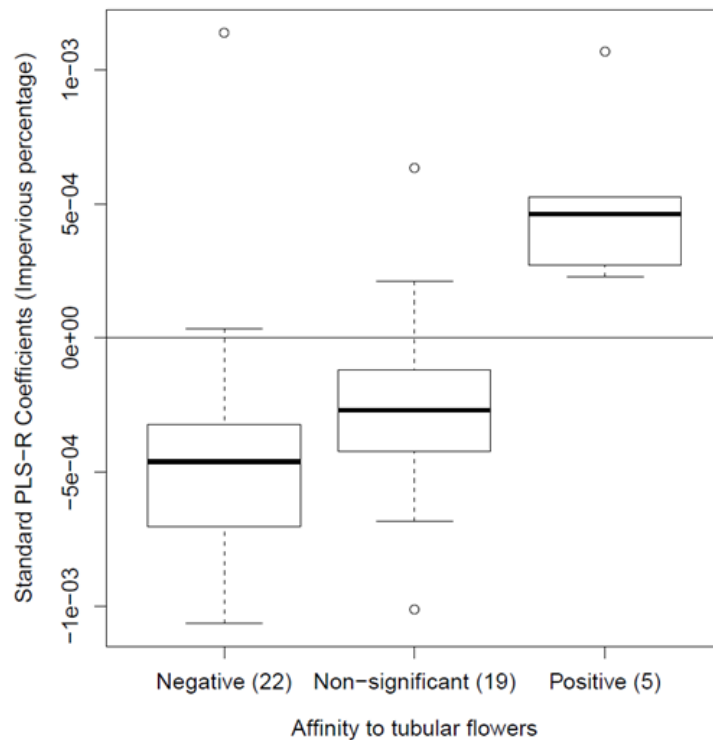


Figure II.6 : Relationships between insect families foraging preferences and the standard PLS-R coefficients associated with the percentage of impervious areas in a radius of 1000 m around sampling points. Values in brackets indicate the number of families considered

Discussion

Affinity of flower visitors to impervious areas

Our results on the insect family affinities to impervious areas are consistent with affinities to urban areas shown in Deguines et al. (2012), from an analysis performed throughout France. A possible explanation for the positive affinity of Megachilidae and Sphecidae to impervious areas is the ability of members of these families to build their nests in man-made cavities (*e.g.* walls, insect hotels)(Hernandez 2009; Deguines 2015). It has even been shown that *Megachile rotundata* (Megachilidae) sometimes occupies nests built by *Isodontia mexicana* (Sphecidae) and vice versa (Delphia and O'Neill 2012). In addition species from the genus *Osmia* (Megachilidae), have strong foraging specialization on trees often found in cities (MacIvor et al. 2014). Preferences of Sphecidae species (but not all species of the family) for urban spaces, compared to adjacent forests (*e.g.* linden-oak-hornbeam forests), are also explained by their affinity to dry and open environments (Skibinska 1986). However, we must point out that 85% of the observations of Sphecidae species in our data set concerned the exotic species *Isodontia mexicana*. The introduction of this species in the south of France was noticed in the 1960s (Hamon et al. 1988, Bitsch et al. 1997) and the species has since spread northward

through the French territory and towards many European countries (Westrich 1998; Ćetković et al. 2012; Vernier 2016). The observed positive affinity of the Sphecidae family to impervious areas in our study may also be linked to a preference of *I. mexicana* for higher temperatures. We indeed detected a significant positive effect of increasing temperatures on the occurrence of Sphecidae family. Concerning the family Halictidae, our results are similar to those of Wojcik and McBride (2012), who observed an increased occurrence of this family in urban areas compared to more natural environments. Given that most species belonging to this family are soil nesting bees, their occurrence is strongly linked to soil management practices in urban green spaces. Green spaces established longer ago or with low disturbances are favourable to the settling of species belonging to this family (Threlfall et al. 2015).

Family richness

Our analysis of insect family richness along an impervious gradient show two phases in the resulting curve, with significant decrease in total richness comprised between 0 and 50% and non-significant increase from 50 to 100% of impervious areas (Figure II.1). Bates et al. (2011) showed similar results for bee species richness by using urbanisation categories instead of a continuous gradient. The non-monotonic character of species richness along urbanisation gradients has been highlighted several times (McKinney 2008; Fortel et al. 2014). But in contrast to our Parisian results, Fortel et al. (2014) observed a peak in bee species richness at 50% of impervious areas in Lyon, that they explained by the maximum landscape heterogeneity reached at intermediate areas between city center and rural habitats. The contrast between this studies and ours can be due to the fact that we assessed richness at the family level for insects belonging to four different orders, and not only for bee species. In our case the first phase of richness decline is mainly explained by the monotonic richness decrease of families with negative affinity to impervious areas. The second phase of the total richness curve would be jointly explained by families with no clear affinity to impervious areas and by families with positive affinity. The range of responses of taxa diversity or richness to urbanisation gradients is difficult to predict (McDonnell and Hahs 2008). Slight variation in the shape of occurrence curves (in terms of convexity or concavity) for subgroups of insects (families in our case) can explain switches between curves showing either constant total richness or an intermediary maximum or minimum reached along the urbanisation gradient. This could account for the differences among studies (McKinney 2008; Fortel et al. 2014). The variation of richness curves is also potentially related to the specific landscape composition or structure of every city. This

latter point underlines the relevance of regional studies conducted on pollinators (Joshi et al. 2016) but also inter-city comparisons, compared to studies conducted at national level that are usually highly heterogeneous.

Floral factors

Our study shows that the main filter involved in the observation of flower-feeding insect families is the corolla shape of the plant species on which the session was performed. This result is linked with insect mouthparts morphology. Indeed, taxa with short mouthparts, like families of Coleoptera and Diptera, usually have difficulties to access the floral rewards of plant species with a tubular corolla (Fontaine et al. 2006; Stang et al. 2006; Geslin et al. 2013). On the contrary, Lepidoptera families, possessing a long proboscis, are more frequently observed on tubular flowers. The affinity of Hymenoptera to tubular flowers depends on the family. Compared to other Hymenoptera families, Megachilidae and Apidae harbour long tongues allowing access to nectar in deep corollas (Michener 2007). Despite their short mouthparts, Halictidae species had a positive affinity to tubular flowers, which can be explained by the fact that they often visit Asteraceae plant species (46% of observed interactions), often presenting flowers with small tubes. We also observed that their small body size allowed them to slip inside tiny tubular flowers.

Insects with high flight ability are believed to be tolerant to environmental fragmentation by impervious areas because they have the ability to move easily from one flower patch to another (Greenleaf et al. 2007; Geslin et al. 2013). A positive allometric relationship between the proboscis length and the body size of insect visitors was identified by Stang et al. (2006). Moreover a positive relationship between body size and flying ability was detected for bees (Gathmann and Tschardt 2002). Since tubular flowers are mostly visited by insects with a long proboscis, we can expect that insects with a preference for tubular corollas will tend to have larger bodies, higher flight capacity, and finally a positive affinity to impervious areas. Indeed, we detected that insect families that prefer tubular flowers were also positively affected by the percentage of impervious areas (Figure II.6). In addition, families with the ability to forage in tubular flowers can also occasionally forage in flowers without tubes and are thus expected to have a greater foraging flexibility than families with the ability to forage in flowers without tubular corolla only (Fontaine et al. 2006). This is in agreement with the results of Biesmeijer et al. (2006) showing that, in general, pollinators that are oligolectic (specialists) and have specific habitat needs are more prone to extinction than polylectic species

(generalists). As a probable consequence, urban spaces harbour flower-feeding insect communities with a reduced degree of specialization towards plants (Deguines et al. 2016).

An alternative hypothesis could be that the distribution of plant species with particular traits is non-random along the urbanisation gradient. For instance, either as a cause or as a consequence the over-representation of tubular flowers in urban environments could favour insects harbouring long mouthparts or having the ability to slip inside the corollas. Conversely, the occurrence of city-dwelling insects with long mouthparts could confer an advantage to spontaneous plant species with tubular flowers compared to open flowers (Geslin et al. 2013; Deguines et al. 2016).

Landscape indices

The relative contribution of the three landscape indices depends on the affinity of insects to impervious areas (Figure II.3). The different response patterns of insect occurrence to landscape indices are difficult to explain but suggest that taxa display different levels of tolerance to fragmentation. Kennedy et al. (2013) highlighted the differences between the effects of landscape structure versus composition on wild pollinators in agricultural ecosystems. In their study, landscape structure had little impact on the abundance and richness of pollinators compared to landscape composition. Our results suggest that the relative importance of landscape structure and composition depends on the taxa considered, and is linked to their affinity to impervious areas.

Paradoxically, our analyses also revealed a negative impact of impervious patch density on families having a positive affinity to impervious areas, and a positive impact on families having a negative affinity to impervious areas (Appendix II.6). The maximum patch densities were observed when the proportion of impervious surfaces was between 20% and 50%. With these proportions, the landscape, apart from impervious areas, is mainly composed of forests and artificialized lands (Appendix II.7). Given that families with positive or negative affinity to impervious areas generally have the opposite affinities to forest areas this could be an explanation for the effect of impervious patch density on families.

Landscape scales

The U-shaped curves representing the effect of the percentage of impervious areas on the occurrence of families with negative affinity along the 40 landscape scales was expected. The strong decrease of PLS-R coefficients at small scales can be explained by the fact that sampling points with high impervious percentage in a radius of 100 up to 500 m can still receive

insect visits by spillover processes from adjacent rural habitats. This is consistent with the expected foraging ranges of most bee species (Gathmann and Tschardt 2002; Osborne et al. 2008; Wright et al. 2015; Joshi et al. 2016). Similar correlation curves along several landscape scales were already detected for other taxa and other land uses (Meyer et al. 2009; Jackson and Fahrig 2015). For the 14 families recorded with a negative affinity to impervious areas, the maximum negative effect was below 1500 m. Similar scales were detected for agricultural land uses in other studies on bees and hoverflies (Steffan-Dewenter et al. 2002; Meyer et al. 2010). A first hypothesis to explain the second (slowly increasing) part of the U-shaped curves is the gradual loss of relevant local landscape information at larger scales. However, sampling points with a high proportion of impervious areas at large scales are essentially located in Paris *intra-muros*. An alternative hypothesis could be that the Parisian green spaces have a better foraging quality (*e.g.* higher plant diversity) than in neighboring towns more represented among highly urbanised sampling points at smaller scales.

Concerning the three families with positive affinity to impervious areas, apart from a slight local maximum between 100 and 1000 m, the maximum positive effect of the percentage of impervious areas was obtained at 4000 m. We conclude that these families are particularly represented in landscapes urbanised at a large scale. The previous hypothesis involving high valuable remnant green spaces for foraging insects in urbanised landscapes at large scales can also be applicable. In these largely urbanised landscapes, the presence of many insect hostels provides nests for the cavity nesting bees (Hernandez 2009; Delphia and O'Neill 2012; Deguines 2015).

Limitations

The concept of "species characteristic distance", defined by the distance of perception and response to the landscape by a species is fairly recent, dating back to a decade (*e.g.* Steffan-Dewenter et al. 2002; Westphal et al. 2003). It was highlighted that taxa "characteristic distance" detected from multi-scale regressions or correlations of species richness on landscape measures could be solely the consequence of landscape composition or habitat distribution rather than the consequence of a real biological "perception" of the landscape by the taxa (Dormann and Seppelt 2007). This latter point is a major limitation to our study since in our analysis it is difficult to estimate the extent of these composition effects along the urbanisation gradient and how they impact our interpretations.

Although the PLS-R analysis is particularly suitable for the analysis of a large number of strongly correlated variables (Wold et al. 2001; Carrascal et al. 2009), multicollinearity still

makes difficult to determine variables biologically affecting the occurrence of taxa. Furthermore, the amount of variance explained is low and implies a careful interpretation of the results.

The analysis of family occurrence and richness may be skewed by the fact that some families are represented by a small number of common species. Although species belonging to the same family generally share similar functional traits, there are potentially species presenting affinities opposite to those observed at the family level. Although the majority of insect identifications have been checked by entomologists, 34.4% of the identifications remained not validated in our data. Taxonomic resolution to the family level is also a safety margin for these uncontrolled identifications. Additionally, spatial sampling bias in the Île-de-France region has to be mentioned. Indeed the south of Paris *intra-muros* was more densely sampled than the north of the region. Moreover not all the sampling points are fully spatially independent because the analysed landscapes are sometimes overlapping especially with a radius of 4000 m.

Conclusion

Our results suggest the existence of “urbanophile” and “urbanophobe” families along the Île-de-France urbanisation gradient (terminology used in Fortel et al. 2014). The main loss of urbanophobe families occurs between 0 to 50% of impervious areas in a radius of 1000 m. This suggest that it is essential to better understand the suburbanisation effects on flower-feeding insects, and especially the role of landscape structure. Suburban landscapes are composed of a mosaic of land uses structured in a complex way, which may drastically vary from one city to another (Seto et al. 2013). The study of specific regions and comparison among various cities would be a way to better understand these key processes, and may potentially be used to design cities of tomorrow.

Despite the scarce use of PLS-R models in ecology up to now (see Davis et al. 2007; Rossi and van Halder 2010; Su et al. 2015 for examples), they proved useful to cope with a large number of correlated variables. The varying relative proportions of significant landscapes indices according to family affinity to impervious areas, patch density in particular, suggests that family tolerance to fragmentation is dependent on family affinity. The scale at which the proportion of impervious areas mostly impacts the presence of urbanophobe families ranges from a radius of 200 m to 1400 m depending on the family. For most urbanophobe families, the increasing proportions of impervious areas in a radius of 100 m already has a significant negative effect on their occurrence.

We showed that the presence of a tubular corolla is the factor most frequently involved in the prediction of insect family occurrence, and a preference of city-dwelling insects for tubular flowers. In the future it is essential to determine whether this latter result can be explained by an over representation of plants with tubular flowers in cities. If confirmed, a possibility to mitigate the consequences of urbanisation on urbanophobe families by favouring the development of native plants by the late mowing of lawns. A complementary suggestion is to sow seeds from local indigenous and cultivated species displaying various corolla shapes in public gardens, or green roofs and walls, to ensure that a diversity of pollinators can forage efficiently in cities.

Acknowledgments

The authors would like to thank all the SPIPOLL participants and also the members of the Office Pour les Insectes et leur Environnement and the Muséum National d'Histoire Naturelle for the insect and plant identification validations. Special thanks to the Institut d'Aménagement et d'Urbanisme de la région Île-de-France for providing us the GIS maps.

Appendices chapter II

Appendix II.1 : Precisions on the PLS-R models and the explanatory variables

Given that PLS-R models do not presume any statistical distribution, the use of binomial variable as a response is allowed (Tenenhaus 1998) but unusual. Thus, both PLS-R and PLS Logistic regressions (logistic PLS) (Meyer et al. 2010; Bastien et al. 2015) were performed. The results from logistic PLS were very similar to those of PLS-R, but generated potential overestimates of PLS coefficients due to the occurrence of complete separation leading to abnormally high PLS coefficients for some variables. Thus, we only show the results of PLS-R models in this article.

We included in our models in addition to the 840 landscape variables:

- the symmetry of flowers (three binomial variables for actinomorphy, zygomorphy and mixed symmetries),
- the presence or absence of a tubular corolla,
- the presence or absence of shade on the site,
- the year (5 binomial variables : 2010, 2011, 2012, 2013, 2014),
- the month (9 binomial variables : March to October and 1 binomial variable from November to February),
- the start hour of observation (6 binomial variables : 9 to 11am, 11am to 13pm, 13 to 15pm, 15 to 17pm, 17 to 19pm, 19pm to 8am),
- the temperature (1 ordinal variable with 4 modalities: 1 = $T < 10^{\circ}\text{C}$, 2 = $10-20^{\circ}\text{C}$, 3 = $20-30^{\circ}\text{C}$ and 4 = $T > 30^{\circ}\text{C}$),
- the percentage of cloud cover (1 ordinal variable with 4 modalities: 1 = 0-25%, 2 = 25-50%, 3 = 50-75% and 4 = 75-100%),
- the wind speed (1 ordinal variable with 3 modalities : No wind , Low, High).
- and 5 spatial quantitative variables: longitude, latitude, longitude x latitude, longitude², and latitude².

Appendix II.2 : Results of the GLM analyses on the occurrence of the 46 most frequent flower-feeding insect families.

Table II.2 : Summary of the GLM analysis performed on each of the 46 most frequent insect families as the response variable and the percentage of each of the 7 land uses at 40 different landscape scales as explanatory variables. Families that are positively or negatively affected by land use are respectively associated with a positive or negative sign. Values in brackets indicate the number of landscape scales significantly affecting the family. Blanks are associated to families significantly affected by land use at less than three different landscape scales. No family x land use combination showed both significant positive and negative effects at different spatial scales.

Order	Family	Frequency of observation	Forest	Semi-natural	Agricultural	Water	Artificial open spaces	Impervious	Quarries-Dumps-Worksites
Coleoptera	Coccinellidae	145			+ (3)		- (9)		- (6)
	Oedemeridae	116		+ (38)	+ (40)	- (11)	- (3)	- (12)	+ (27)
	Cerambycidae	92	+ (40)	+ (37)	+ (40)	+ (27)	- (40)	- (40)	- (36)
	Nitidulidae	58	+ (14)	+ (39)	+ (40)	- (28)	- (40)	- (40)	- (36)
	Cetoniidae	48						- (3)	- (28)
	Chrysomelidae	48							
	Mordellidae	40	+ (39)		+ (14)		- (29)	- (40)	
	Dermestidae	38							
	Malachiidae	38	+ (19)					- (21)	- (20)
	Curculionidae	22			+ (26)		- (6)		+ (4)
	Scraptiidae	15	+ (39)				- (37)	- (33)	- (9)
	Elateridae	11	+ (9)	+ (10)	+ (31)		- (38)	- (40)	
	Byturidae	10	+ (5)		+ (40)	- (13)	- (40)	- (40)	- (30)
	Dasytidae	10		+ (7)	+ (30)		- (28)	- (34)	
	Cantharidae	8							
Diptera	Syrphidae	514		+ (17)	+ (29)	- (12)	- (27)		+ (39)
	Sarcophagidae	76		+ (12)	+ (31)	- (13)	- (17)		
	Tachinidae	52	+ (40)	+ (8)	+ (40)		- (37)	- (40)	- (36)
	Bombyliidae	49							- (5)
	Empididae	49	+ (40)		+ (39)	+ (11)	- (28)	- (40)	- (38)
	Sepsidae	31	+ (5)	+ (36)	+ (40)	- (13)	- (40)	- (40)	- (15)
	Muscidae	22			+ (39)	- (18)	- (39)	- (22)	- (10)
	Chloropidae	17							
	Conopidae	15							
	Sciaridae	13	+ (39)	+ (3)	+ (31)	+ (6)	- (37)	- (40)	- (27)
	Stratiomyidae	13			+ (16)	- (30)			
	Calliphoridae	12	- (4)						
Hymenoptera	Apidae	736			+ (8)		- (37)		- (17)
	Halictidae	252	- (40)	+ (11)		+ (3)	+ (17)	+ (39)	+ (40)
	Colletidae	124							
	Megachilidae	120	- (39)	- (3)	- (29)		+ (11)	+ (39)	+ (25)
	Formicidae	112	+ (40)	+ (4)	+ (37)		- (36)	- (40)	- (25)
	Vespidae	110		+ (17)	+ (15)	- (6)			
	Crabronidae	62			+ (24)		- (12)		
	Andrenidae	57		+ (24)	+ (40)			- (38)	
	Sphecidae	40	- (9)					+ (11)	
	Tenthredinidae	39	+ (40)		+ (15)		- (36)	- (40)	- (38)
	Gasteruptiidae	18		+ (27)	+ (24)		- (8)		
	Chrysididae	10							+ (25)
	Cephidae	7			+ (35)		- (14)		
	Braconidae	5			+ (40)		- (35)	- (31)	
Lepidoptera	Pieridae	75					- (9)		
	Nymphalidae	58	+ (37)				- (40)	- (33)	- (18)
	Lycaenidae	26		+ (4)	- (25)				
	Hesperiidae	18	+ (40)				- (40)	- (40)	- (33)
	Noctuidae	11							

Appendix II.3 : Mean proportion of total family richness per session along the gradient of impervious areas.

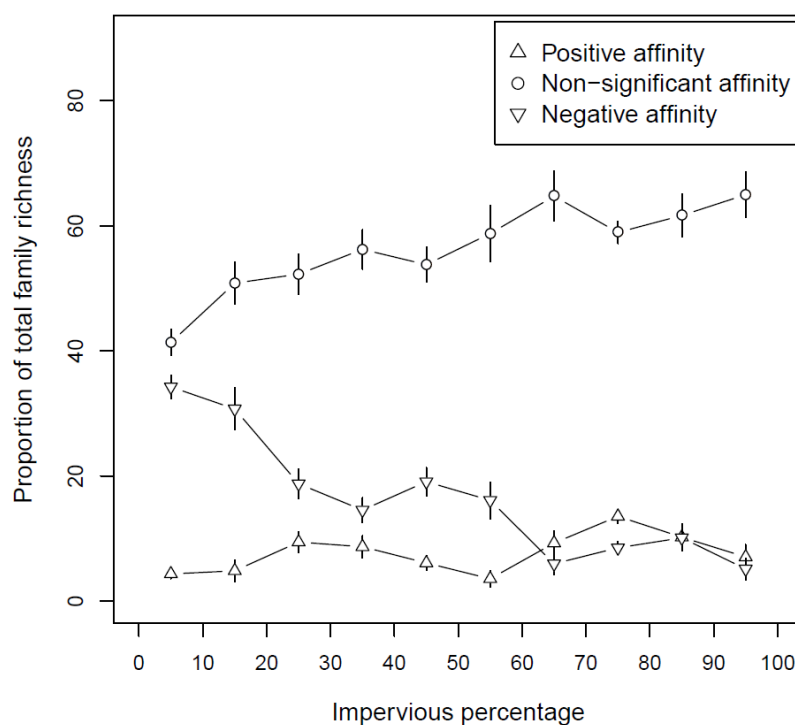
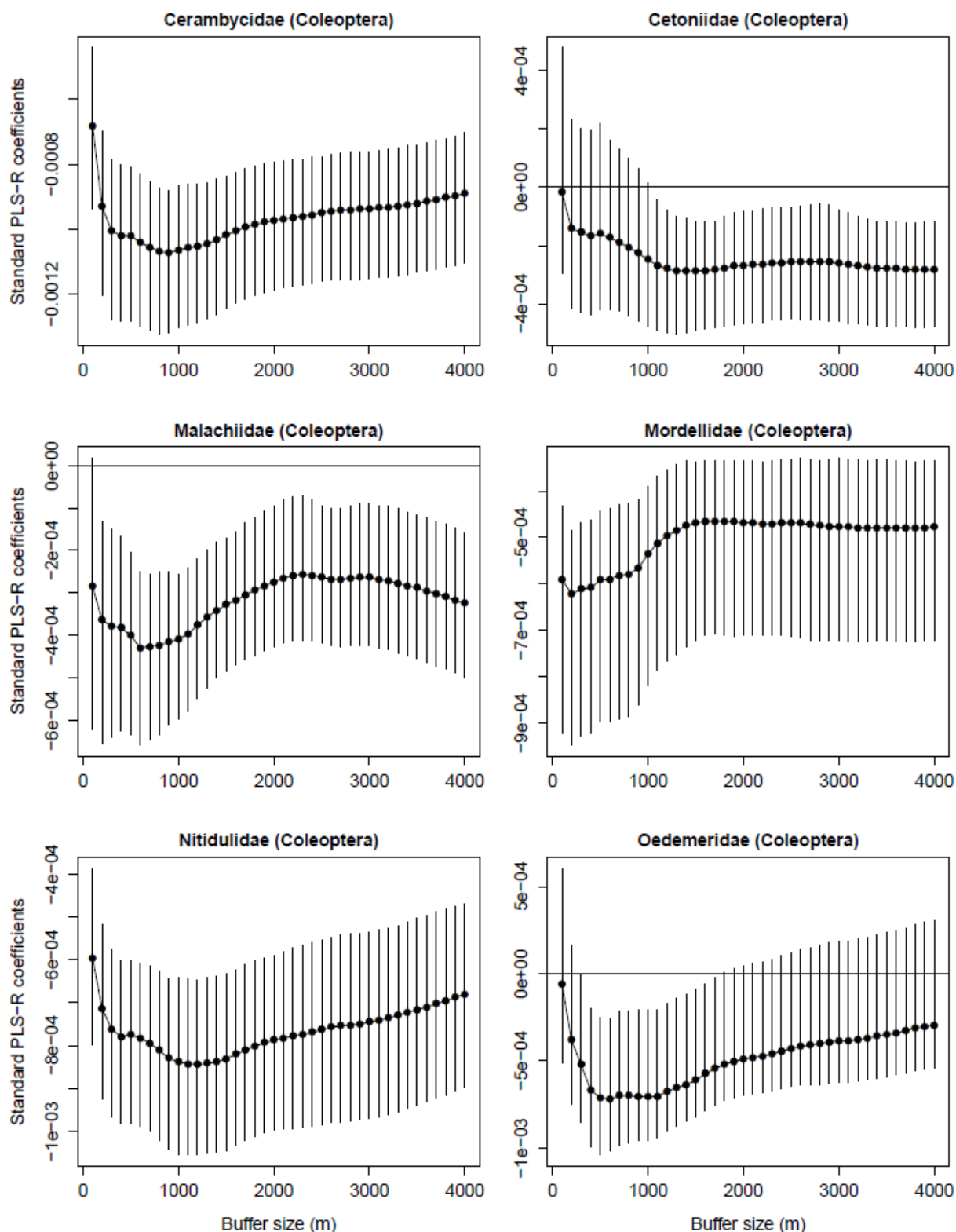


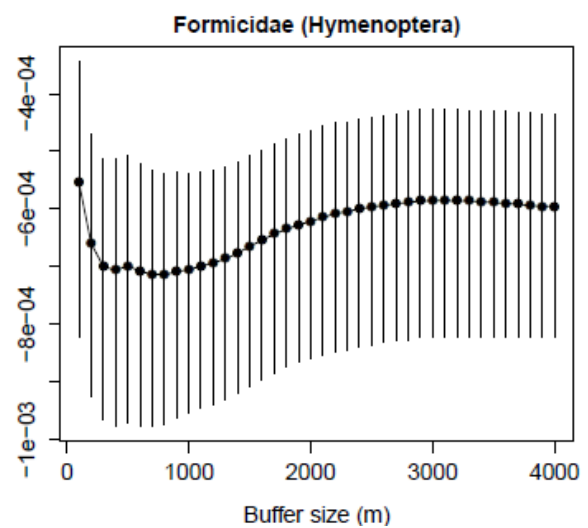
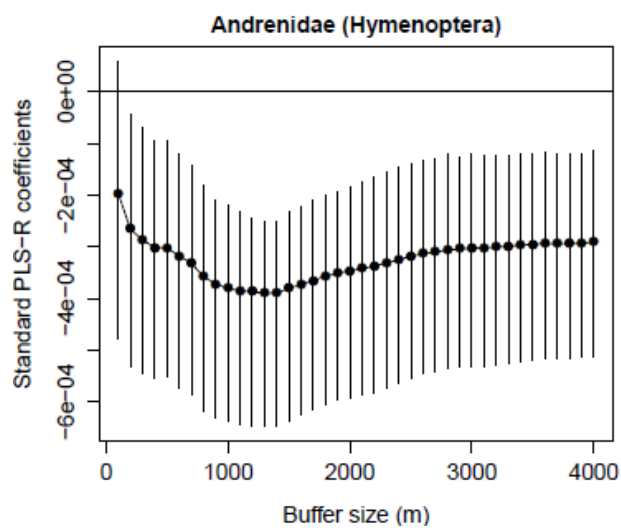
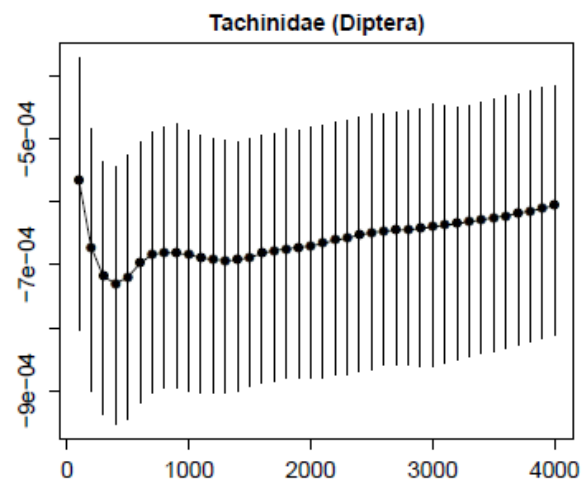
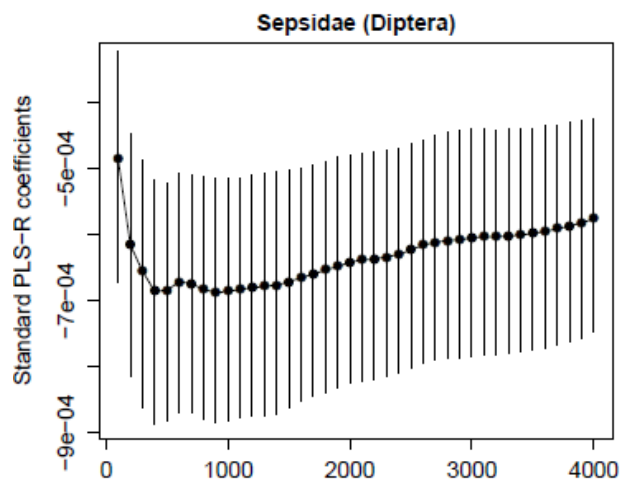
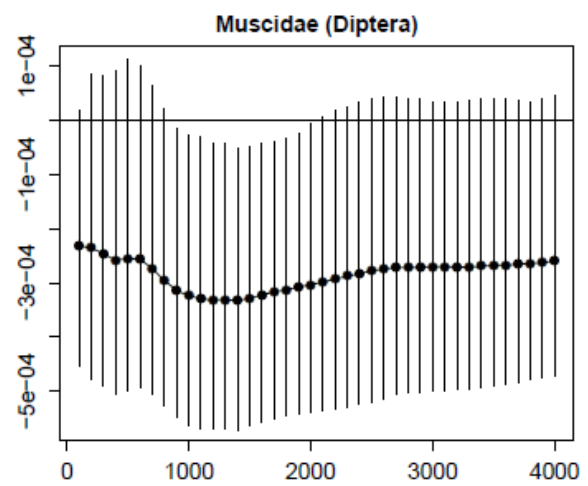
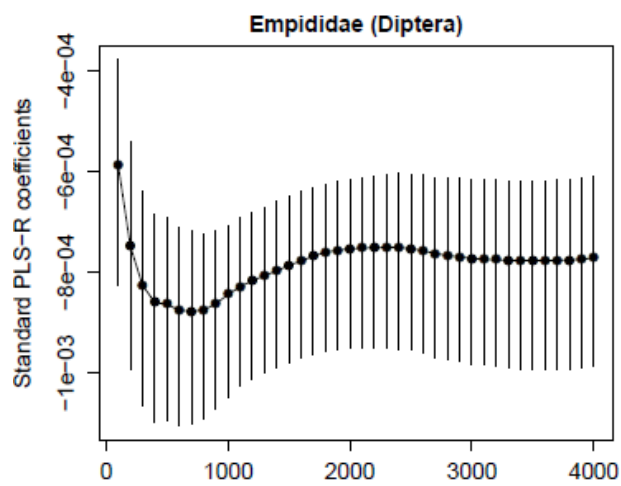
Figure II.7 : Mean proportion of total family richness per session along the gradient of impervious areas. The three family groups are defined according to their significant affinity to impervious areas using GLM analyses. Mean richness is calculated for each 10 % impervious areas category. Families with negative affinity (N = 21), without significant affinity (N = 22) and with positive affinity (N = 3) to impervious areas are respectively represented with downward triangles, circles and upward triangles. Error bars represent the Standard Error of the Mean (SEM)

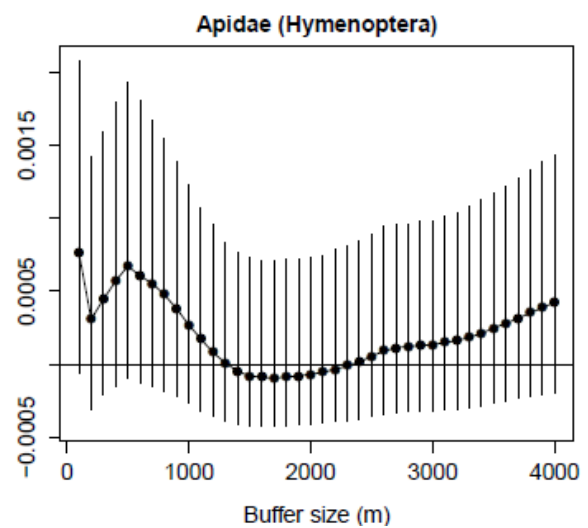
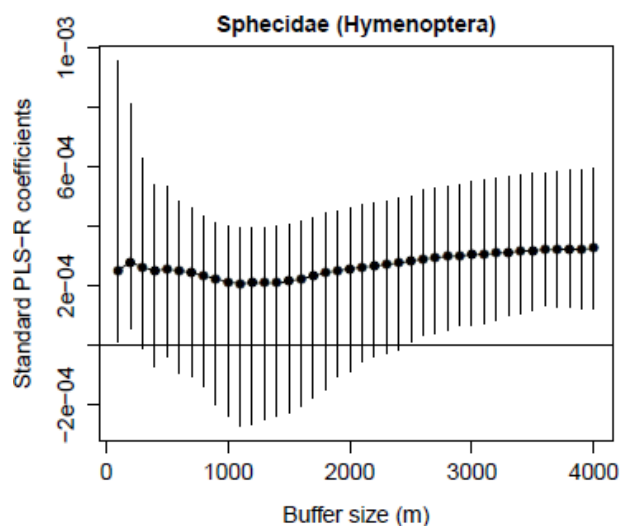
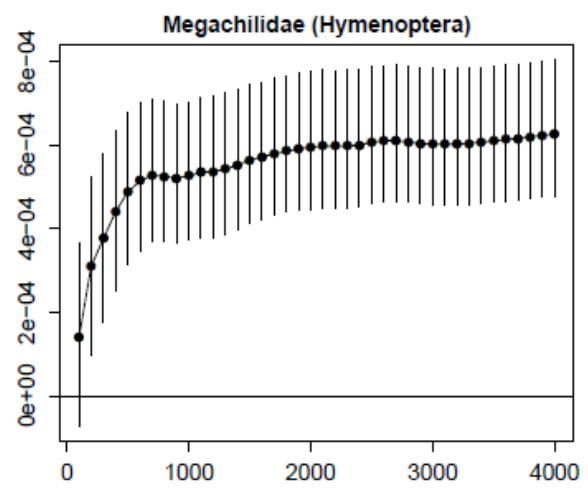
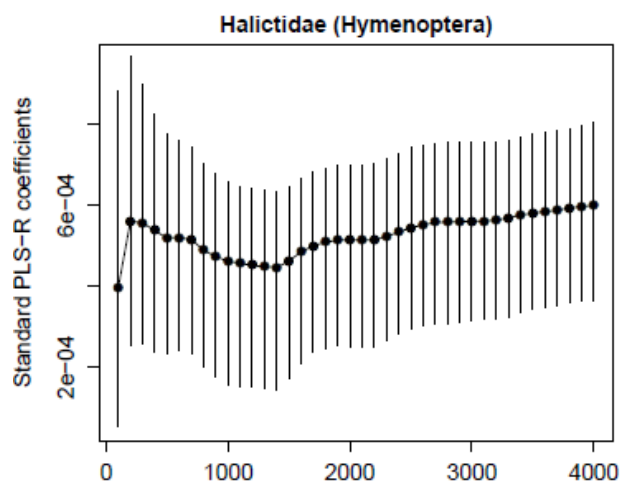
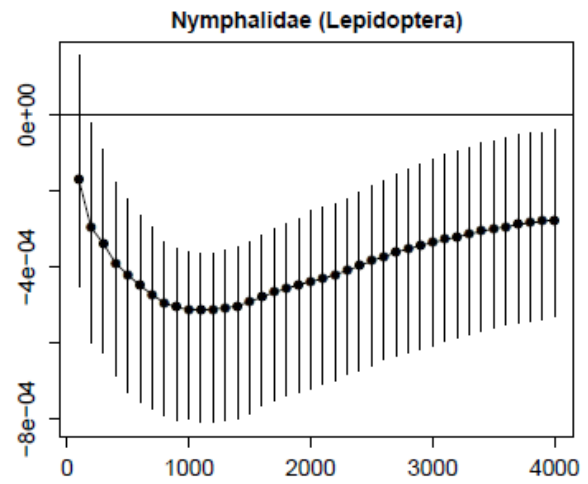
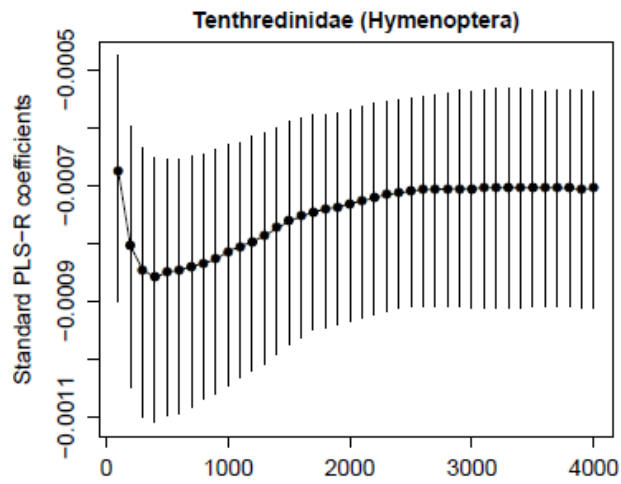
Appendix II.4 : Complementary analyses on data from the contingency table consisting of the number of significant factors over the three landscape indices on the 30 families with more than 20 observations (related to Figure II.3 in the main text).

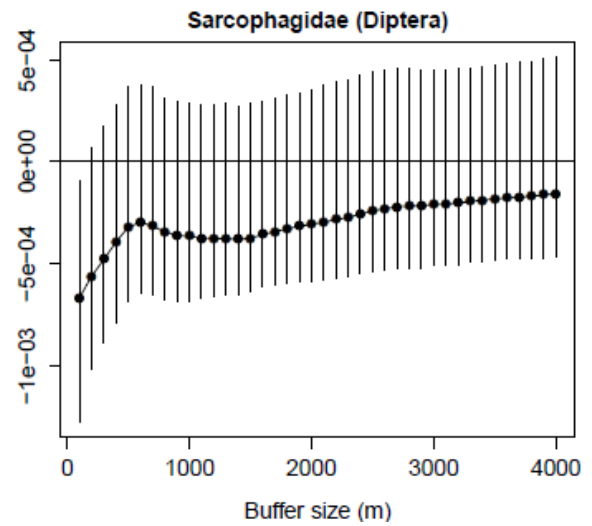
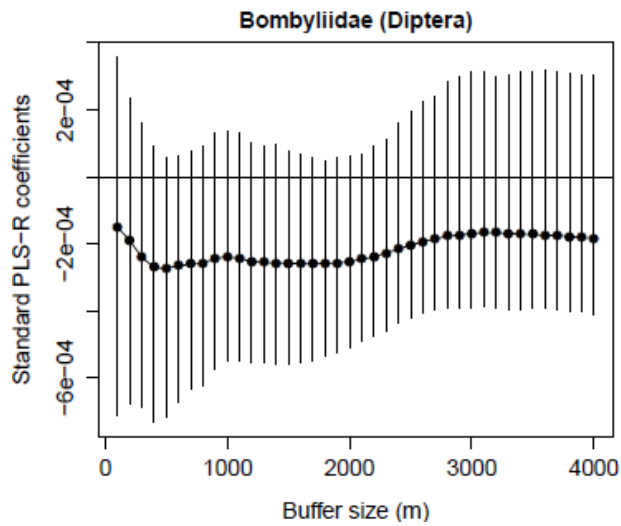
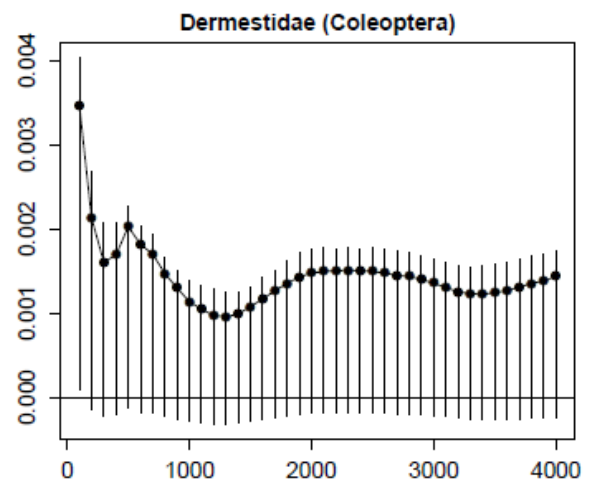
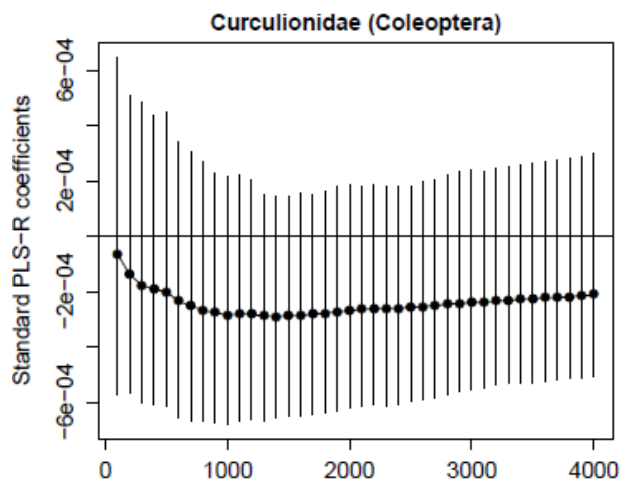
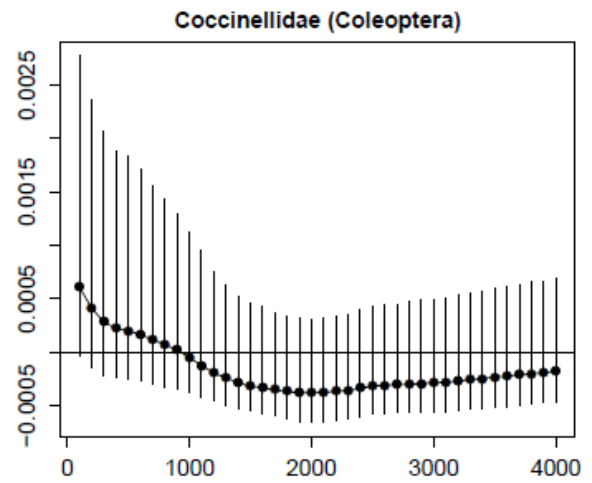
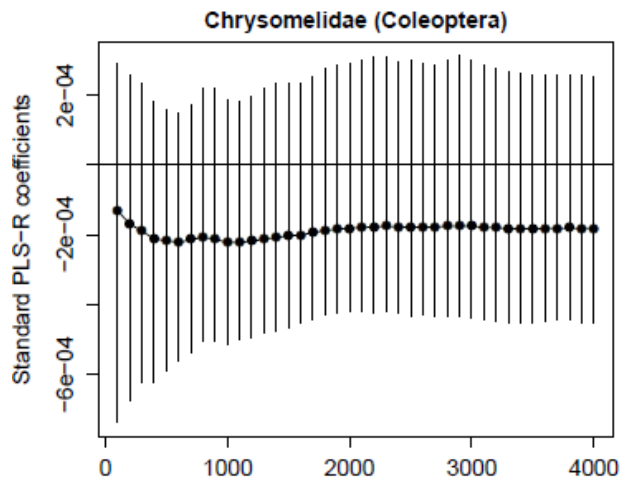
Out of the 14 families having negative affinity to impervious areas, 5 families presented a number of significant factors for the patch density index significantly lower (observed χ^2 : -4.87; -18.35; -4.91 ; -4.01; -19.60) than theoretical number (theoretical χ^2 3.842). Out of the 3 families with positive affinity to impervious areas, 2 families had a number of significant factors for the patch density index significantly higher (observed χ^2 : 4.70; 17.40) than theoretical. Regarding the density of impervious patches within 1000 m, families with negative affinity, no clear affinity and positive affinity to impervious areas had, on average, standard PLS-R coefficients of 1.39E-04, -4.71E-04 and -5.35E-04, respectively.

Appendix II.5 : Relationships between the standard PLS-R coefficients associated with the percentage of impervious areas according to buffer size (m) for each family.









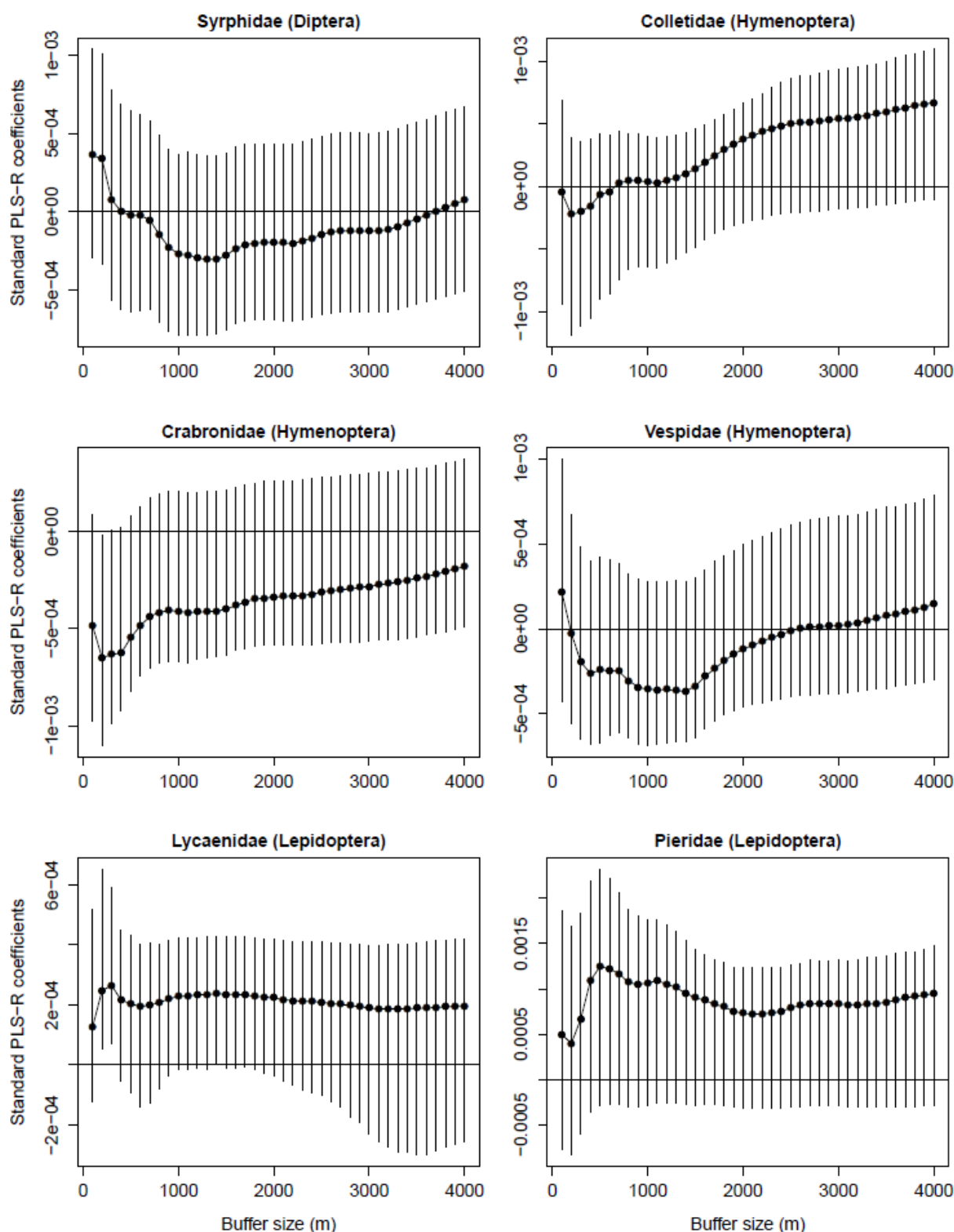


Figure II.8 : Relationships between the standard PLS-R coefficients associated with the percentage of impervious areas according to buffer size (m) for each family. Insect order is specified in brackets. Error bars represent 95% confidence intervals from bootstrap procedures applied on standard PLS-R coefficients using the percentile method.

Appendix II.6 : Relationships between insect family affinities to impervious areas and the standard PLS-R coefficients associated with the impervious patch density in a radius of 1000 m around sampling points.

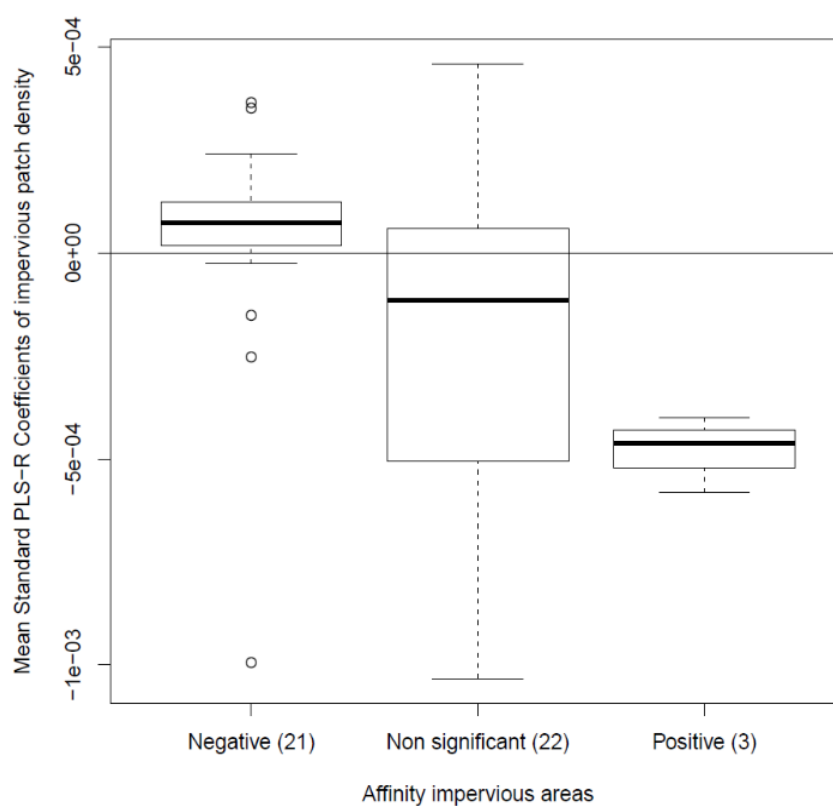


Figure II.9 : Relationships between insect family affinities to impervious areas and the standard PLS-R coefficients associated with the impervious patch density in a radius of 1000 m around sampling points. Values in brackets indicate the number of families considered in each affinity category.

Appendix II.7 : Relationships between impervious area percentage and the mean area percentage of the six other land uses.

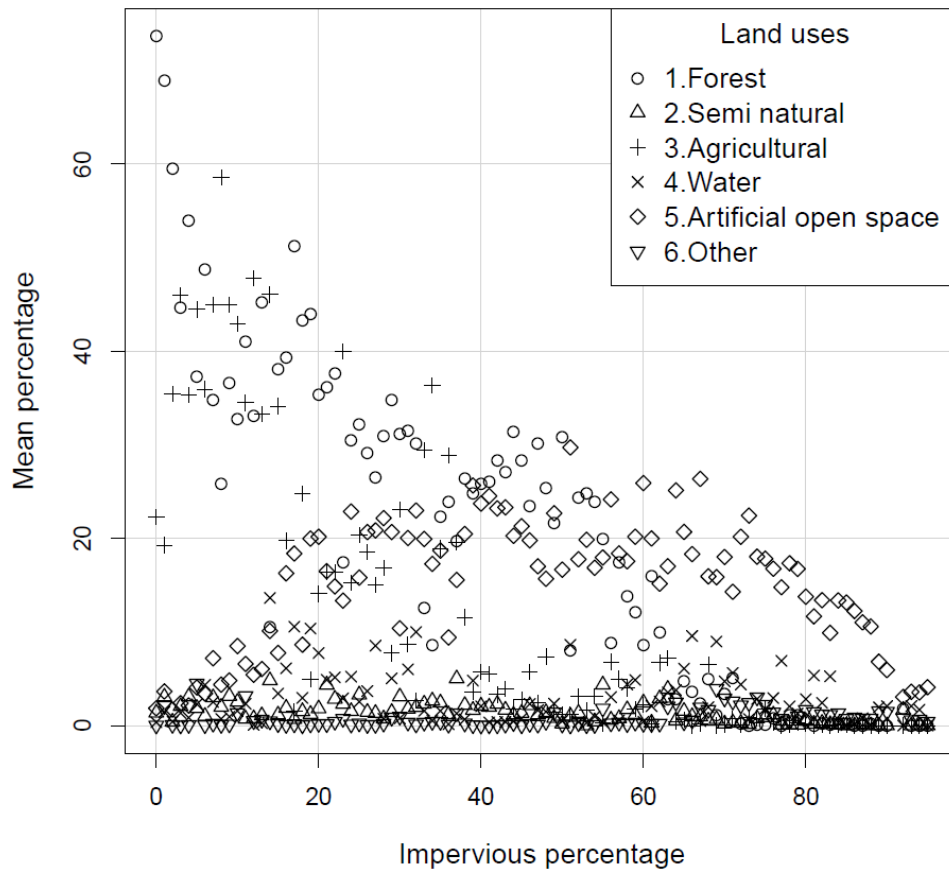
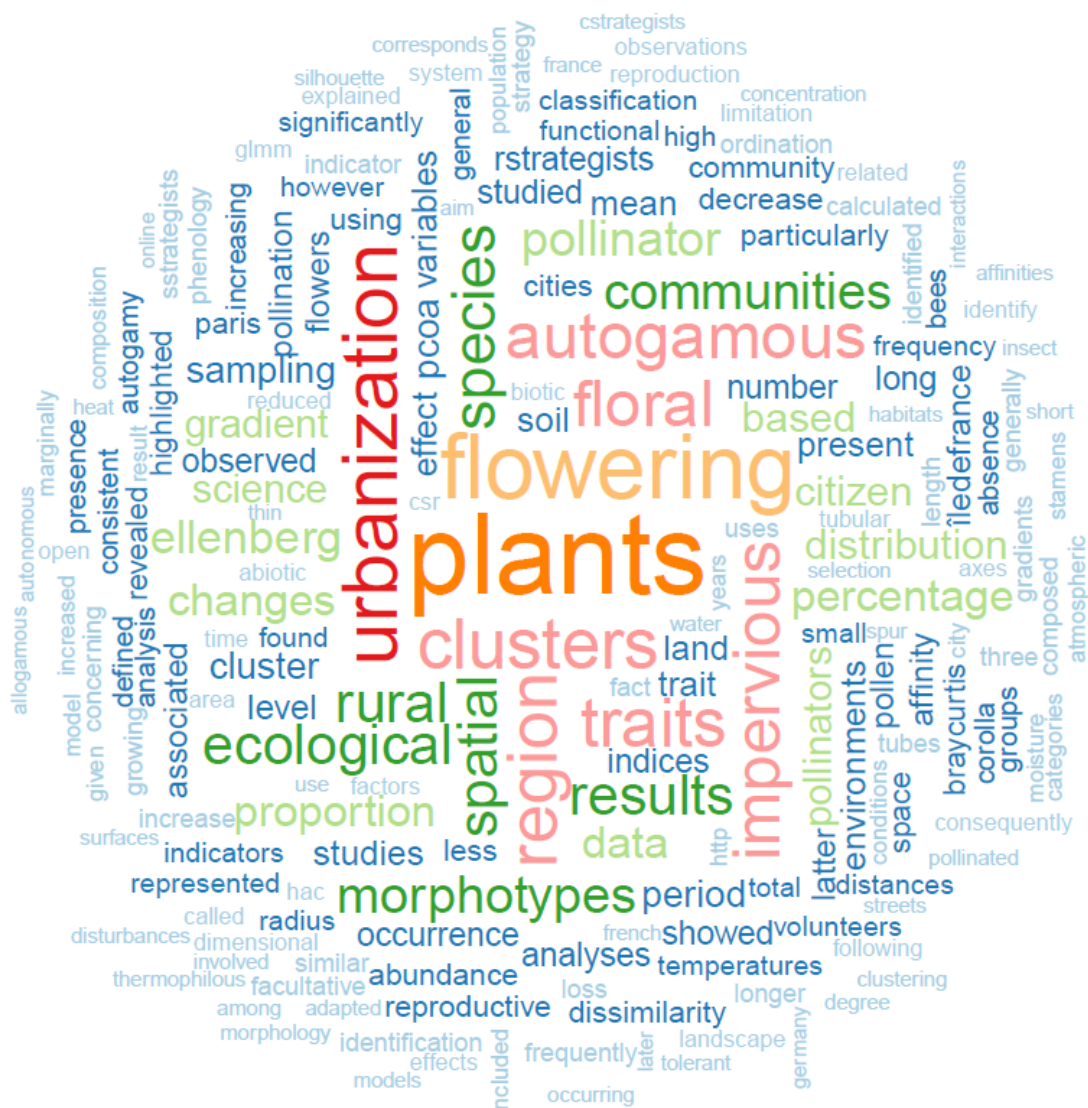


Figure II.10 : Relationships between impervious area percentage and the mean area percentage of the six other land uses. Land use percentages were determined for the 1203 sampling point by using a buffer size of 1000 m.



L'article présenté dans ce chapitre est en cours de préparation.

Toutes les références bibliographiques associées à cet article sont incluses dans la liste des références en fin de thèse.

Title: Ecological affinities and reproductive characteristics of street plant communities along an urbanisation gradient in the Île-de-France region

James Desaegher^{1*}, Sophie Nadot¹, Nathalie Machon², Bruno Colas^{1,3}

Affiliation of authors:

¹ Ecologie Systématique Evolution, Université Paris-Sud, UMR 8079, CNRS, AgroParisTech, Université Paris-Saclay, 91400 Orsay, France,

² Centre d'Ecologie et des Sciences de la Conservation, UMR7204, (CNRS, MNHN, UPMC), Museum national d'Histoire naturelle, 55 rue Buffon, 75005 Paris, France

³ Université Paris-Diderot, Sorbonne Paris-Cité, Paris, France

*corresponding author: jamesdesaegher@gmail.com, Bâtiment 360, rue du Doyen André Guinier, 91405 Orsay CEDEX

Abstract

Anthropogenic activities in urban ecosystems are inducing myriad abiotic and biotic changes compared to adjacent rural areas. The syndrome of changes along urbanisation gradients can be seen as a series of selection filters affecting the distribution of plant species. The identity of these selection filters is still poorly known.

By using a floristic dataset from a citizen science project, recording the plants growing in the streets of the region Île-de-France, including the city of Paris, we analysed the distribution of plant reproductive traits and plant ecological indicators along an urbanisation gradient. We wanted to know (i) whether the degree of urbanisation could affect the composition of street plant communities, and (ii) identify the possible biotic and abiotic factors responsible for changes in the composition of these plant communities.

The proportion of impervious areas, as a proxy of urbanisation, was shown to strongly modify street plant community composition. The over-representation of thermophilous species and species tolerant to drought conditions reveals that the warmer and drier conditions in urban areas are acting as selection filters on plant. Urbanisation has also an effect on reproduction, by selecting autogamous, self-compatible and non-entomophilous species, which strongly suggests a lower abundance of the pollinating fauna in urban environments. In addition, the observed altered distribution of floral morphologies of plants relying on pollinators along the urbanisation gradient indicates that functional groups of pollinators are not equally affected by urbanisation.

Keywords: plant communities; urbanisation; citizen science; pollination; reproductive traits; floral morphotypes, Ellenberg ecological indicators,

Introduction

Humanity reached a historical milestone in 2007 when for the first time the global human population living in cities exceeded the global rural population (United Nations 2014). Urbanisation is a demographic process associated with the tendency of human population to concentrate in cities, and in turn it strongly impacts the landscape. Based on the recent burst in urbanisation, it has even been argued that we entered in the “The century of the city” (Seto et al. 2010). The rate of urbanisation has been identified as the fastest ever in human history, particularly during the last sixty years (United Nations 2014).

Cities represent never before seen environments, in which humans are playing a key role by altering ecological processes. Anthropogenic activities are inducing myriad deviations from natural ecosystems (Donihue 2014). Both abiotic and biotic changes take place in urban areas compared to adjacent rural areas, and these changes are potentially exerting strong selective pressures on living organisms in general, and plants in particular. (Johnson et al. 2015). Urbanisation can be seen as a series of selection filters affecting the distribution of species along rural to urban gradients. Williams et al. (2009) identified four major filters induced by urbanisation, through which urban plant communities have to pass: 1) habitat transformation (changes in landscape composition, such as the replacement of agricultural lands by impervious surfaces), 2) habitat fragmentation (changes in landscape structure), 3) urban environmental conditions (increasing temperatures due to the urban heat island, increased water stress, pollutions, etc.), and 4) human preference (such as the introduction of plant species for ornamental purposes). Through each filter, urbanisation causes gains and losses of plant species depending on their functional traits and therefore their potential to adapt or not to urban habitats, and results in differentiation in species abundance and composition between urban and rural plant communities. The extent of gains and losses of plant species due to urbanisation is highly dependent upon both the initial regional pool of species and the history of the land use prior urbanisation (Williams et al. 2009). Moreover, a few studies have highlighted that the environmental changes associated with urbanisation can also lead to local adaptation through natural selection among populations of the same species (Cheptou et al. 2008; Brys and Jacquemyn 2012; Thompson et al. 2016).

The altered distribution of functional traits in plant communities along urbanisation gradients can be seen as selection signatures (Williams et al. 2009). The study of specific traits can help identify the principal selective filters occurring along these gradients and the underlying ecological mechanisms (Vallet et al. 2010). More generally, plant traits and their

spatial distribution can be used as bioindicators of landscape and ecological changes (see for example Bechtel and Schmidt 2011; Hedwall and Brunet 2016). Specific plant functional traits such as zoochory (seed dispersal by animals) can also indicate the occurrence of obligate interactions between plants and other organisms (Knapp et al. 2016). One of the most famous, historical example of pollinator occurrence prediction based on a floral trait is the Darwin's Madagascan Hawk Moth prediction (Darwin 1877; Kritsky 1991).

Studies conducted on pollinator communities along urbanisation gradients have led to highly heterogeneous results, depending on the studied taxa and particularly on the regional urbanisation context (Deguines et al. 2012; Fortel et al. 2014; Baldock et al. 2015; Geslin et al. 2016). In the region Île-de-France, which includes the agglomeration of Paris, Geslin et al. (2016) showed a negative effect of the proportion of impervious surfaces on the richness and abundance of bee species. However, this general effect hides the existence, in the same region, of floral visitors taxa being negatively and positively affected by urbanisation (Desaegher et al. *in revision*). Under the assumption of pollen limitation (reduced seed production caused by limited pollen availability for plants) due to a lower pollinator abundance in the Île-de-France region, increasing urbanisation is expected to affect negatively the proportion of insect pollinated plants, as shown in a study conducted in Germany (Knapp et al. 2008b). Similarly, under severe pollen limitation we expect an increase in the proportion of self-compatible species with autonomous selfing capacity, as mechanism of reproductive assurance (Eckert et al. 2009). In turn, strictly self-incompatible species should experience a reduced seed production and will certainly be under-represented in the urbanised areas of the region. These hypotheses can be tested in the Île-de-France region, which presents an almost complete gradient of urbanisation, through the frequency analysis of reproductive trait occurrence in spontaneous plant communities along this gradient.

As shown by Geslin et al. (2013) in an experiment involving species with open versus tubular flowers (accessible versus hidden rewards), floral traits can play a role in the reproductive success along an urbanisation gradient: the two species with open flowers showed a decrease in their reproductive success with increasing urbanisation and no significant decrease for the three species with tubular flowers. These results are consistent with the observed decrease in visitor specialisation, and the decrease in the visits performed by open flower visitors (generally with smaller mouthparts), along with urbanisation (Geslin et al. 2013). Our previous work also suggests an asymmetrical effect of urbanisation on floral visitors since insect families with negative affinity to urbanised areas also have a preference for non-tubular corollas (Desaegher et al. *in revision*). Since the pollination function was shown to be tolerant

to plant or pollinator loss (Memmott et al. 2004), principally because of the nested design of pollination networks (specialist insects visiting generalist plants and vice versa) (Bascompte et al. 2003) it is particularly arduous to predict which floral morphotypes should be over or under-represented in urban environments based on the observed pollinator morphotypes.

Plant flowering phenology has been repeatedly shown to be strongly affected by temperature (Fitter and Fitter 2002) and since with the so-called urban heat island, temperatures are generally higher in cities than in the surrounding rural environments, a phenomenon observed in Paris (Desplat et al. 2013), the flowering phenology of species is expected to differ between urban and rural communities.

To study the distributions of plant reproductive traits and plant ecological indicator values along an urbanisation gradient, we chose to analyse a dataset from a French national citizen science project called “Sauvages de ma rue” (literally “wild flowers of my street”). The program aims at recording plant species growing spontaneously in the streets. We focused on the Île-de-France region (around Paris) to benefit both from a high sampling density in a full urbanisation gradient and from previously published plant-pollinator studies in the region, allowing us a better understanding of the system. In the present study, we attempted to address the two following questions: i) Does the composition of plant communities (in terms of species) change along an urbanisation gradient in the study region? ii) if so, what are the possible biotic and abiotic factors responsible for these changes? Most of the investigated biotic changes were involving the interdependence between plants and pollinators. We intended to answer these questions examining correlations between the proportion of impervious areas in the surrounding landscape of the sampling sites and traits related to the plant reproductive system, floral morphology, as well as plant ecological indicators.

On the one hand, the identification of plant traits that are over or under-represented with increasing urbanisation can help understanding the underlying ecological mechanisms occurring in urban environment (Vallet et al. 2010). On the other hand, it could hold as a reference work for detecting species of conservation concern, or conversely predict plant species that may sustainably be introduced in urban environments (Williams et al. 2009).

Material and methods

Data collection protocol

The present study is based on analyses performed on data collected from a French citizen science project called “Sauvages de ma rue” aiming at collecting floristic data in France

following a standardized protocol. This scientific and pedagogic project was initiated by the Centre d'Ecologie et des Sciences de la Conservation (CESCO) of the Museum national d'Histoire naturelle (MNHN) and is promoted by the association Tela Botanica. Volunteers are invited to identify all the spontaneous plant species growing in a street of their choice between two intersections. An identification guide and a mobile application were both designed to help the volunteers to identify the plants commonly growing in streets (<http://sauvagesdemarue.mnhn.fr/biodiversit-urbaine/cl-didentification-sauvages-de-paris>).

Additional online identification keys and online assistance by botanists from the Tela Botanica network is also provided. Volunteers are also asked to record information on the date of observation, and on the type of habitat and the location (starting and ending GPS coordinates) of the chosen street. For each species, the confidence degree of the identification has to be specified and pictures can be uploaded for subsequent data validation by botanists involved in the program.

Geographical data

A total of 1313 different spatial locations of the 367 different species recorded were available in the database for the Île-de-France region over the years 2008-2017. This region was chosen because it is currently one of the most densely sampled area and includes semi-natural habitats relatively devoid of urban influences as well as highly urbanised landscapes in close vicinity. It has also been already subject to many studies in urban ecology, including studies focused on plant and pollinator relationships.

We used 1/5000 GIS maps reporting land uses over the Île-de-France region published in 2012 by the Institut d'Aménagement et d'Urbanisme. Among the 11 categories defined in these maps, the following six categories were retained: 1) forest; 2) semi-natural area; 3) agricultural land; 4) water; 5) artificial open space; 6) quarries, dumps and worksites. The remaining five categories (individual housing, group housing, business parks, facilities and transportation infrastructures) were all merged into one category called impervious surfaces. A detailed description of each category is available online (<http://www.iau-idf.fr/>). For every 1313 sampling points, we calculated the total impervious area in a radius of 500 metres by using Quantum GIS version 2.14.13 (QGIS Development Team 2015). The Île-de-France region (total area of nearly 12000 km²) represents a full urbanisation gradient, with samples (inventoried street) presenting 0.5% to 100% of impervious surfaces in a buffer radius of 500 metres.

Sample points clustering

Since the volunteers were free to choose the street they sample, the geographic distribution of the samples was not evenly distributed. In order to avoid spatial pseudo-replication, we gathered the points close to each other by using a Hierarchical Ascendant Classification (HAC) algorithm with R Core Team 2016. Since the sampled streets were situated within the same region, and rather far from the poles we calculated the straight-line Euclidean distance matrix between each GPS coordinates. Then, we performed the HAC algorithm on this matrix with the “average” method and cut the cluster dendrogram at a height of 1000 m. A point situated more than 1000 metres away from the gravity centre of a given cluster was not included in this cluster. This clustering resulted in 167 spatial clusters scattered over the studied region (Figure III.1). We visually validated the output of this algorithm by mapping the clusters using Quantum GIS version 2.14.13 (QGIS Development Team 2015).

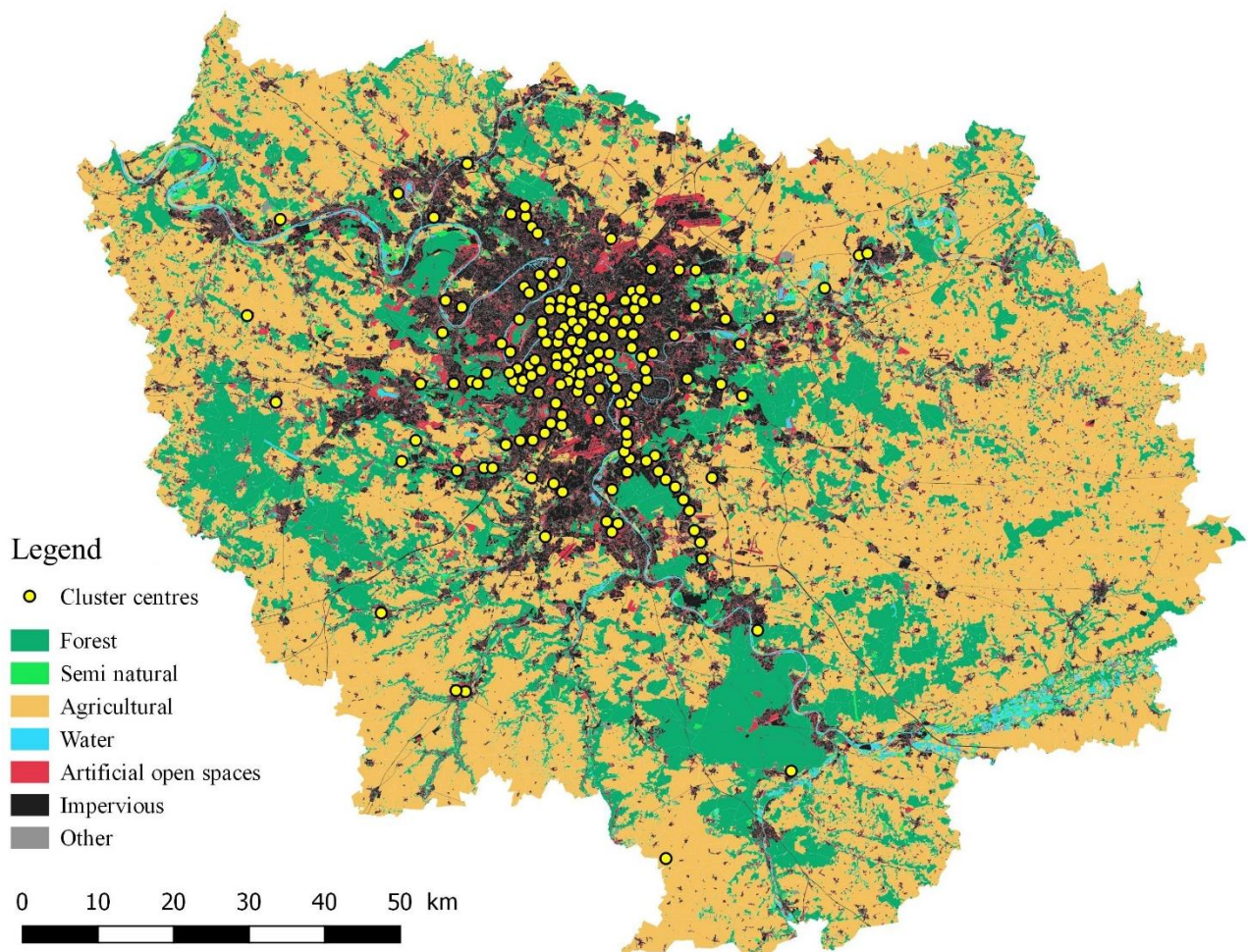


Figure III.1 : Map of the study region (Île-de-France) with the distribution of the cluster centres of sampling points (yellow).

Biological data

Based on the plant identifications made by the volunteers, we established a list of plants growing in the study region with the identification resolved to the species level. The name of each species was checked, and synonyms were replaced by the currently accepted name (<http://www.theplantlist.org/>).

Reproductive traits and affinity indices associated to each plant species were extracted from online databases by using the TR8 package (Bocci 2017) with R version 3.3.2 (R Core Team 2016). The databases used in the present study were BiolFlor and Catminat. The traits directly extracted or derived from BiolFlor were: the ecological strategy following the system of Grime (Grime 1974), reproductive system, level of self-compatibility and level of autogamy. The traits directly extracted or derived from Catminat were: level of entomophily, vectors of dissemination, begin and end of flowering (in months) that are typical for Germany but adapted to the French situation (<http://philippe.julve.pagesperso-orange.fr/catminat.htm>), Ellenberg's ecological affinity indices (Ellenberg et al. 1992) for light, temperature, continentality, atmospheric moisture, soil moisture, soil reaction, nitrogen, salt and also affinity indices for soil granulometry and for soil organic matter. In addition to the traits and ecological affinity indices collected from BiolFlor and Catminat databases, we scored for every species the presence or absence of a nectar spur and the presence or absence of tubular flowers. A plant species was assumed to have a tubular flower when the corolla presented a tube longer than 4 mm at its base, either with fused petals (*e.g.* Lamiaceae), or with free but closely contiguous petals looking like fused from the pollinator point of view (*e.g.* Fabaceae). Finally, we elaborated a plant and pollinator morphological typology composed of five floral morphotypes that correspond to four pollinator morphotypes (Figure III.2). The floral morphologies defining the plant and pollinator morphotypes are based on our personal observations and are consistent with the floral visitor measures recorded in Stang et al. (2006). A summary of the modalities of every trait and ecological affinity indices (traits, hereafter) is presented in Table III.1. In the present database the values or modalities for every trait and every species is constant, and possible traits variation along the urbanisation gradient are therefore not considered.

Table III.1 : Summary description of the modalities of the 21 studied plant traits.

Name of the trait	Description of modalities
a) Floral morphotypes Ecological strategy (system of Grime) Dissemination vector	5 Modalities: from type 1 to type 5 (See Figure III.2) 7 Modalities: 1) competitors (C), 2) competitors/ruderals (CR), 3) competitors/stress-tolerators (CS), 4) competitors/stress-tolerators/ruderals (CSR), 5) ruderals (R), 6) stress-tolerators (S), 7) stress-tolerators/ruderals (SR) 4 Modalities: 1) anemochory, 2) hydrochory, 3) autochory or barochory, 4) dyszoochory or endozoochory or epizoochory or myrmecochory
b) Reproductive system	5 Modalities: 1) by seed/by spore (S), 2) mostly by seed and rarely vegetatively (SSV), 3) by seed and vegetatively (SV), 4) mostly vegetatively and rarely by seed (VVS), 5) vegetatively (V)
Level of self-compatibility	3 Modalities: 1) selfing and seed set are impossible (SI) or mostly prohibited (I+), 2) intermediate situations: (C+ and SI) or (SC and I+) or (SC, I+ and SI) or (SC and SI), 3) selfing leads to seed set (SC) or mostly lead to seed set (C+)
Level of autogamy	3 Modalities: 1) allogamous (X) or Facultative allogamous (XF), 2) intermediate situations: mixed mating (AFXF) or (AFXF and AF) or (AFXF and AO) or (AFXF and X) or (AF and XF), 3) autogamous (AO) or Automixis (I) or Facultative autogamous (AF)
Level of entomophily	3 Modalities: 1) Pollen not transported by insects: selfing or water or wind or (wind and selfing) or apogamy, 2) Pollen partially transported by insects: (insects and selfing) or (insects and wind), 3) Pollen obligatory transported by insects
Ellenberg indices for: light, temperature, continentality, atmospheric moisture, soil moisture, soil reaction, nitrogen and salt	From 0 or 1 to 9 or 12 (see Ellenberg et al. 1992)
Affinity index for soil granulometry	9 Modalities: 1) clay, 2) intermediate, 3) silt, 4) fine sand, 5) coarse sand, 6) gravel, 7) pebbles, 8) blocks, walls slots, 9) rock plate
Affinity index for soil organic matter	9 Modalities: 1) lithosol, arenosol, 2) carbonate mull, 3) active mull, 4) acid mull, 5) moder, 6) mor, hydromor, xeromor, 7) ranker, tangel, 8) anmoor, gyttja, 9) peat
c) Presence or absence of tubular corollas	2 Modalities: 0) Absence or 1) Presence
Presence or absence of nectar spur	2 Modalities: 0) Absence or 1) Presence
d) Begin of flowering	12 Modalities: From January (1) to December (12)
End of flowering	12 Modalities: From January (1) to December (12)

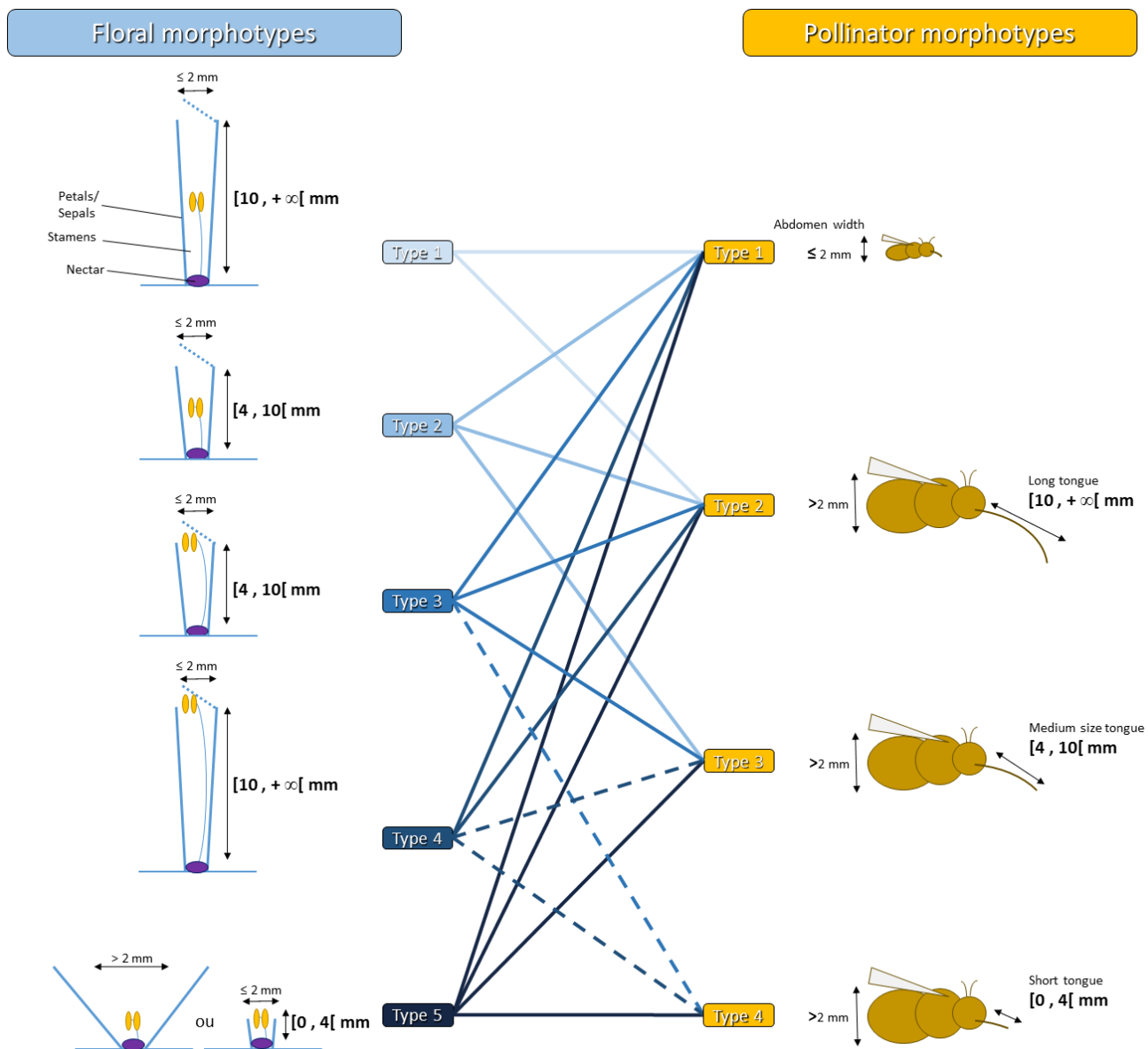


Figure III.2 : Illustration of the classification of floral and pollinator morphotypes. Floral morphotypes are distributed into five categories based on corolla length and stamen accessibility. The corresponding pollinator morphotypes are distributed into four categories and based on body width and tongue length. Full lines between floral and pollinator morphotypes indicate that the pollinators can access both stamens (i.e., pollen) and nectar (within the corolla tube). Dashed lines indicate that the pollinators have access only to stamens (except nectar robbing).

Statistical analyses

Urbanisation and community composition

The effect of the urbanisation gradient on the composition of plant communities was examined using a suite of statistical analyses based on the Bray-Curtis dissimilarity matrix, calculated on the occurrence of the plant species in the 167 spatial clusters. The Bray-Curtis distance between two clusters represents the mean number of species specific to each cluster across the total number of species present in at least one of the two clusters. Based on this dissimilarity matrix we carried out a cluster classification and we performed an ordination in order to subsequently test the effect of the percentage of impervious areas on the two first dimensions of this ordination.

We performed a Hierarchical Ascendant Classification (HAC) on the Bray-Curtis dissimilarity matrix with the Ward aggregation method. The assessment of the clustering tendency was based on the calculation of the Hopkins statistic and the Visual Assessment of cluster Tendency (VAT). The number of groups was identified by calculating the “Frey”, “Mcclain”, “Cindex”, “Silhouette” and “Dunn” indices and by choosing the most frequently returned optimal number of groups. After the clustering procedure we checked the classification efficiency by calculating the Silhouette index of individuals (i.e., the 167 spatial clusters).

The ordination performed on the Bray-Curtis dissimilarity matrix was a Principal Coordinate Analysis (PCoA) representing a distance-based Redundancy Analysis (dbRDA), allowing the analysis of non-Euclidean distances. We did not specify any constraining variables in the formula. However, the correction recommended by Legendre and Anderson (1999) for non-euclidean distances was added. This analysis was chosen since we wanted to keep real distances in the ordination to correlate the results to external variables, more particularly the percentage of impervious areas. If the clusters are represented close together in the two first dimensional space defined by the PCoA, this means that they share a great number of species. This allows testing whether a particular land use proportion significantly separates the clusters in the space defined by the PCoA. The proportionality between the inter-individual distances in the two dimensional space created by the PCoA and the observed inter-individual dissimilarity was visually assessed on a Shepard diagram.

To examine the relationship between the distribution of clusters in the two dimensional space and the proportion of land uses, we extracted the scores of the two first axes of the PCoA and we calculated for every spatial cluster the mean percentage of every land use around all the sampling points included in the clusters. The effect of the proportion of every land use on the

inter-individual distances in the two dimensional space of the PCoA ordination was assessed using a non-parametric permutation test with 9999 permutations. Since interactions cannot be tested with the permutation test, the effects of the seven land uses were individually tested, and also tested all together in a single additive model.

Urbanisation and trait frequency

To identify the traits over- or under-represented along the urbanisation gradient and potentially involved in plant species adaptation to highly urbanised areas, mixed effect models were used on the 21 traits (see Table III.1). We tested the effect of the percentage of impervious areas in a radius of 500 m around the sampling points on the occurrence of every plant trait. We performed one model per trait, with the trait considered as a response, the percentage of impervious areas as a fixed factor, and the identity of the spatial cluster in which the trait was found as a random factor. To avoid pseudo-replication with multiple repetitions of the same plant species in a given cluster, only species occurrence was considered in each cluster (absence vs presence in the cluster). For each species in a cluster, we calculated the mean percentage of impervious areas in a radius of 500 m around all the sampling points where the species was found.

According to the modalities of the plant traits, three categories of statistical tests were applied. Since the variables “Floral morphotypes”, “ecological strategy” and “dissemination vector” were multinomial (Table III.1a), Multinomial Logistic Regressions (MLR) were used with the *nnet* package (Ripley and Venables 2016). The variables “reproductive system”, “level of self-compatibility”, “level of autogamy”, “level of entomophily” and the Ellenberg and soil affinity indices were considered as ordinal variables (Table III.1b) and were consequently treated with Cumulative Link Mixed Models (CLMM) with logit link using the *Ordinal* package (Christensen 2015a, b). For both MLR and CLMM, the significance of the percentage of impervious areas was tested using a Likelihood Ratio test. Pairwise comparisons were done using Wald z tests. The variables “presence or absence of tubular corollas”, “presence or absence of nectar spur”, “begin of flowering” and “end of flowering” were analysed with Generalized Linear Mixed Models (GLMM) (Bolker et al. 2009), using the Binomial distribution for the two first variables (Table III.1c). Based on the analyses of normality and homoscedasticity on the residual plots (Zuur et al. 2010) we chose the Poisson distribution for the variables “begin of flowering” and “end of flowering” (Table III.1d). In the case of GLMM, the significance of the percentage of impervious areas was tested using a Wald Chi-square test. For the three variables related to floral morphology (floral morphotypes, presence or absence

of tubular corollas, presence or absence of nectar spur) we restricted our analysis to the plants species recorded as at least partly entomophilous. Whenever needed, Chi-squared independence tests were performed on the species trait data to detect correlations between qualitative traits.

Results

Assembly of the floral dataset

The floral dataset used in this study included a total of 367 plant species belonging to 234 genera and 76 families. The observations were distributed in 167 spatial clusters, with 16 clusters presenting a mean percentage of impervious areas in a radius of 500 m comprised between [0, 50 %[, 44 clusters between [50, 75 %[and 107 clusters between [75, 100 %]. The generally high mean proportion of impervious areas around the spatial clusters can be explained by the fact that the whole program from which the data were retrieved (“sauvages de ma rue”) is targeted on the inventory of plant species growing in the streets, implying that the sampling points are always situated in urbanised areas.

Species composition of plant communities

The Visual Assessment of cluster Tendency (VAT) performed on the Bray-Curtis dissimilarity matrix among clusters reflected a non-random species assembly in plant communities. This is confirmed by the value of the Hopkins Index (0.251), which is smaller than the threshold value (0.5) that would have been expected with a randomly distributed dataset. The McClain and Dunn indices revealed an optimal number of two groups, the Silhouette index suggested three groups, whereas the Frey and Cindex gave respectively 0 and 164 groups. We chose to split the spatial clusters into two groups, since a third group would have only been composed of three spatial clusters. The Hierarchical Ascendant Classification (HAC) dendrogram is presented in Appendix III.1. The calculation of the Silhouette index for each of the 167 spatial clusters revealed a reduced classification efficiency for spatial clusters included in the second group, which results in lower resolution in some parts of the dendrogram.

The PCoA executed with the Bray-Curtis dissimilarity matrix revealed that only 11.8% of the variance was explained with the two first axes. However, the observed proportionality on the Shepard diagram between the ordination distances and the Bray-Curtis dissimilarities revealed that dissimilarity distances are relatively well represented with the two first axes of the PCoA (Appendix III.2). Under this latter condition, the spatial clusters coordinates (PCoA scores) on the two first axes can be reused to test the effect of external variables (see Hervé

2016). The two groups of spatial clusters defined by HAC were well separated on the two first axes of the PCoA (Figure III.3).

The non-parametric permutation test, performed to identify the effects of the mean percentage of the seven land uses around the sampling points, on the distribution of the clusters in the two dimensional space defined by the PCoA, revealed that the percentage of impervious areas had the strongest significance ($P\text{-value} < 0.001$). The mean percentage of forest, semi natural and artificial open spaces were also shown to have a significant effect on the distribution of the clusters in this PCoA space (Table III.2). Significant effects of these four land uses were also obtained after backward simplification by removing the non-significant variables. The results of these statistical test were represented by arrows in Figure III.3. Despite the strong significant effect of the percentage of impervious areas on the distribution of the spatial clusters, a high variability in plant community composition was shown among clusters sharing similar levels of impervious areas (Figure III.4)

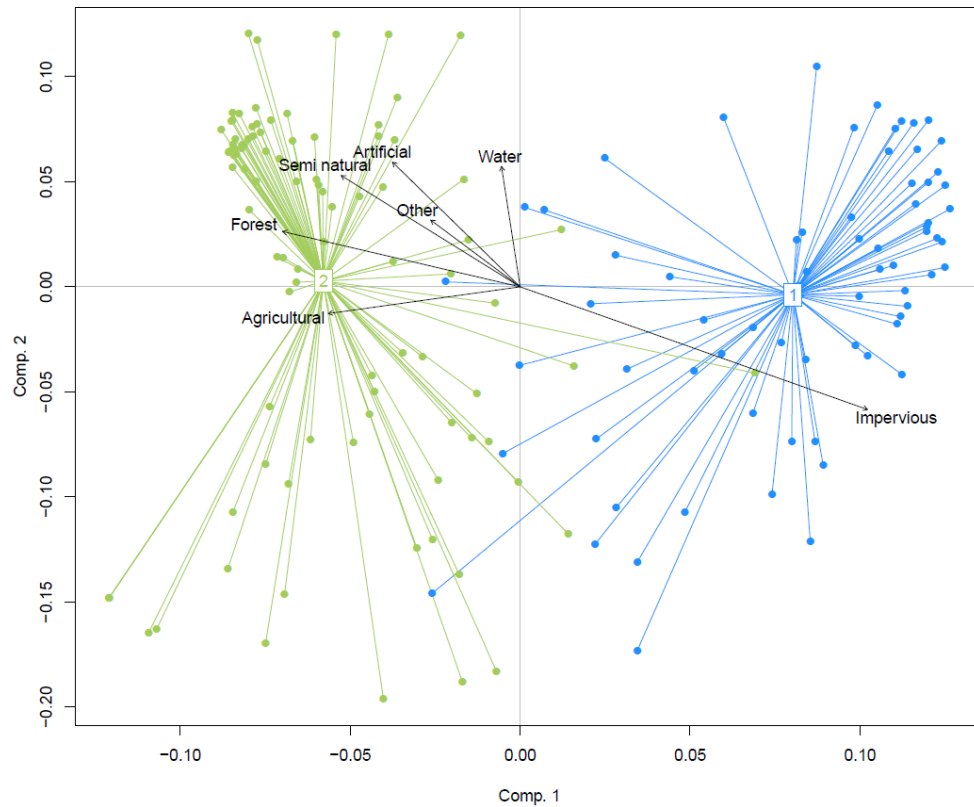


Figure III.3: Spatial clusters distribution in the two first axes of the PCoA ordination based on the Bray-Curtis dissimilarity matrix among these spatial clusters. The two groups of spatial clusters identified with the Hierarchical Ascendant Classification based on the same Bray-Curtis dissimilarity matrix are represented with blue and green dots. The two first axes explained 11.8% of the total variance. The arrows represent the effect of the mean proportion of every land use on the distribution of spatial clusters in the two dimensional space of the PCoA ordination.

Table III.2: Summary of the results from the model testing for the effect of the mean percentage of the seven land uses on the distribution of the clusters of sampling points in the two first PCoA scores. The PCoA was based on the Bray-Curtis dissimilarity matrix among the spatial clusters of sampling points. In this model, the percentage of the seven land uses were all included in the same model without the interactions.

Factors	R ²	P-value
Forest	0.042	0.026 *
Semi natural	0.042	0.022 *
Agricultural	0.025	0.121
Water	0.025	0.125
Artificial open spaces	0.037	0.041 *
Impervious	0.104	< 0.001 ***
Other	0.013	0.369

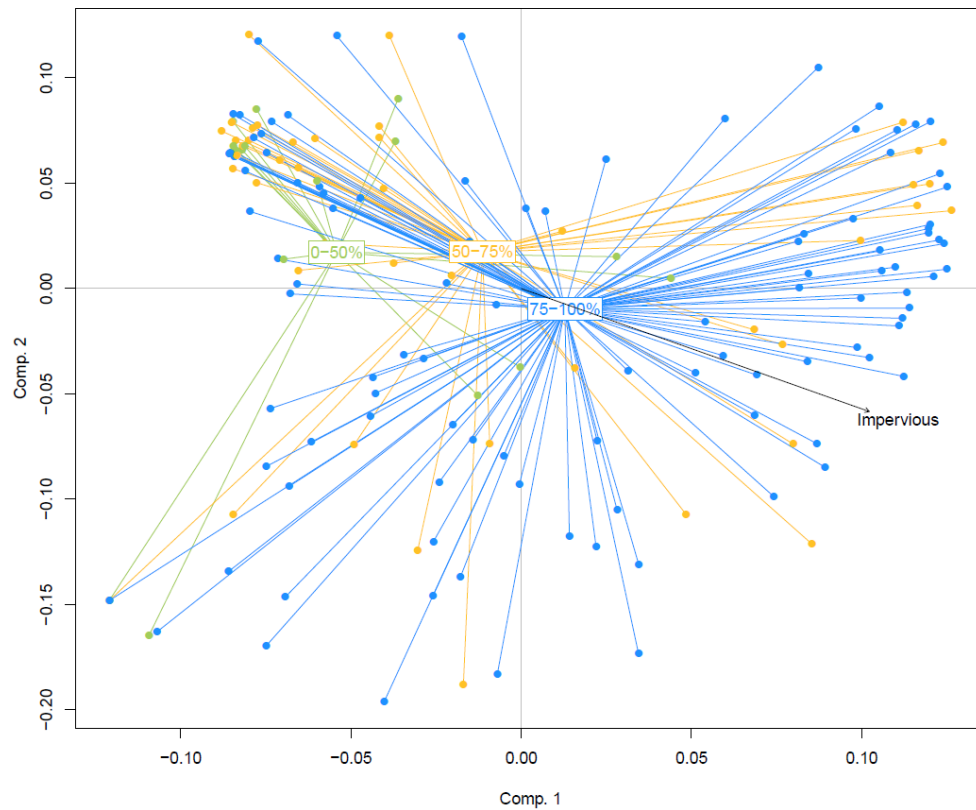


Figure III.4: Spatial clusters distribution in the two first axes of the PCoA ordination based on the Bray-Curtis dissimilarity matrix among these spatial clusters. The spatial clusters were grouped according to the mean percentage of impervious areas around the sampling points. Spatial clusters with mean percentage of impervious areas between 0 to 50%, 50 to 75% and 75 to 100 % are respectively represented by green, orange and blue dots. The arrow represents the effect of the mean proportion of impervious areas on the distribution of spatial clusters in the two dimensional space of the PCoA ordination.

Plant traits

Among the 21 traits examined, seven traits were shown to be significantly over or under-represented in plant communities present in highly urbanised vs. less urbanised environments (Table III.3). In addition, marginally significant results were obtained for three traits.

Urbanisation plays a role in the ecological affinities of plant species, by significantly promoting the occurrence of thermophilous plant species and negatively affecting the occurrence of plant species having affinities for humid atmospheres (P-value: 0.037) and soil conditions (marginally significant P-value: 0.092). Plant ecological strategies are also affected by urbanisation because plant communities thriving in highly urbanised areas include less competitive plants species (C-strategists) and more ruderal species (R-strategists) compared to plant communities associated with less urbanised areas (Figure III.5).

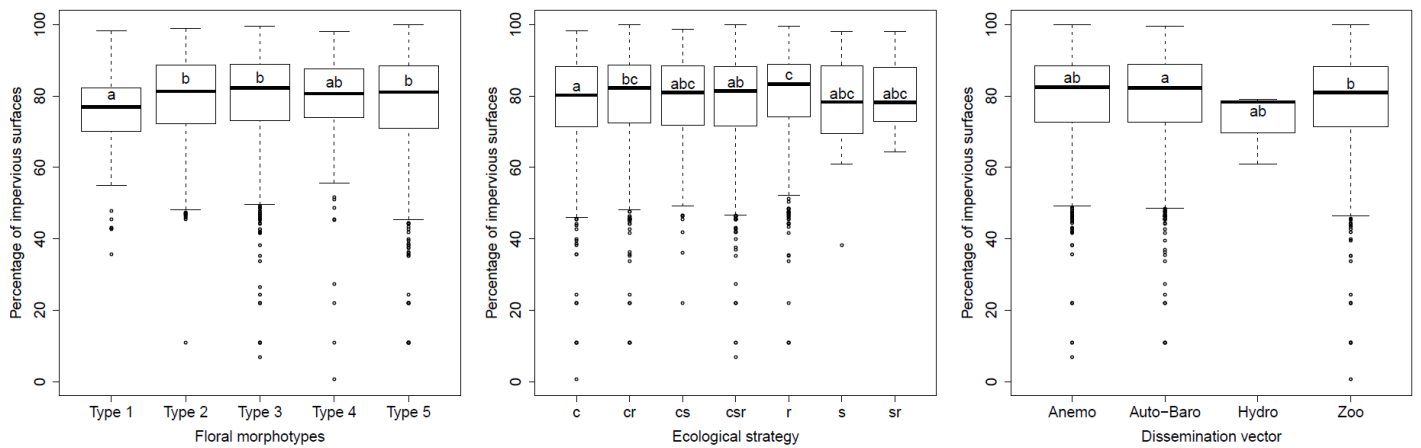


Figure III.5: Boxplots representing the relations between the mean percentage of impervious around the sampling points and the three multinomial variables: Floral morphotypes (left), Grime ecological strategy (middle) and dissemination vector (right). For each variable, the modalities sharing the same letters are not significantly different.

Table III.3: Summary of the results from statistical models testing for the effect of the mean percentage of impervious areas around the sampling points on the 21 plant traits.

Model	Plant trait	P-Value	Estimates
RML	Floral morphotypes	0.090 .	/
	Ecological strategy	0.004 ***	/
	Dissemination vector	0.177	/
CLMM	Type of reproduction	0.004 ***	- 0.007
	Level of self-compatibility	0.005 ***	0.010
	Level of autogamy	< 0.001 ***	0.011
	Level of entomophily	0.060 .	- 0.004
	Ellenberg for light	0.330	0.003
	Ellenberg for temperature	0.008 ***	0.008
	Ellenberg for continentality	0.177	- 0.004
	Ellenberg for atmospheric moisture	0.037 *	- 0.005
	Ellenberg for soil moisture	0.092 .	- 0.004
	Ellenberg for soil reaction	0.270	0.003
	Ellenberg for nitrogen	0.117	0.004
	Ellenberg for salt	0.712	0.001
	Affinity index for soil granulometry	0.212	0.003
	Affinity index for soil organic matter	0.341	- 0.002
GLMM Binomial	Presence or absence of tubular corollas	0.5698	0.002
	Presence or absence of nectar spur	0.15	0.011
GLMM Poisson	Begin of flowering	0.868	0.000
	End of flowering	0.043 *	0.001

Urbanisation also promotes species that reproduce by seeds at the expense of plants reproducing vegetatively. Furthermore, the reproductive traits that are strongly favoured by urbanisation are the self-compatibility (P-value: 0.005) and the autogamy (P-value: < 0.001). Associated to this latter result, we found a marginally significant negative effect of urbanisation on the level of entomophily of plants species (P-value: 0.060).

The flowering period of the plant species is also affected by urbanisation since plants having a longer flowering period, and a flowering period finishing later are more favoured in urban environments compared to more rural areas (P-value: 0.043). When the variable accounting for the CSR plant ecological strategies was included in the GLMM model together with the proportion of impervious areas in order to explain the flowering length, a significant effect of CSR strategy was detected (P-value: < 0.001) and the effect of impervious areas was removed (P-value: 0.283). A similar effect on the length of the flowering period was also obtained when the variable accounting for the level of autogamy was included in the model together with the proportion of impervious areas. Pairwise comparisons in both GLMM models revealed that the R-strategists had a significantly longer (and later) flowering period than the S-strategists and C-strategists, and that the “autogamous or facultative autogamous” had a significantly longer (and later) flowering period than the species with an “intermediate mating” system and the “allogamous or facultative allogamous” species. Furthermore, a Chi-squared independence test performed on the species trait data showed a significant correlation between the CSR strategy and the degree of autogamy. The R-strategists were more frequently composed of “autogamous or facultative autogamous” species, C-strategists were more frequently composed of “allogamous or facultative allogamous” and S-strategists were more frequently composed of species with “intermediate mating” systems.

Regarding the traits related to floral morphology, only the distribution of floral morphotypes was marginally affected by the level of urbanisation (Table III.3, Figure III.5). The floral morphotype 1, and to a lesser extent morphotype 4, are under-represented in urban areas compared to rural areas (Figure III.5). When types 1 and 4, and type 2 and 3 are respectively merged in single categories, the level of significativity is slightly improved (P-value: 0.060).

Discussion

In the present study, we showed that the changes in the proportion of impervious areas in a radius of 500 m around sampling points is likely to be the principal land use change responsible for the plant community structuration in the Île-de-France region (Table III.2, Figure III.3). Indeed, the analyses performed on the Bray-Curtis dissimilarity matrix calculated on plant species occurrence in the spatial clusters of sampling points demonstrated that spatial clusters sharing similar levels of mean percentage of impervious areas are also sharing a higher proportion of common plant species.

In addition, we showed that a high level of urbanisation in a radius of 500 m acts as a selective filter towards plant species according to their ecological affinities (thermophilous species and species tolerant to drought conditions), breeding system (autogamous and self-compatible plant species), floral morphology (morphotypes 2, 3 or 5) and flowering time (late-flowering species).

Urbanisation and abiotic ecological conditions

The relationship between urbanisation and the ecological affinity indices found here is consistent with the recent synthesis of Williams et al. (2015). The higher frequency of thermophilous species in urban environments is found in several studies and has already been identified long ago (Pyšek 1998; Williams et al. 2015). Big cities are often associated with higher temperatures compared to adjacent rural areas due to the Urban Heat Island (UHI), as already evidenced in Paris (Desplat et al. 2013). The thriving of thermophilous species in cities can be partially explained by the colonization of these urban areas by alien plant species originating from warmer regions (*e.g.* archaeophytes from Mediterranean regions; Pyšek 1998). Bechtel and Schmidt (2011) in the city of Hamburg demonstrated a high correlation between the spatial distribution of mean Ellenberg indicator values for the temperature affinity of plants species and the measured mean decadal UHI intensity. The authors suggested that the “Floristic heat island pattern” can even hold as a good predictor of the identification of the spatial distribution of long-term UHI in cities (Bechtel and Schmidt 2011).

Based on the analyses of Ellenberg indicator for atmospheric and soil moisture, our results suggest that urban areas are not only warmer but also drier than surrounding rural areas, as already shown from the comparison of soil water content in urban and rural areas around Montpellier (France) (Lambrecht et al. 2016). Our results are also consistent with other studies, showing that urban areas promote plant or insect species with positive affinity to dry

environments (Skibinska 1986; Williams et al. 2015). In addition, the urban sprawl could have been realized at the expense of wetlands or fens, and consequently have led to the loss of species adapted to wet habitats (Stehlik et al. 2007).

Despite the non-significant effect of the Ellenberg indicator for nitrogen, we observed nevertheless a tendency for an increase in nitrophilous plant species together with the proportion of impervious areas, also found previously (see the synthesis of Williams et al. 2015). In Rennes (France), Pellissier et al. (2008) found in addition a higher soil nitrate concentration and lower ammonium concentration with urbanisation, which can be due to atmospheric pollutants depositions (*e.g.* fossil fuel combustion) and higher nitrification rates (transformation of ammonium in nitrate), probably due to increased temperatures in urban environments. The same study also showed a dominance in R plant strategists in urban areas, and a dominance of C plant strategists in periurban or suburban areas, which is in total agreement with our results. This is not totally surprising since Grime (1974) described R-strategists as tolerant to disturbances damaging the vegetation (*e.g.* grazing, mowing, trampling, ploughing), often occurring in urban areas. However, the distinction between R-strategists and S-strategists (tolerant to continuous and severe stresses inhibiting the plants development such as nutrient deficiencies, shading, desiccation) is sometimes difficult. Indeed certain environmental factors, such as drought, that were shown to be more pronounced in urban areas than in rural areas (Lambrecht et al. 2016), can induce both stress and disturbances and can account for the intermediate answers of the S-strategists to urbanisation.

Urbanisation and plant reproduction

In the present study, we showed that the flowering period of plants species was longer and ended later in average in urban communities compared to more rural communities. The potential causes of changes in flowering phenology between urban and rural environments are multifactorial and includes abiotic and biotic components, taken alone or in interaction, and is highly dependent upon the studied species and the urbanisation gradient (Roetzer et al. 2000, Neil and Wu 2006). In many studies, advanced flowering is generally found in urban areas compared to rural environments (*e.g.* Roetzer et al. 2000; but see Lambrecht et al. 2016). This can be explained by the higher temperatures experienced by plants in urban environments (Urban Heat Island) compared to rural areas (see the review of Neil and Wu 2006). Since urbanisation gradients are not only associated to a temperature increase but rather to a syndrome of environmental changes (Donihue and Lambert 2014; Johnson et al. 2015), it is difficult to exclude the influence on flowering phenology of other factors such as increased water stress or

pollution. Though not specifically focused on an urban-rural gradient, Franks et al. (2007) showed that summer droughts are selecting for early flowering in the annual plant *Brassica rapa*. The analysis of changes in flowering time in more than 380 species over a period of 47 years Fitter and Fitter (2002), evidenced a significantly earlier flowering probably due to a climate warming in the studied region, with nevertheless a high variability among species. According to Neil and Wu (2006), the higher level of light pollution, the higher concentrations in CO₂, the higher concentrations in volatile organic compounds (VOC), and the decreased UV-B exposure due to pollution in cities are probable factors influencing flowering phenology but still understudied.

Our results suggest that species with a long and late flowering period would be better adapted to highly urbanised areas than to less urbanised areas. However, it is also possible that long and late flowering species were only indirectly selected in urban areas by hitch-hiking along with other plant characteristics under direct selection in these areas, as suggested by GLMM analyses of the length of the flowering period. These analyses revealed that the length of the flowering period was more related to the CSR strategy and to the degree of autogamy than to the proportion of impervious areas. The significantly longer (and later) flowering period of R-strategists compared to S-strategists and C-strategists was also recently shown by Novakovskiy et al. (2016). Furthermore, the observed interdependence between the CSR strategy and the degree of autogamy, with R-strategists being more frequently autogamous or facultative autogamous species is probably one of the traits contributing to the advantage of R-strategists in urban areas over the C and S-strategists.

We pointed out an increase in the frequency of “autonomous or facultative autonomous species” and logically an increase in self-compatible species with increasing urbanisation, as we had hypothesized. Since an increased level of autonomous selfing is thought to be selected in populations suffering from severe pollen limitation (Eckert et al. 2009) as a mean to ensure reproduction, our results suggest that urban plant communities are more subject to pollen limitation than the rural plant communities. Pollen limitation can be due to various causes, such as reduced pollen availability (*e.g.* small number of plants in the population), inefficient pollen transport (*e.g.* low pollinator abundance in the area, few pollinator visits to the studied plants) or fewer pollen grains accessing the ovules (*e.g.* limited pollen grain germinations, pollen-tube attritions due to self-incompatibility mechanisms, cool temperatures) (Harder and Aizen 2010). Entomophilous plants were less frequent in urban areas than in more rural areas, as already shown in Germany (Knapp et al. 2008) (but see Williams et al. 2015). This probably indicates a reduced pollinator abundance and consequently insufficient pollination for most plant species

growing in urbanised areas of our study region. This interpretation is consistent with the observations conducted in the same region, showing a decrease in wild bee abundance and richness, and a decreased number of plant-pollinator interactions with increasing percentage of impervious areas (Geslin et al. 2013, 2016). A similar decrease in pollinator abundance was observed along an urbanisation gradient in the city of Lyon (France) (Fortel et al. 2014). Interestingly, Pellissier et al. (2012) evidenced a decreased production of fruits in urban study sites compared to peri-urban sites in a study involving experimental plantations of *Lotus corniculatus* in the Île-de-France region.

The frequency of floral morphotypes observations show that morphotype 1 and to a lesser extent morphotype 4 are under-represented in urban areas, suggesting an asymmetrical functional loss of pollinators in urbanised areas compared to less urbanised areas. Morphotypes 1 and 4 are defined by long corolla tubes ($> 1\text{cm}$), and are both pollinated by pollinator type 1 and 2 (Figure III.2). The floral morphotype 1 is the more specialized morphotype of the five defined types and is pollinated by the generalist pollinator types 1 and 2, thus reflecting a nested structure common to most plant-pollinator networks (Bascompte et al. 2003). The abundance decrease in type 1 pollinators (like small solitary bees) and/or type 2 pollinators (large-bodied and long-tongued pollinators) with urbanisation could be responsible for the observed frequency decrease of this floral type. In the Île-de-France region, a decrease in the abundance of small-bodied bees (Halictini tribe) and a relative tolerance to urbanisation of large-bodied bees has been shown (Geslin et al. 2016). In fact, small bodied pollinators are often ground nesting bees, known to be more sensitive to urbanisation because of higher soil disturbances and reduced nesting opportunities due to higher proportions of sealed soils. Moreover, small bodied pollinators usually have limited flight capacities (Gathmann and Tschardt 2002; Greenleaf et al. 2007) making them prone to extinction in the highly fragmented urban landscapes. In the region of Lyon, Fortel et al. (2014) showed that long-tongued bees were more abundant in urbanised areas than in rural areas. Two explanations account for this result: long-tongued bees have a greater foraging flexibility by the possibility to visit short and long corolla, and certain long tongued bees (*e.g.* Megachilidae) are able to nest in above-ground anthropogenic cavities (*e.g.* walls, insect hostels). This suggests that type 1 pollinators are more likely to be lost in urban areas than type 2 pollinators. As a consequence, the loss of type 1 pollinators could have particularly impacted the reproduction of floral morphotype 1 since the other floral types are more generalist and can still be pollinated by the other pollinator types.

Overall, our results revealed that urbanisation is strongly affecting the spontaneous plant communities growing in the streets of the Île-de-France region. The analyses of the frequency

of species ecological affinities and species reproductive traits along the urbanisation gradient informed us about the ecological factors underlying these plant community changes. Specifically, our results suggest that highly urbanised areas are selecting plant species adapted to warmer and drier climatic conditions compared to less urbanised areas. The over-representation of autogamous and self-compatible species suggest a decreasing abundance of pollinators as urbanisation increases. In addition, the observation of the altered distribution of floral morphotypes along the urbanisation gradient indicates that functional groups of pollinators are not equally affected by urbanisation. This latter point emphasizes the need of future studies to investigate and analyse functional relationships between plant and pollinators along urbanisation gradients. The morphotype classification that we elaborated in the present study can provide a good framework to further investigate functional relationships between plants and pollinators in future studies. Our results should nevertheless be interpreted with caution, since the study of altered distribution of plant traits only provide indirect evidences of abiotic and biotic changes, calling for in-situ complementary observations. However we believe that these approaches, particularly if traits or ecological indicators are mapped (see Bechtel and Schmidt 2011) have the potential to detect efficiently ecological trends and could help to rapidly identify areas of high disturbances (for instance mapping of R-strategists, floral morphotypes). If complemented with in-situ measurements, this approach could eventually lead concertation processes with local actors and may finally lead to restoration measure proposals.

Acknowledgements

This study was financially supported by the Mairie de Paris. The authors would like to thank the “Sauvages de ma rue” participants who have contributed to the data collection. We also thank the members of the Muséum national d’Histoire naturelle (MNHN) and the members of the Tela Botanica association to have initiated this scientific and pedagogic project and continue to animate it. Many thanks to the Institut d’Aménagement et d’Urbanisme de la région Île-de-France for providing us the GIS maps.

Appendices chapter III

Appendix III.1: Dendrogram issued from the Hierarchical Ascendant Classification on Bray-Curtis dissimilarity matrix among spatial clusters.

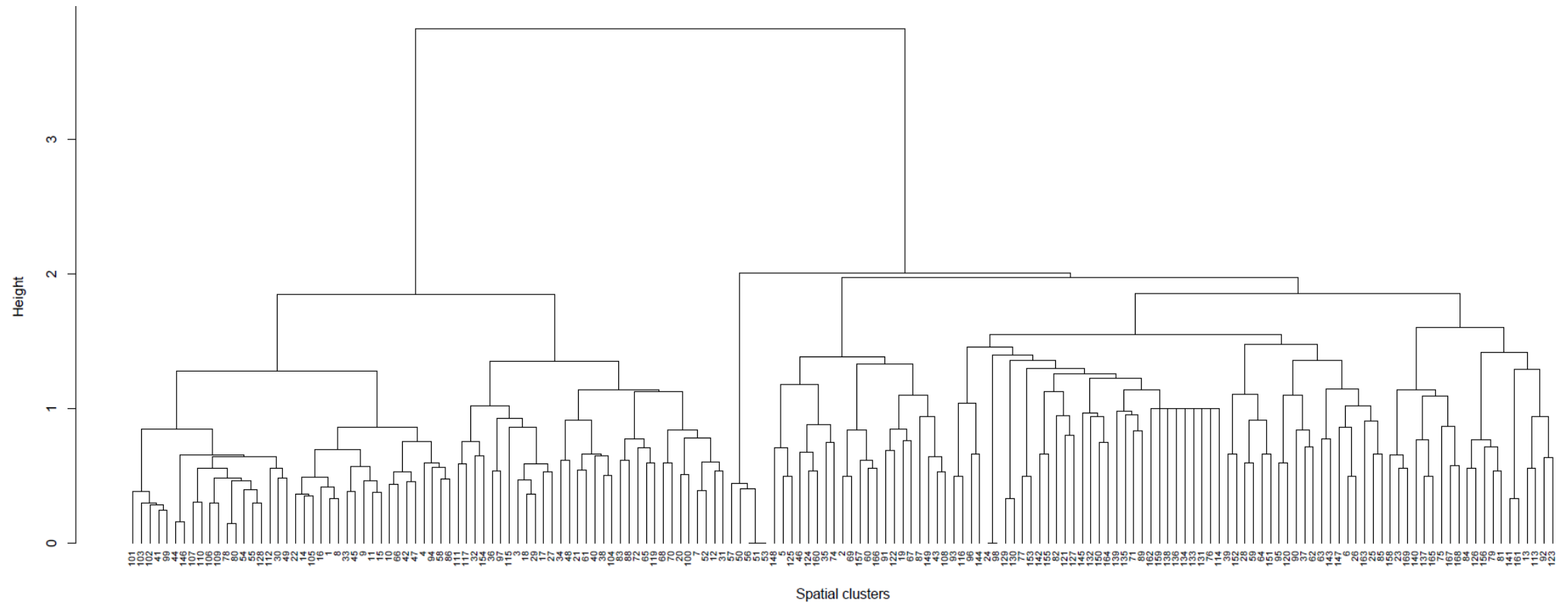


Figure III.6 : Dendrogram issued from the Hierarchical Ascendant Classification, the ward aggregation method and performed on Bray-Curtis dissimilarity matrix among spatial clusters.

Appendix III.2: Shepard diagram between the Bray-Curtis dissimilarity matrix among spatial clusters and the PCoA ordination.

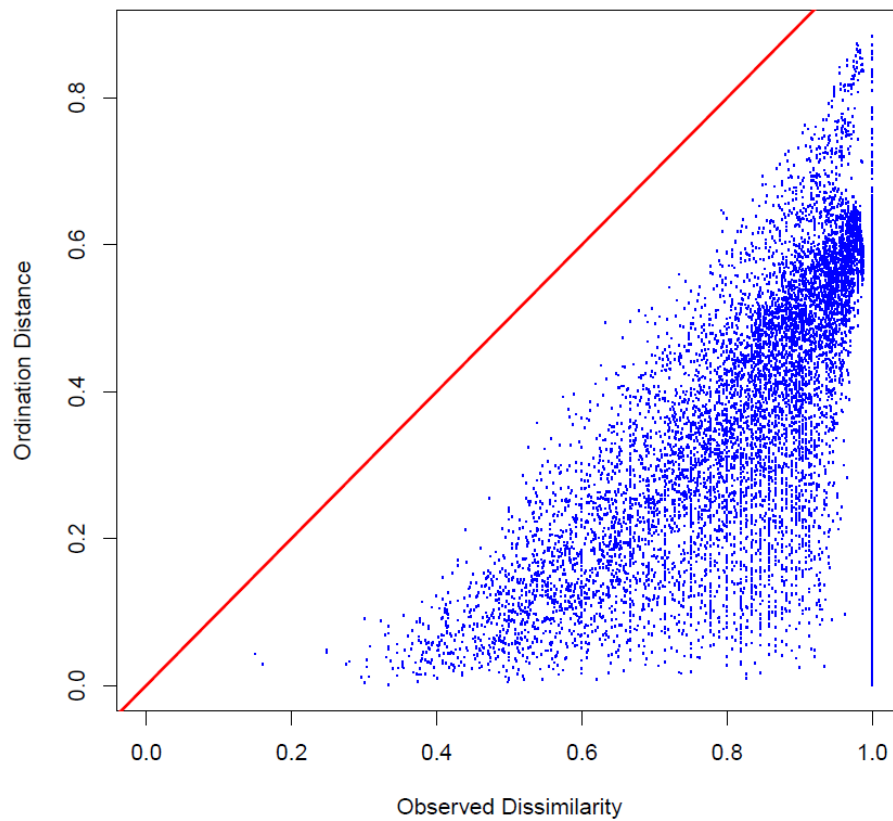


Figure III.7 : Shepard diagram showing the relationship between the observed distances among the spatial clusters based on the Bray-Curtis dissimilarity matrix and the distances among spatial clusters after projection in the two first axes of the PCoA ordination.



L'article présenté dans ce chapitre a été accepté le 18 Septembre 2017 dans la revue *Genetica*, 145(6), 513-523.

Toutes les références bibliographiques associées à cet article sont incluses dans la liste des références en fin de thèse.

The final publication is available at Springer via <http://dx.doi.org/10.1007/s10709-017-9993-7>

Title: Buzz in Paris: Flower production and plant-pollinator interactions in plants from contrasted urban and rural origins

James Desaegher^{1*}, Sophie Nadot¹, Isabelle Dajoz^{2,3}, Bruno Colas^{1,3}

Affiliation of authors:

¹ Ecologie Systématique Evolution, Université Paris-Sud, UMR 8079, CNRS, AgroParisTech, Université Paris-Saclay, 91400 Orsay, France,

² UPMC Paris 6 – iEES Paris, UMR CNRS 7618, Site de Jussieu, Paris, France,

³ Université Paris-Diderot, Sorbonne Paris-Cité, Paris, France

*corresponding author: jamesdesaegher@gmail.com, Bâtiment 360, rue du Doyen André Guinier, 91405 Orsay CEDEX

Abstract

Urbanisation, associated with habitat fragmentation, affects pollinator communities and insect foraging behaviour. These biotic changes are likely to select for modified traits in insect-pollinated plants from urban populations compared to rural populations.

To test this hypothesis, we conducted an experiment involving four plant species commonly found in both urban and rural landscapes of the Île-de-France region (France): *Cymbalaria muralis*, *Geranium robertianum*, *Geum urbanum* and *Prunella vulgaris*. The four species were grown in four urban and four rural experimental sites in 2015. For each species and each experimental site, plants were grown from seeds collected in five urban and five rural locations. During flowering, we observed flower production and insect-flower interactions during 14 weeks and tested for the effects of experimental site location and plant origin on flower production and on the number of floral visits.

The study species had various flower morphology and hence were visited by different floral visitors. The effect of experimental sites and seed origin also varied among study species. We found that (i) insect visits on *P. vulgaris* were more frequent in rural than in urban sites; (ii) for *C. muralis*, the slope relating the number of pollinator visits to the number of flowers per individual was steeper in urban *versus* rural sites, suggesting a greater benefit in allocating resources to flower production in urban conditions; (iii) as a likely consequence, *C. muralis* tended to produce more flowers in plants from urban *versus* rural origin.

Keywords: plant-pollinator interactions; urbanisation; fragmentation; floral display; divergent selection.

Introduction

Worldwide, the percentage of total human population residing in urban areas has increased from 30 % in 1950 to more than 50% nowadays (United Nations 2014). The urban sprawl resulting from urban population increase is further amplified by urban development policies, so that urban areas are on average growing twice as fast as urban population (Seto et al. 2013). For example, in France, Clanché and Rascol (2011) recorded between 1999 and 2010 a 19% increase of the total urban surface, defined as the sum of built areas (including parks and gardens) inhabited by at least 2000 people and without interruption on more than 200 m. In 2010, urban areas represented nearly 22% of the French metropolitan territory. An extreme outcome of urbanisation is the emergence of megacities that gather more than 10 million inhabitants. The Parisian agglomeration is one of the three European megacities, with Moscow and London, and one of the 29 world megacities (Kotkin et al. 2014). In France, these extremely anthropized environments are spreading at the expense of agricultural land, forests and other semi-natural habitats (Pageaud 2010). In many parts of the world, this growth can be at the expense of areas with high concentration of endemic species and has resulted in defining these areas as biodiversity hotspots (Seto et al. 2012).

Urban ecologists have characterized a syndrome of biotic and abiotic environmental changes along urbanisation gradients (Johnson et al. 2015). Most studies focusing on plants and their pollinator communities report negative effects of urban areas on plant-pollinators interactions (see for example Deguines et al. 2012; Geslin et al. 2013). Nevertheless, the effect of urbanisation on plant and animal diversity depends on the taxonomic group, on the spatial scale considered and on the intensity of urbanisation (McKinney 2008; Fortel et al. 2014) and some cities even harbour an abundant pollinating fauna (Matteson et al. 2009; Matteson and Langellotto 2009; Potter and LeBuhn 2015). Management strategies of urban green spaces and gardens also play a key role in pollinator conservation (Threlfall et al. 2015). In the same way, plant communities appear to be related to green space management practices, such as access to the public, mowing frequency and pesticide use (Politi Bertoncini et al. 2012).

Variation in the frequency of plant-pollinator and/or plant-herbivore interactions can lead to rapid adaptive evolution of floral display and differentiation among plant populations, as shown experimentally by Agren et al. (2013) in *Primula farinosa*. Although the pollinating fauna can be abundant in urban environments, a functional community shift (compared to non-urban environments) was identified toward generalist flower visitors, at the expense of floral specialists (Hernandez 2009; Deguines et al. 2016). This pollinator community shift can affect

plant reproductive success and may lead to the evolution of floral traits differentiating urban plant populations from other populations living in nearby rural habitats. In Paris, an over representation of pollinators harbouring long mouthparts and specialized on tubular flowers was shown to confer an advantage to plant species with tubular over open flowers (Geslin et al. 2013). Urban fragmented landscapes were also shown to affect individual pollinator foraging behaviour visiting *Crepis sancta* plants, with a longer visiting time spent on each capitulum (Andrieu et al. 2009). This suggests that city-dwelling pollinators are more likely to fully exploit floral resources in order to offset the energy cost of longer flight distances due to habitat fragmentation (Andrieu et al. 2009; Harrison and Winfree 2015). As to pollinator community shifts, the difference in their foraging behaviour between highly fragmented and less fragmented habitats can affect plant fitness and lead to the evolution of floral traits (Andrieu et al. 2009). Indeed, there is evidence of phenotypic evolutionary changes in plants facing urbanisation. A study conducted by Brys and Jacquemyn (2012) on *Centaurea erythraea* showed that plants originating from pollinator-limited environments (industrialized area) presented a reduction in the number and size of flowers, in herkogamy, and in pollen to ovule ratios, compared to plants originating from pollinator-rich environments (coastal dunes). These traits favour autonomous selfing and thus represent a reproductive assurance when pollinators are scarce (Brys and Jacquemyn 2012).

Pollen limitation may occur because of decreased mate availability (number of pollen donors) or because of a lack of pollinators. It has been argued that depending on the cause of pollen limitation, the evolutionary outcomes of plant mating systems could be contrasted (Eckert et al. 2009). Under low mate availability (i.e., low proportion of conspecific pollen) and scarce pollinator visits, selection in a self-compatible plant species is expected to favour individuals with a high autonomous selfing capacity and can be associated with lower flower attractiveness to pollinators. On the contrary, high mate availability and scarce pollinator visits should select for higher investment in attractive structures for the remaining pollinators, because of increased intraspecific competition for pollinator visits, resulting in higher fitness for more attractive individuals (Eckert et al. 2009).

So far, little attention has been paid to the effect of urbanisation, its associated pollinator functional community and individual foraging behaviour, on the evolution of plant floral traits (Devaux et al. 2014; Johnson et al. 2015). There is also a clear lack of studies using experimental approaches to compare plant traits from populations of disturbed and undisturbed environments, in order to assess to what extent human disturbances affect the evolution of flower traits and reproductive systems (Eckert et al. 2009).

Here we conducted a reciprocal transplantation experiment between urban and rural environments involving four plant species commonly found in the Île-de-France region, where semi-natural habitats relatively devoid of urban influences are surrounding the city of Paris. For each species, plants grown from seeds collected in five urban and five rural natural populations were transplanted in four urban and four rural common gardens. To detect differentiation between urban and rural origins on floral display and attractiveness, we recorded flower production and pollinator visits on the four species in the eight common gardens.

We specifically addressed the following questions. (i) How does the frequency of pollinator visits vary between rural and urban experimental sites? (ii) Does the frequency of pollinator visits vary between rural and urban origins of the plants? (iii) Does flower production vary between rural and urban origins? We then relate possible differences in flower production between origins to differences in pollinator abundance, and discuss the evolution of floral display in contrasted rural and urban environments.

Material and methods

Set up of experimental plant communities

The study plant species were *Cymbalaria muralis* P.Gaertn., B.Mey. & Scherb. (Plantaginaceae), *Geranium robertianum* L. (Geraniaceae), *Geum urbanum* L. (Rosaceae), and *Prunella vulgaris* L. (Lamiaceae). These species were chosen because they are commonly found in the Île-de-France region in both rural and urban habitats. Besides, their contrasted corolla colour, symmetry and size potentially attract insect visitors with various mouthpart characteristics. For each species, seeds from five rural and five urban populations were collected during summer 2014 (Appendix IV.1). In January and February 2015, seeds were germinated in a greenhouse. When *G. urbanum* and *P. vulgaris* individuals were at the 2-leaf stage, plantlets were vernalized during five weeks at 3°C (following Chouard 1960; Chouard and Tran Thanh Van 1962). In May 2015, they were transplanted in four urban experimental sites in Paris *intra-muros* and four rural experimental sites in the Île-de-France region. Location of the four rural experimental sites was as follows: CEREEP-Ecotron IleDeFrance (48°16'54.84"N; 2°39'58.88"E), Campus Orsay (48°42'16.07"N; 2°10'11.11"E), PNR Chevreuse (48°44'17.47"N; 2°1'7.32"E), INRA Versailles (48°48'20.83"N; 2°5'5.58"E). The four urban experimental sites were as follows: the community garden (VerTêtu) (48°53'42.50"N; 2°22'37.65"E), the park “Bercy” (48°50'10.42"N; 2°22'56.26"E), the Cité Internationale Universitaire de Paris (Cité U) (48°49'10.94"N; 2°20'17.93"E) and the Jardin

Ecologique of the Muséum national d'Histoire naturelle (MNHN) (48°50'38.10"N; 2°21'41.05"E). These sites were chosen for commodity reasons (possible access, ability to obtain authorization) and to allow visitation rate comparisons with Geslin et al. (2013) since 5 sites out of 8 were common or very close in both studies.

In each experimental site, 80 plantlets (4 species x 10 populations x 2 replicates) were transplanted in four patches of 20 plants. Two patches contained plants from urban populations and the two other patches contained plants from rural populations. Thus, each experimental patch contained one individual of the four species from the five different populations of either rural or urban environments. Patches were rectangles of 1.5 x 1.2 m separated by approximately one metre from one another. Patches containing plants of the same origin (urban or rural) were diagonally disposed. Within each patch, plants were spaced by 30 cm and randomized. Plants were weekly watered throughout the whole experiment. For clarity, hereafter the term “landscape context” refers to the urban versus rural origin of seeds or experimental sites.

Land use characteristics of the locations of seed collection and of experimental sites

Land use patterns around the locations of seed collection and experimental sites were evaluated by using Quantum GIS version 2.8 (QGIS Development Team 2015). We used a 1/5000 Geographic Information System map, reporting 11 land-use categories over the Île-de-France region (Institut d'Aménagement et d'Urbanisme, 2012). We chose to keep as they were the following six categories: 1) forest; 2) semi-natural area; 3) agricultural land; 4) water; 5) artificial open space; 6) quarries, dumps and worksites. The remaining five categories (individual housing, group housing, business parks, facilities and transportation infrastructures) were all merged into a single seventh category called “impervious areas” (see <http://www.iau-idf.fr/> for more details on the initial categories). We performed a Principal Component Analysis (PCA) with the proportion of the seven land use categories within a 1000-m radius buffer centered on the sites of seed origins (Appendix IV.1). A marked differentiation in landscape context was observed between urban and rural seed origins (Appendix IV.1). In 95% of cases, urban sites comprised more than 75% of impervious areas, and in all cases, rural sites comprised less than 45% of impervious areas and more than 30% of agricultural, forest and semi-natural habitats.

Plant and flower visiting insect observations

During the flowering period, from 18 May to 22 August 2015 (14 weeks), all experimental sites were studied once a week. Every week in every site we counted the number of open flowers per plant individual per species. The number of flower buds and developing fruits of *C. muralis*, *G. robertianum*, and *G. urbanum* were also counted. For *P. vulgaris*, the number of developing inflorescences (with flower buds only) and the number of mature infructescences (with all flowers wilted) were counted.

Every week in every cultivation site, insects were observed during 10 minutes per patch. As far as possible insects were observed between 9 am and 18 pm on sunny days, alternating between morning and afternoon. Floral visitors were classified in 12 categories (based on the classification established by Geslin et al. (2013)). The categories were: 1) small bees (<1 cm, mostly solitary), 2) large solitary bees (> 1cm) (superfamily Apoidea excluding the *Bombus* genus and *Apis mellifera*), 3) honeybees (*Apis mellifera*), 4) bumblebees (*Bombus* genus), 5) other Hymenoptera, 6) Lepidoptera, 7) hoverflies (Syrphidae), 8) Bombyliidae, 9) other Diptera, 10) Coleoptera, 11) other visitors, 12) unknown. For each individual plant, the total number of floral visits (a flower can be visited multiple times) was recorded for each insect category.

Statistical analysis

Variation in the number of floral visits per plant and the number of flowers per plant, over the course of the experiment and among the eight experimental sites, was analysed using mixed generalized linear models (Bolker et al. 2009) using R 3.3.1 software (R Core Team 2016) and the lme4 package (Bates et al. 2016). Since the response variables were count data, we expected to use the Poisson distribution in our analyses, but overdispersion of data was detected. Thus, based on the analyses of the dispersion plots, on the normality and homoscedasticity of residual plots (Zuur et al. 2010), we chose to use the negative binomial distribution (glmer.nb function). To achieve a better convergence of the GLMM algorithms we used the optimizer based on Bound Optimization BY Quadratic Approximation (BOBYQA).

The effect of the landscape context was evaluated by analysing the fixed effects of the binomial variable “urban versus rural” for both the experimental sites (abbreviated as “S” in Table IV.1) and the origin of seeds (abbreviated as “O”) on the number of insect interactions and the number of open flowers per plant (abbreviated as “F”). To take into account the variation among experimental sites and among original populations, we added the identity of

each experimental site, and the identity of each original population in the models. We respectively nested them within the experimental landscape context (urban *versus* rural, abbreviated as “S”) and original landscape context (urban *versus* rural, abbreviated as “O”). We also included as a random effect the week of observation.

To further analyse the variation in the number of floral visits, we included in the model the number of open flowers per plant as a fixed effect. To achieve model convergence, the explanatory variable accounting for the number of open flowers was reduced but not centered. This procedure was not performed when this variable was included as the response variable (see above). Each model was simplified by backward selection by removing all non-significant interactions and then simple effects. Significance of fixed effects and their interactions was tested by using type III Wald Chi-square tests.

Results

General overview of floral visits

A total of 14 637 floral visits were recorded on the four plant species and the eight experimental sites during the 14 weeks of observation, with 40 minutes of observation per experimental site and per week. Respectively 11 480, 2 928, 217 and 12 floral visits were observed on *P. vulgaris*, *C. muralis*, *G. urbanum* and *G. robertianum*. Since *G. robertianum* did not bloom correctly (16 out of 160 plants) during summer 2015 and thus had almost no visitation over the course of the experiment, the species was excluded from the analyses.

Floral visits according to plant species

The three plant species that flowered during summer 2015 were visited by all 12 insect categories in various proportions (Figure IV.1). If we consider the total number of floral visits for each insect category, *C. muralis* was mainly visited by small bees (48.2 % of floral visits) and bumblebees (29.6 %). The vast majority of visits on *P. vulgaris* flowers were performed by bumblebees (86.2 %). The two main insect categories visiting *G. urbanum* were small bees (42.4 %) and hoverflies (24.4 %).

If we now consider the number of times each plant was visited at least once by an insect category during 10 min for the 14 weeks of observation, the main differences with the aforementioned results involved bumblebee visits on *P. vulgaris*, and to a lesser extent on *C. muralis*. For these two species, respectively 51.1 % and 12.3 % of plants were visited by bumblebees. This decrease in the percentage of bumblebee visitations translated into an

increased visitation percentage of hoverflies (9.7 % of visits) for *C. muralis*, and of hoverflies and small bees (respectively 16.9 % and 19.2 % of visits) for *P. vulgaris*. Only slight differences in percentage between both analyses were observed for *G. urbanum*.

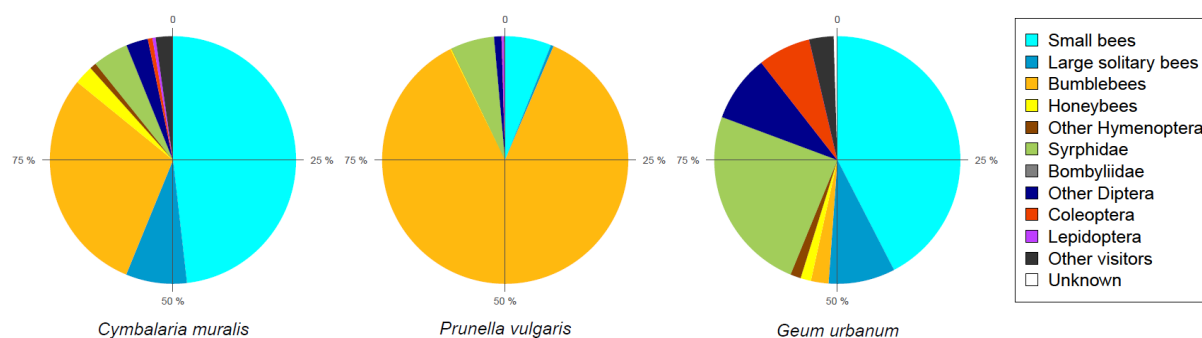


Figure IV.1 : Mean visitation proportion of the 12 visitor categories, based on the number of interactions with the flowers of the three study plant species during 14 weeks of observation.

Impacts of the landscape contexts on floral display size

The effect of landscape context (urban *versus* rural) of seed origin and of experimental sites on the number of flowers is summarized in Table IV.1a. For *C. muralis* and *P. vulgaris*, the number of flowers per individual was significantly higher in rural experimental sites than in urban ones. For *G. urbanum*, the difference was marginally significant (P-value = 0.0521) after backward selection by removing the non-significant interactions and then seed origin factor (Appendix IV.2).

Table IV.1 : Results from GLMM analyses (a) on the number of flowers, (b) on the number of floral visits with “O” and “S” as fixed factors, (c) on the number of floral visits with “O”, “S” and “F” as fixed factors. The factors “O” and “S” stand respectively for the landscape context (urban versus rural) of the origin of seeds, and the experimental sites. The factor “F” stand for the number of open flowers per plant. In all three models, the week of observations, the populations from which seeds were issued, and the experimental sites were included as random factors. P-values are shown and the level of significance is indicated by asterisks as follows: *, P<0.05; **, P<0.01; ***, P<0.001.

	Answer variables	Fixed factors	<i>C. muralis</i>	<i>P. vulgaris</i>	<i>G. urbanum</i>
a)	Flower number (F)	O	0.8711	0.7889	0.2576
		S	0.0050 **	< 0.001 ***	0.0376 *
		O x S	< 0.001 ***	0.6685	0.3762
b)	Total visits	O	0.1002	0.1245	0.2058
		S	0.9804	< 0.001 ***	0.7634
		O x S	0.3989	0.0047 **	0.9114
c)	Total visits	O	0.0069 **	0.0172 *	0.4112
		S	0.4704	0.0071 **	0.7551
		F	< 0.001 ***	< 0.001 ***	< 0.001 ***
		O x S	0.0220 *	0.0572	0.6110
		O x F	0.0807	0.1907	0.3947
		S x F	< 0.001 ***	0.8009	0.2202

For all three plant species, no significant independent effect of the landscape context of seed origins on the number of flowers could be detected. Nevertheless, for *C. muralis* a significant interaction was detected between the landscape context of seed origins and of experimental sites (Table IV.1a). For six out of eight experimental sites, plants from urban seeds tended to have more flowers than plants from rural seeds. The opposite was observed for two rural experimental sites (CEREPEP and PNR), accounting for the significant interaction. Interestingly when the landscape context binomial variable “urban *versus* rural” of experimental sites was replaced in the model by a variable indicating every experimental site (8 locations), a significant effect of the landscape context of seed origins was detected on the number of *C. muralis* flowers (P-value = 0.039).

For the three study plant species, a high variability was detected among the five urban and five rural original populations in the production of flowers (Figure IV.2, for details on population location see Appendix IV.1). Contrary to *P. vulgaris* and *G. urbanum*, in *C. muralis* there was a tendency to produce more flowers for plants issued from seeds collected in urban populations compared to rural ones. It is interesting to note that the *C. muralis* rural population “R5” (having the highest flower production among rural origins) presented 30 % of impervious areas in a 1000-m radius buffer making it the most urbanised location among our five rural origins of seeds.

In *C. muralis*, in addition to the variability of flower production among the landscape context of experimental sites, the variability among populations explains the non-significant effect of the landscape context of origin of seeds independently of experimental sites effect (Table IV.1a). When we respectively excluded the identity of the populations from the random effects or when we excluded the outlier urban population “U5” from the data set (see Figure IV.2), significant effects for the origins of seeds were detected (P-values are respectively: 0.012 and 0.039).

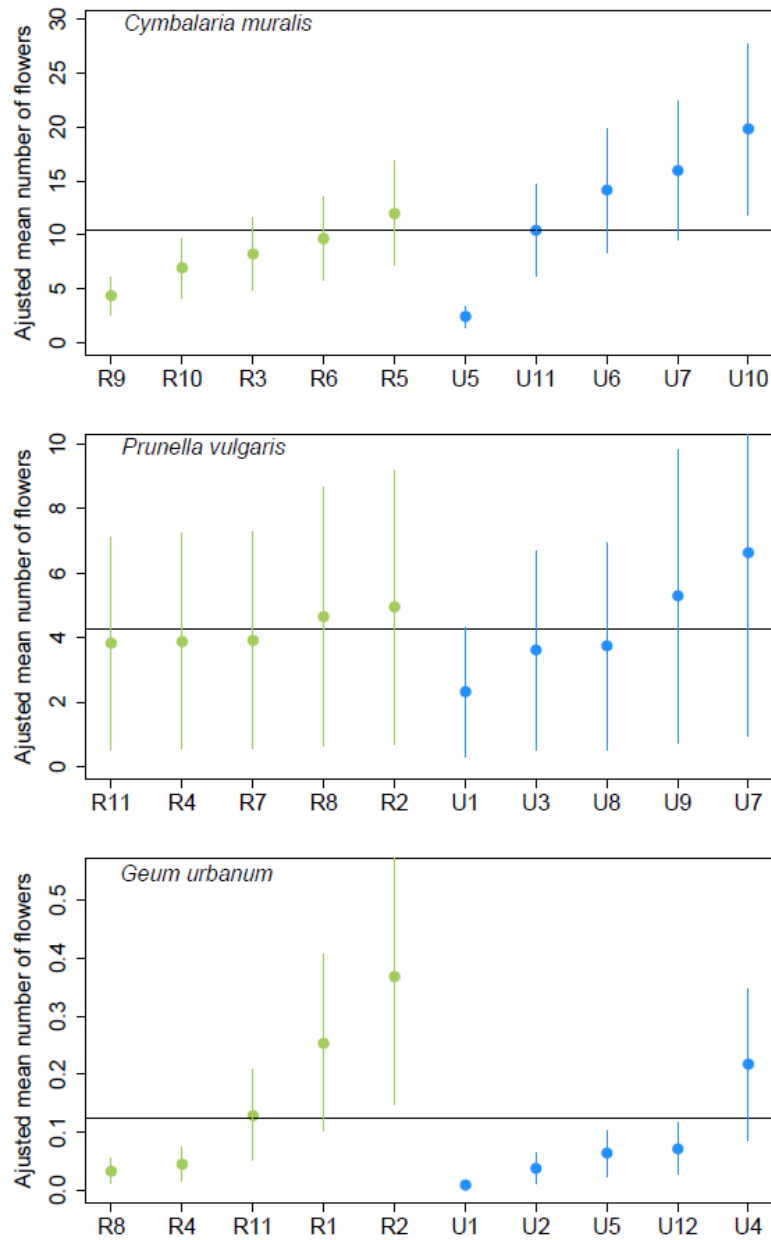


Figure IV.2 : Adjusted mean number of flowers per seed origin for the three study plants. Green and blue dots respectively stand for seeds from rural and urban landscape context. The adjusted means were extracted from the GLMM model: Flower number $\sim$ Pop $\times$ S. Where “Pop” and “S” respectively stand for the 10 natural populations from which seeds are issued, and for the landscape context of experimental sites. The variables accounting for the variability among the weeks of observations and the experimental sites were included as random factors in model. Error bars were extracted from the model and represent the standard error (SE).

Effect of landscape context of seed origins and experimental sites on floral visits

When the number of flowers was not included in the analyses, the effects on floral visits of both the landscape context of seed origins and the landscape context of experimental sites are shown in Table IV.1b. No significant effect of landscape context of either seed origins or experimental sites was detected in *C. muralis* and *G. urbanum*. In *C. muralis*, there was a tendency towards more visits on plants from urban origin (Figure IV.3a) and the lack of significance of this effect was due to the large variation of floral visits among the five seed origins within each landscape context. When the identity of seed origins was not included as a random effect (nested to the landscape context) in the model, the effect of the landscape context of seed origins was highly significant (P-value < 0.001). In *P. vulgaris*, significant effects were detected for the landscape context of experimental sites and for its interaction with the landscape context of seed origins. Overall, more visits were recorded on *P. vulgaris* in rural than in urban experimental sites (Figure IV.3b). The interaction accounted for the fact that this effect was stronger for plants from rural origin than from urban origin.

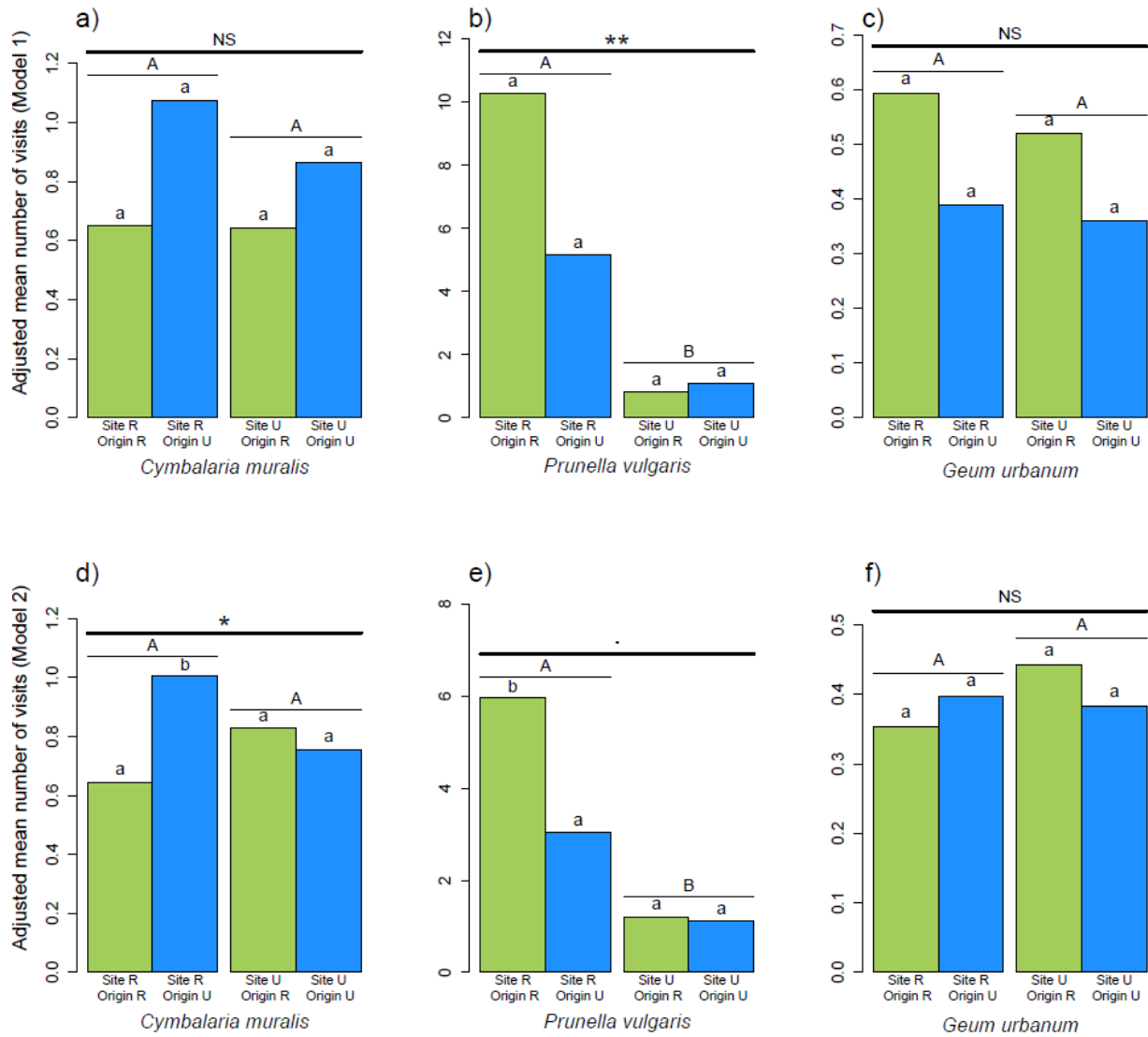


Figure IV.3 : Adjusted mean number of visits per plant during 10 min over the 14 weeks of observation, according to the landscape context of experimental sites and the origin of seeds for *Cymbalaria muralis* (a and d) *Prunella vulgaris* (b and e) and *Geum urbanum* (c and f). The adjusted means presented in a) b) and c) were extracted from the model 1: Total visits $\sim O \times S$, whereas the adjusted means presented in d) e) and f) were extracted from the model 2: Total visits $\sim O + S + F + O \times S + O \times F + S \times F$. “O” and “S” respectively stand for the landscape context (Urban : U versus Rural : R) of the origin of seeds and the experimental sites, and “F” stands for the number of flowers. The variables accounting for the variability among the weeks of observations, the populations from which seeds were issued, and the experimental sites were included as random factors in the two models. Single bars or pair of bars that respectively share the same lowercase or uppercase letter have no significant differences. Asterisks above the thick upper lines indicate that the interaction of the experimental sites with the origin of seeds is significant. “NS” and “.” respectively stand for “not significant” and “marginally significant” ($0.05 < P < 0.1$).

When the number of flowers was included as a fixed effect in the analyses of floral visits, this effect was found highly significant in the three species, plants with more flowers being visited more frequently (Table IV.1c). This was the single significant effect in *G. urbanum*. In *P. vulgaris*, significant effects were also detected for the landscape context of both seed origins and experimental sites. However, after removing non-significant interactions (backward model selection), only the landscape context of experimental sites remained significant (P-value = 0.017). In this species, floral visits were much more frequent in rural experimental sites than in urban ones (Figure IV.3e). This effect was mainly due to bumblebees and hoverflies (see Appendix IV.3 for detailed results per insect category).

In *C. muralis*, in addition to the effect of floral display size, there was a significant independent effect of the landscape context of seed origins as well as significant interactions between, on the one hand, landscape contexts of seed origin and experimental sites, and, on the other hand, landscape context of experimental sites and floral display size (Table IV.1c). These effects remained significant after removing non-significant effects with the backward model selection. These results accounted for two different processes. The first one is that *C. muralis* plants from urban origin were more visited than plants from rural origin when cultivated in rural experimental sites, but not in urban experimental sites (Figure IV.3d). The second process is that an increase in floral display size had a much stronger positive effect on floral visits in urban experimental sites than in rural ones (Figure IV.4). Although the interaction between the number of open flowers and the experimental site on the total number of floral visits was significant only for *C. muralis*, the same trend was also observed for the main pollinators of *P. vulgaris* and *G. urbanum* (Appendix IV.3). Overall, for the three plant species, the difference in the slope relating visits and floral display between urban and rural experimental sites was the highest when considering only visitations by small bees, whereas this difference was less marked or even opposite (*P. vulgaris*) for visits by hoverflies.

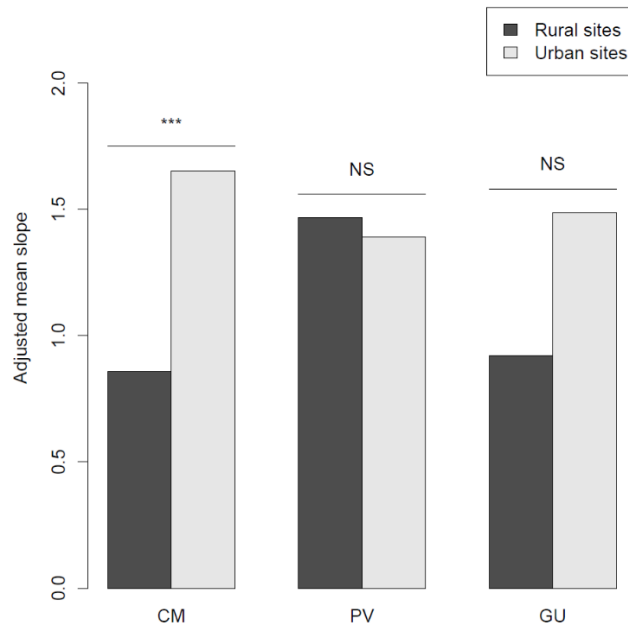


Figure IV.4 : Adjusted mean slope of visits along the variation of the number of flowers per individual of *Cymbalaria muralis* (CM), *Prunella vulgaris* (PV) and *Geum urbanum* (GU), during 10 min and over the 14 weeks of observation. The adjusted means were extracted from the model: Total visits $\sim O + S + F + O \times S + O \times F + S \times F$ where “O”, “S” and “F” respectively stand for the binomial variable accounting for the origins of seeds, the experimental sites and the number of flowers. The variables accounting for the variability among the weeks of observations, the populations from which seeds were issued, and the experimental sites were included as random factors in the model. Asterisks indicate the level of significance as in Table IV.1. NS= not significant.

Discussion

In the experimental design, the four plant species were deliberately chosen to have contrasted architectures and flower traits (sizes, colour, symmetry) and were therefore expected to attract different categories of pollinators. Among the three species that were finally available in the experiment, we indeed observed contrasted patterns of pollinator frequencies, with *Cymbalaria muralis* being preferentially visited by small bees, *Prunella vulgaris* by bumblebees and *Geum urbanum* by small bees and hoverflies.

Due to this variety of plants and pollinators, it was not astonishing to observe various effects of seed origin and experimental site on floral display size and plant-pollinator interactions. The only result shared by the three species was the higher number of visits per plant on plants that produced more flowers, which is a classical result (*e.g.* Kirchner et al. 2005). The noticeable effects of landscape contexts were species specific, i.e., with the flower number taken as fixed effect, there were more floral visits in rural experimental sites for *Prunella vulgaris* and in *C. muralis* plants from urban origin. But the most striking result was the significantly stronger relationship between floral visits and floral display size in urban experimental sites than in rural ones for *C. muralis* (discussed below).

Flower visitors of the study plant species

Cymbalaria muralis was more visited by small bees than by large solitary bees and bumblebees. Consistent with previous studies conducted in the Parisian region, the observed small bees were mostly belonging to the genus *Lasioglossum* sp. (Geslin et al. 2013, 2016). Those small bees can easily slip into the tiny tubular corollas of *C. muralis* to access nectar, whereas bumblebees and large solitary bees cannot. Moreover, no holes in nectariferous spurs, indicating nectar robbing, have been noticed when flower buds and open flowers were counted and manipulated. Hoverflies, harbouring short mouthparts, were found to visit preferentially *G. urbanum* flowers presenting non tubular corollas.

The larger corolla tubes of *P. vulgaris* were mainly visited by bumblebees. The differences in the proportion of bumblebee visitation, according to whether it was measured either as the total number of floral visits, or as the number of times each plant was visited at least once during 10 min for the 14 weeks of the observation, can be explained by the tendency of bumblebees to execute longer foraging sequences, on more flowers of every plant than other insects (personal observations). This behaviour strongly increases the visitation proportions when considering the number of interactions with flowers. This effect is particularly strong in *P. vulgaris*, presenting inflorescence structures with flowers close to one another. Such behaviour of bumblebees has already been reported in other studies, as well as a general tendency to move from bottom to top flowers (Harder and Barrett 1995; Harder et al. 2001).

Urbanisation effect on the abundance of plant-insect interactions among experimental sites

When considering the model including the number of open flowers as a covariate, significant effects of the experimental sites were only detected for *P. vulgaris* and revealed more plant-insect interactions, involving bumblebees and hoverflies, in rural experimental sites than in urban ones. Hoverfly-plant interactions have already been shown to be negatively affected by urbanisation in the Parisian region (Geslin et al. 2013). This is probably due to a higher hoverfly species richness (Bates et al. 2011) or abundance in rural sites compared to urban sites (Baldock et al. 2015). With short mouthparts, hoverflies have difficulties to forage on plants with tubular flowers (Fontaine et al. 2006) and have thus less foraging flexibility than species harbouring long mouthparts. Species with narrow habitat requirements or restricted dietary requirement are generally thought to be more prone to extinction (Biesmeijer et al. 2006). On the contrary, bumblebees, having long mouthparts, have not shown to be significantly affected by Parisian urbanisation although a negative trend was detected (Geslin

et al. 2013). The experimental site where the highest number of bumblebee interactions was observed is “Campus Orsay”, a wet grassland presenting a diverse and abundant flora compared to the other sites. Despite our significant results concerning bumblebee interactions, it should be noted that the number of experimental sites is limited (only eight) with a high variability among sites. For instance, in the urban cultural site “Cité U” a relatively high number of total bumblebee interactions were counted on *P. vulgaris* (1933) in comparison to the mean number of interaction per site (1237.3 ± 1212.4).

In urban experimental sites, *C. muralis* tended to be more visited by large solitary bees than in rural experimental sites, although this tendency was not significant. Such tendency was expected, because most of the observed large solitary bees were belonging to the Megachilidae family (e.g. *Osmia* sp., *Anthidium* sp., etc.), able to establish their nests in cavities provided by walls or woods (e.g. insect hostels). Species from this family have already been shown to have a significant positive affinity to urban areas (Hernandez 2009; Deguines et al. 2012; Deguines 2015a; Desaegher et al. *in revision*).

Plant floral display size evolution under different pollinator behaviours

Concerning *C. muralis*, we highlighted a strong significant interaction between the number of open flowers and the landscape context of experimental sites (Table IV.1c). This interaction is explained by a steeper slope of the curve relating the number of visits to the number of flowers in urban experimental sites than in rural sites (Figure IV.4). This is a fundamental point since it means that for a given increase in the number of open flowers per plant, the number of additional visited flowers is significantly higher for plants that grow in urban context. In other words, the advantage of producing more flowers, in terms of pollinator visits, is more important in urban sites than in rural sites. This result suggests that selective pressures on resource allocation towards the production of flowers varies between urban and rural habitats, and could be followed by evolutionary divergence between both contexts.

If we assume that flowering patches are on average more distant from one another in urban spaces than in rural areas (Harrison and Winfree 2015), the energy cost for urban insects to fly from one patch to another is expected to be higher. The marginal value theorem, a theoretical model of optimal foraging in patchy resources (Charnov 1976), states that a forager should leave a patch when the rate of food intake in the patch drops below the average food intake in the habitat (Charnov 1976; Goulson 1999). This model predicts that when the travel time is short among flower patches, the rate of visited flowers per plant should be nearly independent of floral display size. On the contrary, when the travel time is long between

sparsely distributed patches, the rate of visited flowers per plant should increase with plant size (Goulson 1999). Empirical evidence of these foraging behaviours have already been described in *Crepis sancta*, with longer capitulum visit durations by honeybees in environments with patchy plant populations compared to environments with large populations (Andrieu et al. 2009). These theoretical predictions are also consistent with the results of the present study, showing in *C. muralis* a steeper slope relating the number of visits to the number of flowers in urban experimental sites compared to rural sites.

If we assume that reproductive success is positively related to the number of pollinator visits, we expect that urban *C. muralis* were selected for resource allocation toward a greater number of flowers than rural *C. muralis*. We indeed observe a tendency of *C. muralis* plants from urban origin to produce more flowers (despite one outlier urban origin).

Contrasting with our results in *C. muralis*, Brys and Jacquemyn (2012) showed that populations of *Centaureum erythraea* from an industrial area showed a reduction in floral display compared to populations from more natural and undisturbed conditions. A similar tendency was found in *Commelina communis* (Ushimaru et al. 2014). In both species, there was also a decrease in herkogamy along with increase in urbanisation that could explain the reduction in floral display.

One factor potentially accounting for the different results between these two studies and ours can be related to mate and pollinator availability. Under low mate availability, plant species are expected to favour autonomous selfing ability, associated a reduction in floral display (lower needs for pollinator attraction), which is probably the case of *Centaureum erythraea* and *Commelina communis* (Brys and Jacquemyn 2012; Ushimaru et al. 2014). On the contrary, high mate availability and scarce pollinator visits can select for higher investment in attractive structures for the remaining pollinators (Eckert et al. 2009). However, we did not detect lower pollinator visits on *C. muralis* in urban experimental sites.

Cymbalaria muralis is essentially pollinated by small bees and *Centaureum erythraea* and *Commelina communis* are mainly pollinated by hoverflies (Brys and Jacquemyn 2012; Ushimaru et al. 2014). Those floral visitors can behave differently in disturbed habitats and lead to a selection for different traits. Indeed, in the present study the Syrphidae category showed the smallest difference between urban and rural slopes relating the number of visits to the number of flowers in *C. muralis* and *G. urbanum* and even an opposite difference for *P. vulgaris* (see Appendix IV.3).

We highlighted in this article a great variability in flower production and pollinator visits among the five urban and the five rural populations for the three studied species. We cannot

exclude maternal effects in our experiment to explain such differences. Nevertheless, a strong decrease of maternal effects after the germination stage was demonstrated in several plants species (Weiner et al. 1997; Bischoff and Muller-Shaerer 2010). It is unlikely that maternal effects strongly contribute to the among-population differences in the present study, compared to genetic differentiation. This differentiation can result from local environmental adaptations or non-adaptive evolution. Further investigations on a greater number of natural populations of *C. muralis* could confirm the tendency of a higher flower production for urban populations compared to rural populations. Other experiments on pollinator foraging behaviour facing different number of open flowers per plant or patch could allow getting more insight into the variation among populations in the frequency of floral visits and could give more evidence of local adaptation.

Besides these results, we showed that by taking into account the effects of the number of flowers on flower visits, a significant seed origin effect on floral visits was detected in *C. muralis* (Table IV.1c and Figure IV.3d). This was only detected in the rural experimental sites. This suggests that urban populations of *C. muralis* are differentiated from rural populations in pollinator attraction due another trait than the number of available flowers. In a study of the heredity of corolla colour in *C. muralis*, Gerbault (1919, 1922) found polymorphism among individuals, including ‘violacea’ and ‘alba’ morphs (general colour of the whole corolla) and morphs with presence or absence of a yellow macula nectarea. Crossing experiments proved a Mendelian transmission of the corolla colour with the purple corolla being dominant on the white corollas. Concerning the macula, intermediate morphs were identified with very light colours (Gerbault 1919). Future investigations on the variability of flower traits such as the macula colour and the corolla size and colour with photographical analyses could explain a part of the results presented here.

Conclusion

Our study, with the example of the city of Paris, demonstrated that urban environments are not necessarily associated with a decrease in plant-pollinator interactions for all plant species. Negative effects of urbanisation on the abundance of bumblebee and hoverflies visits were particularly pronounced on *Prunella vulgaris*. We did not detect a decrease in small bee visits in *Cymbalaria muralis* in urban experimental sites compared to rural sites. Interestingly, *Cymbalaria muralis* plants grown from seeds collected in urban natural populations received more pollinator visits and tended to produce more flowers than plants grown from rural populations. Our results suggest that the advantage for *C. muralis* individuals to produce more

flowers, in terms of pollinator visits, is greater in urban than in rural sites. This could drive adaptive differentiation between urban and rural populations, and account for the observed variation among populations in the number of flowers produced.

Acknowledgements

This study was financially supported by the Mairie de Paris. We would like to thank Jacqui Shykoff, Bernard Vaissière, Nathalie Machon, Mathilde Baude and Sandrine Pavoine for their insightful comments and discussions. We are grateful to land managers for allowing us to set up our experiment on their sites, particularly David Otamendi, Aubin Garcia (CIUP, Paris), Philippe Barré (Jardin Ecologique, MNHN, Paris), Pascale Evrard (Jardin “Le VerTêtu”, Paris), Karina Prévost (Jardin potager, Parc de Bercy, Paris), Alexandre Mari (PNR Haute Vallée de Chevreuse), Amandine Hansart and Beatriz Decencièrre (CEREED Ecotron, Foljuif) and Céline Riauté (Campus Orsay). Many thanks to Eric Motard, Xavier Raynaud and Gwendoline Grandin for their help with seed collection. We warmly thank Alexandra Cerqueira de Araujo, Esther Debray, Jamie Lozoff, Jan Perret, Lucie Berthon, Jean-Baptiste Bonnin, Yannick Poyat and Alexia Garrido for their help during field work.

Appendices chapter IV

Appendix IV.1: details about the seed collection locations in natural populations

Table IV.2 : Summary of the locations where the seeds of the four studied species were collected and their corresponding code.

Seed origin	Location	Code	<i>C. muralis</i>	<i>P. vulgaris</i>	<i>G. urbanum</i>	<i>G. robertianum</i>
Rural	Auffargis	R1			✓	
	Chaumes-en-Brie	R2		✓	✓	✓
	Dampierre-en-Yvelines	R3	✓			
	Fontainebleau	R4		✓	✓	
	Guignes	R5	✓			
	Le Cormier	R6	✓			
	Les Bordes	R7		✓		✓
	Campus Orsay	R8		✓	✓	
	Station d'écologie forestière	R9	✓			✓
	Tigaux	R10	✓			
	Trilport	R11		✓	✓	
	Villevert	R12				✓
	Villiers-le-Bâcle	R13				✓
Urban	Parc de Belleville	U1		✓	✓	
	Parc de Bercy	U2			✓	✓
	Bois de Boulogne	U3		✓		
	Parc André-Citroën	U4			✓	
	Parc Hôpital Rothschild	U5	✓		✓	
	Jardin de Reuilly-Paul Pernin	U6	✓			
	Toit Jussieu	U7	✓	✓		
	Parc Marcel Bleustein-Blanchet	U8		✓		
	Jardin des plantes MNHN	U9		✓		
	Petite Ceinture 15 ^{ème}	U10	✓			✓
	Rue Saint-Vincent	U11	✓			
	Parc Sainte-Périne	U12			✓	
	Boulevard Richard-Lenoir 11 ^{ème}	U13				✓
	Jardin naturel 20 ^{ème}	U14				✓
	Jardin sauvage Saint-Vincent	U15				✓

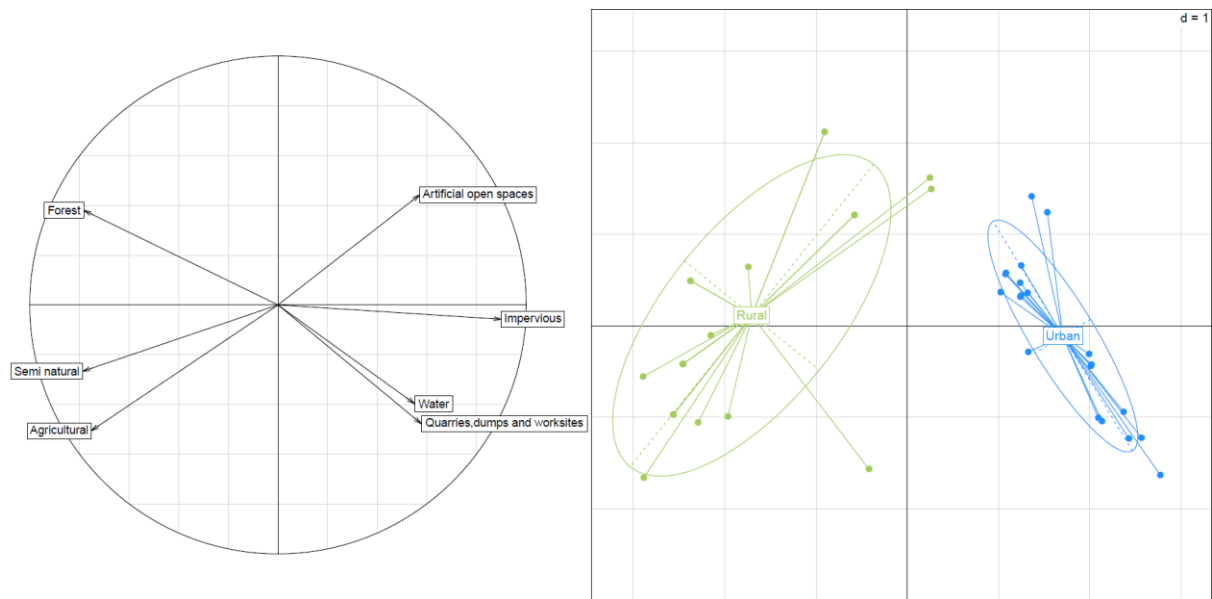


Figure IV.5 : Principal Components Analysis (PCA) with the proportions of the seven land use categories within a 1000-m radius buffer centred on the sites of seed origins. From the left to the right are represented the “correlation circle” plot and the “individuals” plot of the PCA. The first and second principal component are respectively representing 51% and 15% of the total inertia. The blue and green dots are respectively representing the urban and rural populations of the four plant species.

Appendix IV.2: Mean number of flowers produced over the 14 weeks by the three study species for rural and urban landscape context of experimental sites.

Table IV.3 : Mean number of flowers produced over the 14 weeks by the three study species for rural and urban landscape context of experimental sites.

Species	Origin	Population	Mean number of flowers	
			Rural sites	Urban sites
<i>C. muralis</i>	Rural	R3	22.5	9.7
		R5	30.9	15.1
		R6	21.2	15.0
		R9	11.8	6.7
		R10	18.9	9.9
	Urbain	U6	24.4	20.4
		U7	28.6	20.5
		U10	32.4	29.9
		U5	5.8	4.4
		U11	29.3	13.8
<i>P. vulgaris</i>	Rural	R2	38.2	21.2
		R4	25.4	10.3
		R7	34.0	16.6
		R8	36.4	17.6
		R11	34.6	14.9
	Urbain	U1	13.8	18.7
		U3	29.3	11.1
		U7	38.1	25.1
		U8	29.8	15.1
		U9	29.3	18.4
<i>G. urbanum</i>	Rural	R1	1.7	0.5
		R2	1.3	0.6
		R4	0.1	0.2
		R8	0.2	0.1
		R11	0.6	0.4
	Urbain	U1	0.2	0.0
		U2	0.7	0.0
		U4	0.6	0.6
		U5	0.3	0.2
		U12	0.3	0.2

Appendix IV.3 : detailed results per insect category

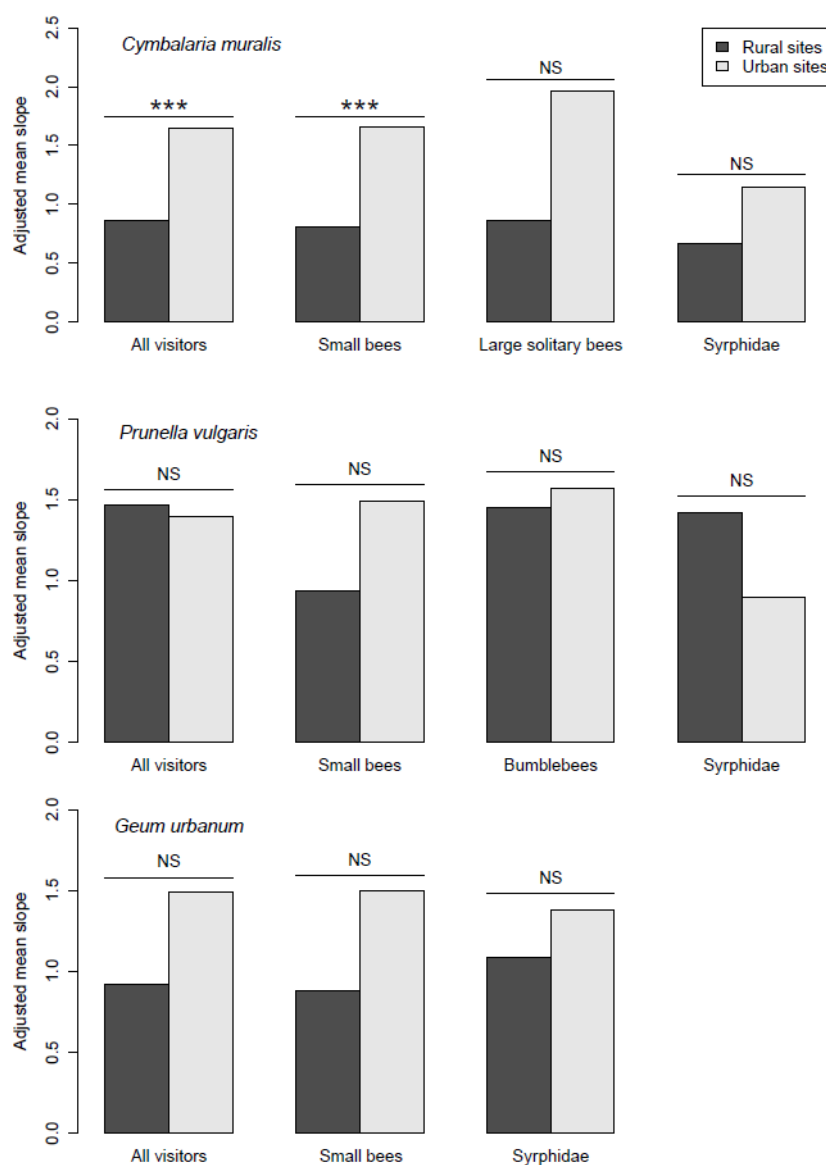


Figure IV.6 : Adjusted mean slope of visits along the variation of the number of flowers per individual of *Cymbalaria muralis* (CM), *Prunella vulgaris* (PV) and *Geum urbanum* (GU), according to different insect categories during 10 min and over the 14 weeks of observation. The adjusted means were extracted from the model : Total visits ~ O + S + F + O x S + O x F + S x F where “O”, “S” and “F” respectively stand for the binomial variable accounting for the origin of seeds, the experimental sites and the number of flowers. The variables accounting for the variability among the weeks of observation, the populations from which seeds were issued, and the experimental sites were included as random factors in the model. Stars indicate significant differences.

Table IV.4 : Summary of the analyses of the variation of the number of floral visits of different insect categories for the 3 study species. The fixed factors ‘O’ and ‘S’ stand respectively for the binomial variable accounting for the origin of seeds and the cultivation sites and “F” stands for the number of open flowers per plant individual. The variables accounting for the variability among the weeks of observations, the populations from which issued the seeds and the experimental sites were included as random factors in the three models.

Species	Fixed factors	Small bees	<i>Bombus sp.</i>	Syrphidae
<i>C. muralis</i>	O	0.04 *	0.054	0.957
	S	0.210	0.422	0.422
	F	<0.001 ***	0.009 **	0.003 **
	O x S	0.097	0.005 **	/
	O x F	/	/	/
	S x F	0.001 **	0,508	/
<i>P. vulgaris</i>	O	0.05 .	0.049	0.763
	S	0.990	0.001 **	0.005 **
	F	<0.001 ***	<0.001 ***	<0.001 ***
	O x S	0.033 *	0.007 **	/
	O x F	/	/	/
	S x F	/	/	/
<i>G. urbanum</i>	O	0.649	NA	0.910
	S	0.311	NA	0.118
	F	<0.001 ***	NA	<0.001 ***
	O x S	/	NA	/
	O x F	/	NA	/
	S x F	/	NA	/

L'article présenté dans ce chapitre est en cours de préparation.

Toutes les références bibliographiques associées à cet article sont incluses dans la liste des références en fin de thèse.

Title: How does urbanisation affect the evolution of reproductive traits in the perennial herb *Cymbalaria muralis*?

James Desaegher^{1*}, Sophie Nadot¹, Isabelle Dajoz^{2,3}, Bruno Colas^{1,3}

Affiliation of authors:

¹ *Ecologie Systématique Evolution, Université Paris-Sud, UMR 8079, CNRS, AgroParisTech, Université Paris-Saclay, 91400, Orsay, France,*

² *UPMC Paris 6 – iEES Paris, UMR CNRS 7618, Site de Jussieu, Paris, France,*

³ *Université Paris-Diderot, Sorbonne Paris-Cité, Paris, France*

*corresponding author : jamesdesaegher@gmail.com, 360 Rue du Doyen André Guinier, 91405 ORSAY Cedex

Abstract

Among the many effects of urbanisation on biodiversity, one effect consists of shifts in pollinator communities. These shifts are likely to affect the reproduction of entomophilous plants and select for modified floral characters in urban populations compared to rural populations.

To investigate these evolutionary outcomes, we conducted a reciprocal transplantation experiment between urban and rural areas, with *Cymbalaria muralis* as study species. We collected seeds in five urban and five rural natural populations. Plantlets issued from these seeds were planted in four urban and four rural experimental sites. In 2015, we harvested fruits and flower buds, took photographs of open flowers, and observed flower and fruit production as well as floral visits during 14 weeks.

Our results are suggesting trade-off relationships at the level of plant populations. Plants from populations producing a greater number of flowers are conversely producing less ovules per flower and have smaller yellow macula on the corolla. Interestingly, these three plant traits discriminate plants from urban and rural origins, with plants from urban origins producing more flowers than plants from rural origins. The plants with larger floral display were more visited by flower-visiting insects. But, for a given increase in the number of flowers, the benefit in terms of floral visits and seed production was greater in urban experimental sites than in rural sites.

Our results show that urban populations evolved toward a greater resource allocation to flower production at the expense of ovule production and flower coloration. We suggest that this evolution can be the result of a pollinator-mediated selection. A likely explanation is that pollinators would all the more select plants or patches with large floral displays that the habitat is more fragmented (as in urban areas), to compensate for the greater flight costs.

Keywords: *Cymbalaria muralis*, urbanisation, fragmentation, divergent selection, trade-off, P/O ratio

Introduction

Urban areas are growing twice as fast as urban population growth (Seto et al. 2013). Urban environments are spreading at the expense of rural areas such as agricultural land, forests and semi-natural habitats (Pageaud 2010). By reshaping the structure and composition of landscapes, urbanisation is causing several biotic and abiotic changes (Johnson et al. 2015). Urban landscapes are presenting a higher degree of habitat fragmentation *per se* (see Fahrig 2003) often in combination with habitat loss and impoverishment (Harrison and Winfree 2015; Johnson et al. 2015). The conversion of open lands and vegetated surfaces to impervious areas is also recognized to modify the local climate with in particular a modified heat and water exchange with the atmosphere (Watkins et al. 2007; US EPA: Climate Protection Partnership Division 2008). Compared to countryside, cities are often associated with different plant and animal diversities (McKinney 2008), with functional community shifts (Harrison and Winfree 2015; Deguines et al. 2016). For instance, management practices of green spaces like the mowing frequency, the use of certain pesticides, the access to public or the introduction of non-indigenous species can shape urban plant communities (Politi Bertoncini et al. 2012).

Despite the relatively ample literature on the characterisation of environmental changes along urbanisation gradients, little attention has been paid to the evolutionary consequences of urbanisation on organisms and particularly on plants (Eckert et al. 2009; Donihue and Lambert 2014; Johnson et al. 2015). The changes along urbanisation gradients are susceptible to modify the evolutionary forces acting on plant traits, and can lead to divergent evolution, either adaptive, due to natural selection in heterogeneous environments, or non-adaptive, due to genetic drift and reduced gene flow (Donihue and Lambert 2014; Johnson et al. 2015). For instance, Cheptou et al. (2008) provided strong evidence of a rapid adaptation of the seed dispersal capacity in *Crepis sancta* for populations growing in urban, fragmented habitats compared to rural, non-fragmented populations.

Although particular pollinators taxa have already been shown to prefer urban areas over other land uses (Hernandez 2009; Deguines et al. 2012), urban environments have been repeatedly shown to involve less plant-pollinator interactions than their surrounding countryside (*e.g.* Deguines et al. 2012; Geslin et al. 2013). Low pollinator availability in urban environment represent one possible cause of pollen limitation for plants in urban areas. Other causes of pollen limitation, such as a decreased mate availability (pollen donors), can also occur (see Harder and Aizen 2010). It has been argued that depending on the causes of pollen

limitation, the evolutionary outcomes of plant mating systems can be contrasted (Eckert et al. 2009; Harder and Aizen 2010).

If we consider a self-compatible but largely outcrossing species, with both low pollinator and mate availabilities, the severe pollen limitation is expected to favour individual plants with floral characteristics enabling more autonomous selfing, such as reduced herkogamy or dichogamy. Autonomous selfing represents in this case a mechanism of reproductive assurance (Eckert et al. 2009).

Selfing is generally associated with a syndrome of changes comprising reduced investment in attractive structures, i.e. lower number and smaller size of flowers, and reduced nectar production (Sicard and Lenhard 2011). Since the anther to stigma transport of pollen is more efficient for plants performing autonomous selfing than for outcrossing plants, a reduced investment in pollen production is expected, leading to a smaller P/O ratio under severe pollen limitation (Cruden 1977). Empirical evidence of such evolutionary outcomes in human-disturbed environments (industrialized area) in contrast to natural environments (coastal dunes) was found in *Centaureum erythraea* (Brys and Jacquemyn 2012). This evolutionary outcome has been called the “autonomous reproductive assurance hypothesis” (Arroyo et al. 2006). Conversely, in a situation with low pollinator availability but high mate availability, different evolutionary outcomes are possible. In this situation pollen limitation will greatly vary among plants and one consequence could be the occurrence of a strong competition among individual plants for pollinator visits (Eckert et al. 2009). Pollinators are expected to choose the most attractive plants, which may give them a great reproductive advantage compared to individuals lacking attractive attributes (Arroyo et al. 2006; Eckert et al. 2009; Brys and Jacquemyn 2012). Attractive traits are thus expected to be selected for in the population. This outcome was called the “increased pollination probability hypothesis” (Arroyo et al. 2006). Another alternative would be an evolution toward a delayed selfing as a mechanism of reproductive assurance but prioritizing outcrossing opportunities. The evolutionary trajectory a population or a species will take is hardly predictable and is strongly conditioned to the specific cost of inbreeding depression under each scenario (Eckert et al. 2009).

Habitat fragmentation in urban landscapes was shown to modify pollinator foraging behaviour compared to rural areas. This behaviour shifts were suggested to affect differently the plant fitness and consequently lead to a divergent evolution of floral traits between the two environments (Andrieu et al. 2009). Constraints imposed by a different pollinator behaviour on plant evolution have up to now rarely been studied (Devaux et al. 2014). Because of the rapid spread of cities worldwide in one hand and the potential consequences of plant evolution in

ecosystem functions in the other hand (Alberti et al. 2017), there is a need to better understanding species adaptability and evolutionary trajectories in urban environments. Cities represent a major challenge for species conservation, but also provide a promising system to inform evolutionary theory (Eckert et al. 2009; Donihue and Lambert 2014).

To address the issue of the evolution of floral traits in an urbanised context, we set up a reciprocal transplant experiment to observe pollinator visits and plant fitness traits according to the urban versus rural origin of seeds and experimental sites, distinguishing phenotypic plasticity from genetically based evolution (see Donihue and Lambert 2015). We chose the Île-de-France region for the experiment because the city of Paris (called Paris *intra-muros*) presents a long-standing and high level of urbanisation, whereas the surrounding countryside presents semi-natural habitats relatively devoid of urban influences. The present article focuses on *C. muralis*, a ruderal species commonly growing on old stone walls or along sidewalks. Individual plants were issued from seeds collected in five urban and five rural sites, and plantlets were further transplanted in four urban and four rural common gardens. In Desaegher et al. (2017) we highlighted that *C. muralis* plants from urban origins tended to produce more flowers than plants from rural origins. By analysing the floral visits on *C. muralis* plants in the urban and rural plantation sites we identified that the slope relating the number of pollinator visits to the number of flowers per individual was steeper in urban sites than in the rural sites. These two results were suggesting a greater benefit, in terms of pollinator visits, in allocating more resources to flower production in urban areas compared to rural areas.

Hence, to better understand the evolution of reproductive traits in *C. muralis*, we further investigated the floral traits and the seed production of the plants that were involved in the transplant experiment. We collected data on flower morphology, flower coloration, pollen production, ovule production, pollen to ovule ratios, and fruit production. We analysed these data in the light of previous results from Desaegher et al. (2017) on floral display size and floral visits by insects. We address three main questions in this article: i) do plants issued from seeds collected in urban environments present different reproductive and floral characteristics from plants issued from seeds collected in rural areas? ii) what are the correlations and potential trade-offs between the different floral characteristics among populations? and iii) which of the floral characteristics are mostly implicated in pollinator visits?

Material and methods

Experimental set up

During summer and autumn of 2014, the seeds from five rural and five urban natural populations of four plant species were collected in the region Île-de-France (see Appendix V.1). The species involved in this experiment were: *Cymbalaria muralis* P.Gaertn., B.Mey. & Scherb (Plantaginaceae), *Geranium robertianum* L. (Geraniaceae), *Geum urbanum* L. (Rosaceae), and *Prunella vulgaris* L. (Lamiaceae). In February 2015, seeds were germinated and grown in a greenhouse with a photoperiod of 16 hours light and 8 hours dark. In May 2015, plantlets were transplanted in four common gardens in Paris *intra-muros* (urban sites) and four common gardens outside Paris (rural sites) in the Île-de-France region (see Appendix V.1). Twenty plantlets of each species (10 populations x 2 replicates) were transplanted in four patches in each of the eight experimental sites. Two patches (patch dimensions: 1.5m x 1.2 m) contained plants issued from urban populations and the two other patches, plants issued from rural populations. Within patches, the plants of the four species were randomly disposed. Patches were separated by one meter from one another. Along the 14 weeks of the experimentation, plants were weekly watered. Hereafter, the expression “landscape context of seed origin”, also synthetized as “U/R-Origin”, refers to the urban *versus* rural origin of seeds, whereas the precise ten locations of seed origin are synthetized as “populations”.

Study species

We focus in this article on *C. muralis*. *Cymbalaria muralis* (Plantaginaceae) is a perennial herb distributed over Europe, North Africa, and North and South America (Chevalier 1936). *Cymbalaria muralis* is commonly found in the anfractuosités of old walls or along sidewalks. In the Île-de-France region, the plant is seen on substratum other than walls like rocky calcareous or siliceous habitats (Chevalier 1936), although rarely. Flowers of *Cymbalaria muralis* are autogamous or cross-pollinated by small insects, other floral visitors being physically excluded. In the region Île-de-France, the main pollinators of this species are small solitary bees (Desaegher et al. 2017). The flowers are zygomorphic, light purple to white, and generally bear two yellow maculas on the lower lip that are supposed to play the role of nectar guides (Abrol 2012). Open flowers are lasting 5-7 days (personal observations). During maturation of the capsules, the fruiting pedicels grow and recurve in a negative heliotropism reaction and plunge into the wall anfractuosités (Chevalier 1936).

Land use around sampled populations and plantation sites

Land use proportions within a 1000-m radius of the 10 locations of seed collection and the eight plantation sites were evaluated using Quantum GIS version 2.8 (QGIS Development Team 2015). We used a 1/5000 Geographic Information System map, reporting 11 land use categories over the Île-de-France region (Institut d'Aménagement et d'Urbanisme, 2012). We chose to keep as they were the following six categories: 1) forest; 2) semi-natural area; 3) agricultural land; 4) water; 5) artificial open space; 6) quarries, dumps and worksites. The remaining five categories (individual housing, group housing, business parks, facilities and transportation infrastructures) were all merged into a single seventh category called impervious areas (see <http://www.iau-idf.fr/> for more details on initial categories). Urban sites of seed collection and plantation comprised more than 75% of impervious areas, and rural sites less than 40% of impervious areas and more than 35% of agricultural, forest and semi-natural habitats.

Plant and floral visitor observations

Between 18 May to 22 August 2015 (14 weeks), all experimental sites were visited once a week. Each week, we counted the number of open flowers, flower buds and developing fruits on every individual plant. Visitor observations were conducted from 9 AM to 6 PM on days without rain. We alternated morning and afternoon observations in each site from week to week. Floral visitors were observed during 10 minutes per patch and classified into one of the 12 categories from the classification established by Geslin et al. (2013). The categories were: 1) small bees (<1 cm, mostly solitary), 2) large solitary bees (> 1cm) (superfamily Apoidea excluding the *Bombus* genus and *Apis mellifera*), 3) honeybees (*Apis mellifera*), 4) bumblebees (*Bombus* genus), 5) other Hymenoptera, 6) Lepidoptera, 7) hoverflies (Syrphidae), 8) Bombyliidae, 9) other Diptera, 10) Coleoptera, 11) other visitors, 12) unknown. For each plant, the total number of floral visits (a flower being possibly visited several times) was recorded for each visitor category.

Photographic analysis of flower traits

Between 29 June 2015 and 6 July 2015 (flowering peak), we took photographs of three flowers of every *C. muralis* individual in all experimental sites. Photographs were taken with a camera (Canon Eos 40D Digital with an additional 100mm lens) fixed on a laboratory removable foot (rigid support). White balance calibration was regularly performed using a

neutral grey (18 %) to ensure that colours would be comparable even when the cloud cover was variable within and among experimental sites. Flowers were photographed on a wooden stand where holes of various diameters were drilled to hold the flowers, and with an attached ruler with half-millimetre gradations (based on Frey et al. 2007). We made sure to photograph the corolla with the lower lip parallel to the platform (Frey et al. 2007). Photographs were analysed using ImageJ 1.48v (Rasband 2017). We calibrated the pixel-to-millimetre relationship for each photograph using the ruler displayed in the image, and then we performed our measures. For each flower, we measured the width of the lower lip and the area of both yellow maculas. We set up a standard protocol to evaluate the macula areas of each flower by using the colour threshold tool by systematically restricting the hue value between 20 and 40, the saturation value between 180 and 255. Since the brightness differed among experimental sites we adjusted the minimum brightness value for each site according to the shape of pixel abundance curve and mostly restricted the values between 120 and 255. Hereafter the expression “macula area” represents the sum of the areas of the two maculas of one flower.

Estimation of pollen, ovule and seed production

Between 23 June 2015 and 21 July 2015, whenever possible, one to three flower buds per plant were collected and stored in an Eppendorf tube filled with 70% alcohol. Ovaries were then dissected under a stereomicroscope ZEISS STEMI SV6 (x 5) and ovules were placed on a microscope slide, soaked in Alexander dye solution during 10 minutes, and then counted. The four anthers of these flower buds were stored in Eppendorf tubes and placed in a heat chamber at 30 °C during approximatively 12 hours. To disrupt the anther wall, two metallic beads were added and the tubes were shaken during 1 minute in a mechanical grinder Retsch MM300 at 10 movements/s. Then 100 µl of Alexander dye solution was added and pollen grains were soaked during 1 hour. The solution was shaken again during 1 minute in the mechanical grinder Retsch MM300 at 10 movements/s. After dilution of this solution (1/20) and subsequent vortexing, three aliquots of 5 µl each were placed on a microscope slide. Pollen grains were counted under a stereomicroscope ZEISS STEMI SV6 (x5) and a microscope Olympus BH-2 (x10). The total pollen quantity of the flower buds was then evaluated based on these three samples. Functional and sterile pollen grains were distinguished mainly based on the shape and coloration of the pollen grains.

Between 18 May 2015 and 2 October 2015, whenever possible, one to seven fruits per plant were collected and stored in paper bags. Fruits were dissected above a white sheet of paper and seeds were counted.

Statistical analyses

Description of the plant characteristics

All statistical analyses were performed on an individual basis. We assessed for each individual plant: the “mean number of functional pollen grains”, “mean number of sterile pollen grains”, “total number of pollen grains”, “mean number of ovules”, “mean pollen/ovule ratio”, “mean petal width”, “mean macula area”, “mean number of seeds per fruit” and “mean seed/mean ovule ratio”. All means were calculated over the three flowers or fruits collected per individual (except when less material was available). For mean pollen/ovule ratios, only functional pollen grains were included in the calculation, and we first calculated ratios in every flower bud, before averaging the ratios for each plant. The seed/ovule estimation was calculated by dividing the mean number of ovules per bud by the mean number of seeds per fruit. The seed/ovule ratio was arcsin transformed before being analysed. For each plant, we calculated the total number of open flowers (“total flower number”) and the “total floral visits” per insect category over the 14 weeks of observation. We calculated the “mean number of fruits per individual and per week” and evaluated the “mean number of seeds per plant and per week” by multiplying the “mean number of seeds per fruits” by the “mean number of fruits per plant and per week”.

In our analyses, we separated the twelve plant characteristics in two groups. The group called “**pre-fertilization characteristics**” was composed of eight characteristics: “mean number of functional pollen grains”, “mean number of sterile pollen grains”, “total number of pollen grains”, “mean number of ovules”, “mean pollen/ovule ratio”, “mean petal width”, “mean macula area”, “total number of flowers”. The group called “**post-fertilization characteristics**” was composed of: “mean number of fruits”, “mean number of seeds per fruit”, “mean seed/ovule ratio”, “mean number of seeds per plant (per week)”. These four plant characteristics were separated in the analyses since they were potentially strongly influenced by the number floral visits in the experimental sites.

Statistical tests

To analyse the variation of the twelve plant characteristics and floral visits among the seed origins and experimental sites, we used generalized linear models (GLM) and generalized linear mixed models (GLMM) (Bolker et al. 2009) using R 3.3.1 software (R Core Team 2016) and the lme4 package (Bates et al. 2016). Based on the analyses of the normality and homoscedasticity residual plots for every characteristics (Zuur et al. 2010; Hervé 2016), we

chose the best fitted distribution law. When the assumptions of normality and homoscedasticity were not validated we used the Mann-Whitney or Kruskal-Wallis non-parametric tests. To achieve a better convergence of the GLMM algorithms with a negative binomial distribution we used the optimizer based on Bound Optimization BY Quadratic Approximation (BOBYQA). Each model was simplified by backward selection, removing all non-significant interactions and then simple effects. Significance of fixed effects and their interactions were tested by using type III tests.

To study the effects of the origin of seeds on all plant characteristics we used three different statistical models. The first model was a two-factor GLM, with the first factor indicating the 10 populations and the second factor the variable specifying the eight experimental sites. In the second GLM we used the binomial variable (urban *versus* rural) reflecting the “landscape context of seed origin” (U/R-Origin) and also the variable specifying the eight experimental sites. In the third model, we performed a GLMM and included as fixed effects the same variables as in the second GLM, and we added a random intercept per population nested within the “landscape context of seed origin” (U/R-Origin).

To identify the pre-fertilization characteristics that were best discriminating the populations and the landscape context of seed origin (U/R-Origin), we conducted two linear discriminant analyses (LDA) with the six less correlated plant traits (“mean number of functional pollen grains”, “mean number of sterile pollen grains”, “mean number of ovules”, “mean petal width”, “mean macula area” and “total flower number”).

To study the effects of the urban versus rural experimental sites on the post-fertilization characteristics, we used two additional models. The first additional GLM included the binomial variable reflecting the “landscape context of seed origin” (U/R-Origin) and the binomial variable reflecting the “landscape context of experimental sites” (U/R-Site). In the second additional model, we performed a GLMM and included as fixed effects the same variables as the first additional model, and we added a random intercept per population nested within the “landscape context of seed origin” (U/R-Origin) and a random intercept per experimental sites nested within the “landscape context of experimental sites” (U/R-Site).

To analyses the variation of floral visits between urban and rural “landscape context of experimental sites” by taking into account the total number of flowers, we implemented a GLMM model with these two variables as fixed factors and specified two random effects indicating the populations and the experimental sites respectively nested in the “landscape context of seed origin” and “landscape context of experimental sites”. To study the effects of the macula area on floral visits, we performed the same GLMM models but added the macula

area as fixed effect. As a complementary analysis, a hierarchical variance partitioning was also conducted to determine the variance of the total floral visits explained by each of the four variables: “total flower number”, “mean petal width”, “mean macula area” and “total number of pollen grains”.

Results

Cymbalaria muralis mean reproductive traits

At the flowering peak (week 7: 06/29/15) individual plants (N=157) beared on average 92.8 buds ($\pm$ SE: 6.2), 39.1 open flowers ($\pm$ 3.6) and 54.8 fruits ($\pm$ 5.4). At the end of experimentation (week 13: 08/17/15), they beared on average 46.6 buds ($\pm$ 4.0), 17.9 open flowers ($\pm$ 1.5) and 110.4 fruits ($\pm$ 8.9). Mean petal width was 7.37 mm ($\pm$ 0.10) and mean macula area was 1.22 mm² ($\pm$ 0.04). In flower buds, mostly collected at the flowering peak, the mean number of functional pollen grains per flower was 61654.7 ($\pm$ 1904.3), the mean number of sterile pollen grains was 2814.2 ($\pm$ 391.3) and the mean number of ovules was 44.9 ($\pm$ 0.5). The mean pollen/ovule ratio was 1388.9 ($\pm$ 41.6). The mean number seeds per fruit was 27.5 ($\pm$ 0.48), the mean seed/ovule ratio was 0.62 ($\pm$ 0,01), and the mean number of seeds per plant and per week was 1787 ($\pm$ 133).

Plant trait differentiation among the origin of seeds

We found a significant population effect for all plant characteristics but the mean seed/ovule ratio (Table V.1 and Table V.2). No significant interactions were found between the studied fixed factors and the interactions were consequently removed from all models. Detailed results per population and each plant characteristic are presented in Appendix V.2. The results concerning the pre-fertilization characteristics were summarized with a LDA aiming at discriminating the 10 populations with the six less correlated plant characteristics ($r < 0.5$) (Figure V.1). In the first plane of this LDA (82% of inertia), the three main discriminant variables were the total number of flowers, the number of ovules per flower and the macula area. Interestingly we observed that the discrimination among populations on the six plant characteristics led to a fairly good separation between plants from urban and rural origins, apart from the population U1.

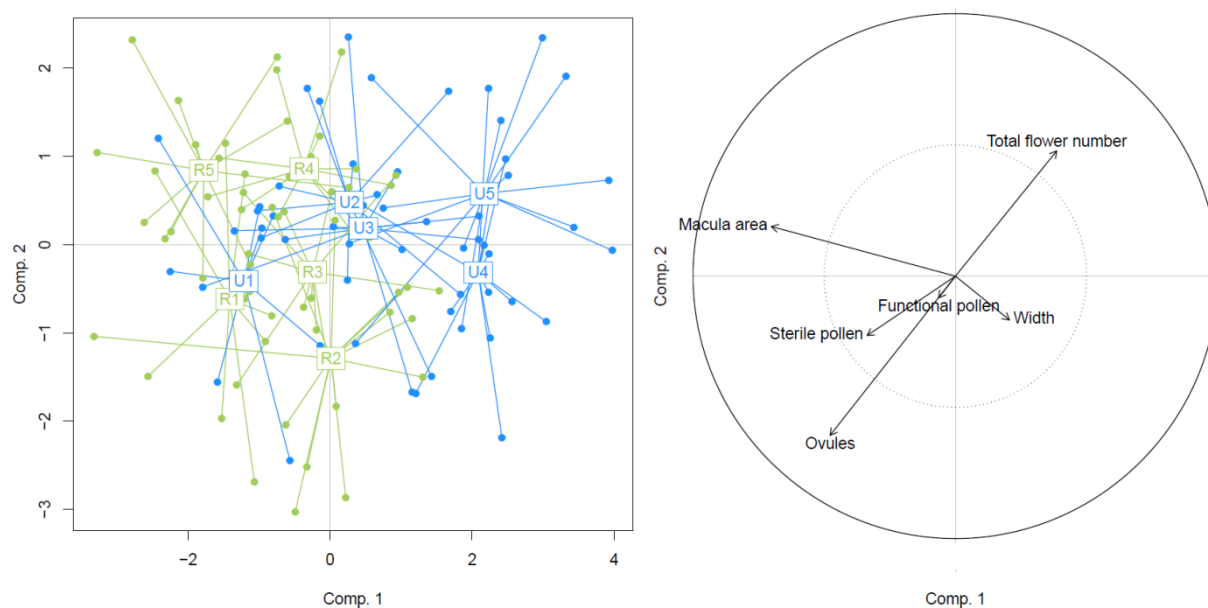


Figure V.1: Projection of individual plants in the first two dimensions of the linear discriminant analysis (LDA) aiming at discriminating the 10 populations with six plant characteristics (left). Projection of the six plant characteristics in the correlation circle associated to the LDA (right). Blue and green dots are respectively associated to individuals issued from urban (U1 to U5) and rural populations (R1 to R5). The first and second LDA components are respectively representing 64.3% and 17.7 % of the total information.

Consistently with these results, we found a significant effect of the landscape context of seed origin (U/R-Origin), without taking into account any random variable, for the total number of flowers, the macula area and the number of ovules per flower (Table V.1). The effect of U/R-Origin was also significant for the mean number of fruits per week and the number of seeds per fruit (Table V.2). Plants issued from urban origins significantly produced more flowers, had a smaller macula area and less ovules per flower, and produced less fruits and less seeds per fruit than plants from rural origins. Based on the Mann-Whitney test we showed that the plants from urban origins also produced a significantly smaller amount of sterile pollen grains compared to plants from rural origins ($p\text{-value} < 0.001$). The results concerning the pre-fertilization characteristics were confirmed with the LDA performed to discriminate urban and rural origins (Figure V.2) where the macula area, the number of ovules and sterile pollen, and the total number of flowers were the most discriminating variables. The overlap between plants from urban and rural origins was mainly due to population U1. The LDA led to 28.8 % (standard error = 0.054) of misclassification. When the population factor was taken into account in the model as a random variable, no significant effect of the variable U/R-Origin on any of the plant characteristics was found. This reflects the great variability existing among populations, especially of urban origins.

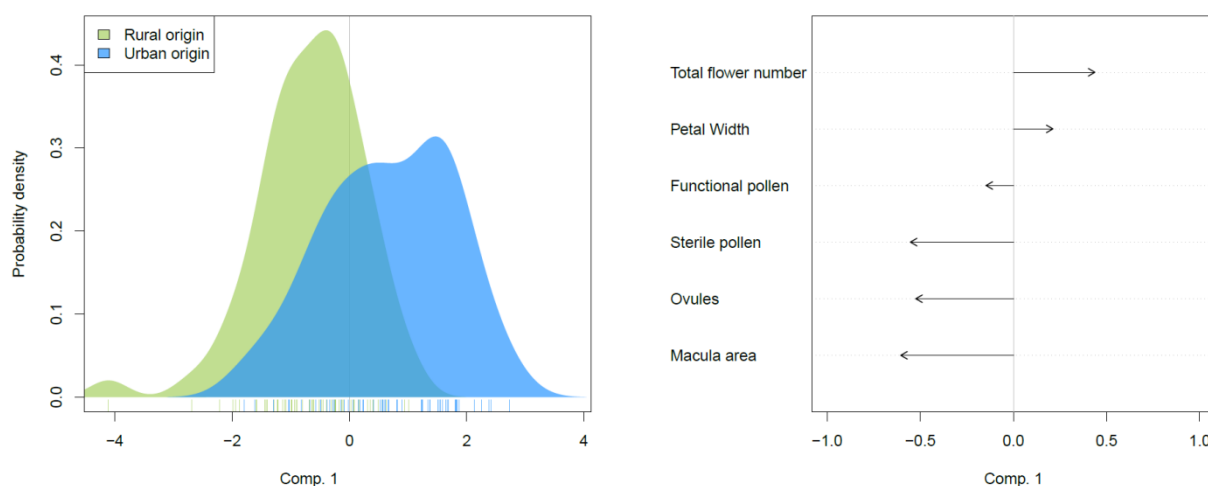


Figure V.2 : Probability density associated to the repartition of individual plants along the single dimension of the linear discriminant analysis (LDA) aiming at discriminating the two origin of seeds (urban versus rural) with six plant characteristics (left). Blue and green curves stand respectively for plants from urban and rural origins. Direction and correlation of the six plant characteristics to the single dimension of the LDA (right).

Besides the effect of seed origin, we also detected an effect of the experimental site (Table V.1 and Table V.2) on most of the characteristics except for the total number of pollen grains, the number of functional pollen grains, and the pollen/ovule ratio. Detailed results on each plant characteristics are presented in Appendix V.2. The urban experimental site “Parc de Bercy” was markedly different from the other sites, because petal width, macula area and total number of flowers was smaller, and the number of ovules per flower was higher. In contrast, in the rural sites “PNR de la Haute Vallée de Chevreuse” and to a lesser extent “INRA Versailles”, plants had in average a greater petal width, macula area and number of flowers, but a smaller number of ovules and sterile pollen per flower.

Concerning post-fertilization characteristics (Table V.2), we detected a significant effect of the landscape context of experimental sites (U/R-Site) on the number of seeds per fruit and the seed/ovule ratio with the model without any random variable. The number of seeds per fruit and the seed/ovule ratio was higher for individuals planted in urban contexts compared to individuals planted in rural contexts. This effect remained marginally significant for the variable accounting for the number of seeds per fruit when the random effects were added in the model but the effect disappeared for the seed/ovule ratio.

Table V.1 : Summary of the variation of seven pre-fertilization plant characteristics according to the origin of seeds and the experimental sites. The variable “U/R-Origin” (O) and “Population” (P) stand respectively for the landscape context of the origin of seeds (urban versus rural), and the precise locations where the seeds were collected in natural populations (10 populations). The variable “Site” (S) stand for the locations of experimental sites (8 sites). In the last column the model included as a random intercept the identity of populations nested in the landscape context of seed origins.

Trait	Population + Site	U/R-Origin + Site	U/R-Origin + Site + Rand. U/R-Origin / Pop
Functional pollen	P: 0.001 ** S: 0.484	O: 0.221 S: 0.518	O: 0.541 S: 0.469
Total pollen	P: 0.003 ** S: 0.718	O: 0.050 * U<R S: 0.703	O: 0.362 S: 0.694
Ovule	P: < 0.001 *** S: 0.001 **	O: < 0.001 *** U<R S: 0.003 **	O: 0.316 S: 0.001 **
Pollen / Ovule	P: 0.002 ** S: 0.371	O: 0.884 S: 0.376	O: 0.960 S: 0.348
Petal Width	P: 0.018 * S: < 0.001 ***	O: 0.053 . U>R S: < 0.001 ***	O: 0.293 S: < 0.001 ***
Macula area	P: < 0.001 *** S: < 0.001 ***	O: < 0.001 *** U<R S: < 0.001 ***	O: 0.309 S: < 0.001 ***
Total flower number (14 weeks)	P: < 0.001 *** S: < 0.001 ***	O: 0.005 ** U>R S: < 0.001 ***	O: 0.507 S: < 0.001 ***

Table V.2 : Summary of the variation of the four post-fertilization plant characteristics according to the origin of seeds and the experimental sites. The variable “U/R-Origin” (O) and “Population” (P) stand respectively for the landscape context of the origin of seeds (urban versus rural), and the precise locations where seeds were collected in natural populations (10 populations). The variable “U/R-Site” ($S_{U/R}$) and “Site” (S) stand respectively for the landscape context of the experimental site (urban versus rural), and the precise locations of the experimental sites (8 sites). In the third and last column the models where including nested random effects.

Trait	Population + Site	U/R-Origin + Site	U/R-Origin + Site + Rand. U/R-Origin / Pop	U/R-Origin + U/R-Site	U/R-Origin + U/R-Site + Rand. U/R-Origin / Pop + U/R-Site / Site
Mean fruit number (per week)	P: < 0.001 *** S: < 0.001 ***	O: 0.012 * U>R S: < 0.001 ***	O: 0.351 S: < 0.001 ***	O: 0.013 * U>R $S_{U/R}$: 0.681	O: 0.393 $S_{U/R}$: 0.559
Seeds per fruit	P: < 0.001 *** S: 0.008 **	O: 0.014 * U<R S: 0.030 *	O: 0.289 S: 0.009 **	O: 0.010 * U<R $S_{U/R}$: < 0.001 *** U>R	O: 0.374 $S_{U/R}$: 0.079 . U>R
Seed / Ovule	P: 0.128568 S: 0.003 **	O: 0.626 S: 0.002 **	O: 0.721 S: 0.002 **	O: 0.570 $S_{U/R}$: 0.006 ** U>R	O: 0.685 $S_{U/R}$: 0.129
Mean seed number per plant (per week)	P: < 0.001 *** S: < 0.001 ***	O: 0.077 . U>R S: < 0.001 ***	O: 0.372 S: < 0.001 ***	O: 0.082 . U>R $S_{U/R}$: 0.869	O: 0.345 $S_{U/R}$: 0.572

Correlations between pre-fertilization characteristics

Over all individual data, apart from the allometric positive correlations, between petal width and macula area ($r = 0.49$) or between petal width and total flower number ($r = 0.29$) we couldn't detect any strong linear correlation between the studied traits ($r < 0.22$). However, when we studied the correlations among the mean values of traits per population, we detected a significant negative relationship between the total number of flowers and macula area (Figure V.3, $r = -0.61$, $p\text{-value} = 0.027$), between the total number of flowers and number of ovules ($r = -0.60$, $p\text{-value} = 0.018$), as well as between macula area and petal width ($r = -0.58$, $p\text{-value} = 0.046$). Regarding these three couples of traits, we highlighted opposite relationships according to whether they were examined on an individual basis within populations or on a population basis. These conflicting trends explained the low correlations between traits observed on the complete dataset. The two variables total number of flower and macula area were shown to discriminate urban and rural populations in opposite directions (Figure V.2) and were consistently linked together by a significant negative correlation at the population level (Figure V.3). Most individual plants from populations U2, U3, U4 and U5 exhibited a greater total number of flowers, at the expense of macula area, than the plants from rural origins. In contrast to other urban populations, U1 was characterised by a small number of flowers and a larger macula area. Within each population, individuals that had a large macula area tended (not significant) to have a greater number of flowers (Figure V.3), over the eight experimental sites. The same trend was observed between the total number of flowers and the number of ovules and to a lesser extent between macula area and petal width (Appendix V.3).

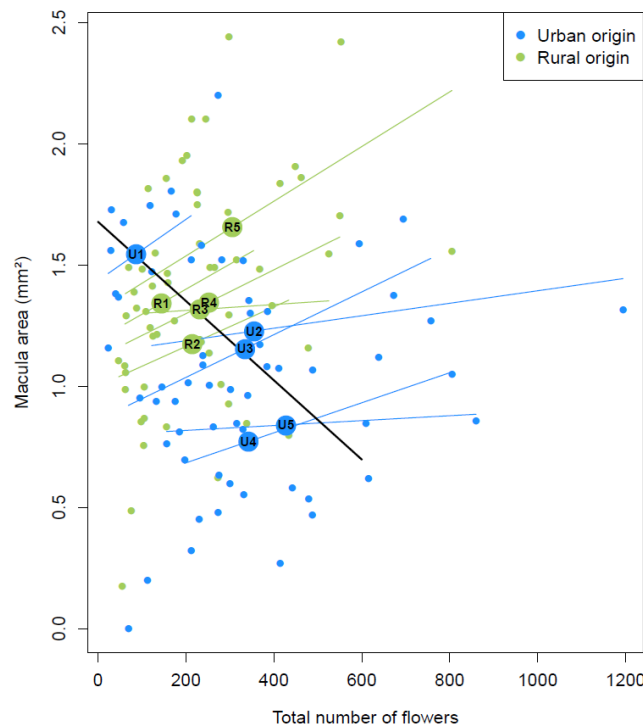


Figure V.3 : Relationship between the total number of flowers and the mean macula area per flower. The small dots represent individual plants. The large dots represent the means per population. The blue and green lines represent the linear relationships between total number of flowers and the macula area within each population. The black line represents the linear relationship between the mean values per population of both traits.

Relationship between floral traits and floral visits

Over the 14 weeks of observation, small bees were the most frequent visitors on *C. muralis* (48.0 %) followed by bumblebees (29.9 %), large solitary bees (7.9 %) and hoverflies (4.7 %) (Desaegher et al. 2017). The hierarchical variance partitioning analysis revealed that 50 % of the total variance of the total floral visits was explained by the total number of flowers, followed by 1.6 % explained by petal width and less than 1 % for macula area and total pollen amount. The post-hoc permutation test revealed that only the total number of flowers presented a significant effect on the total number of floral visits.

The results from the GLMM model, involving the landscape context of experimental sites (Urban vs Rural) and the total number of flowers as fixed factors, revealed a significant positive effect of the total number of flowers on the total number of floral visits over the course of the experimentation (p -value < 0.001). Interestingly we also detected a significant interaction between the total number of flowers and the landscape context of experimental sites (p -value = 0.003). This means that the mean slope relating the number of floral visits to the total number of flowers was steeper in urban experimental sites compared to rural sites (Figure V.4a). In

addition, when the mean seed production per plant (per week) was defined as the response variable in the GLMM model we detected a positive effect of the total number of flowers (p-value < 0.001) and a significant interaction between the total number of flowers and the landscape context of experimental sites (p-value < 0.020). The mean slope relating the mean seed production per plant to the total number of flowers was steeper in urban experimental sites compared to rural sites (Figure V.4b).

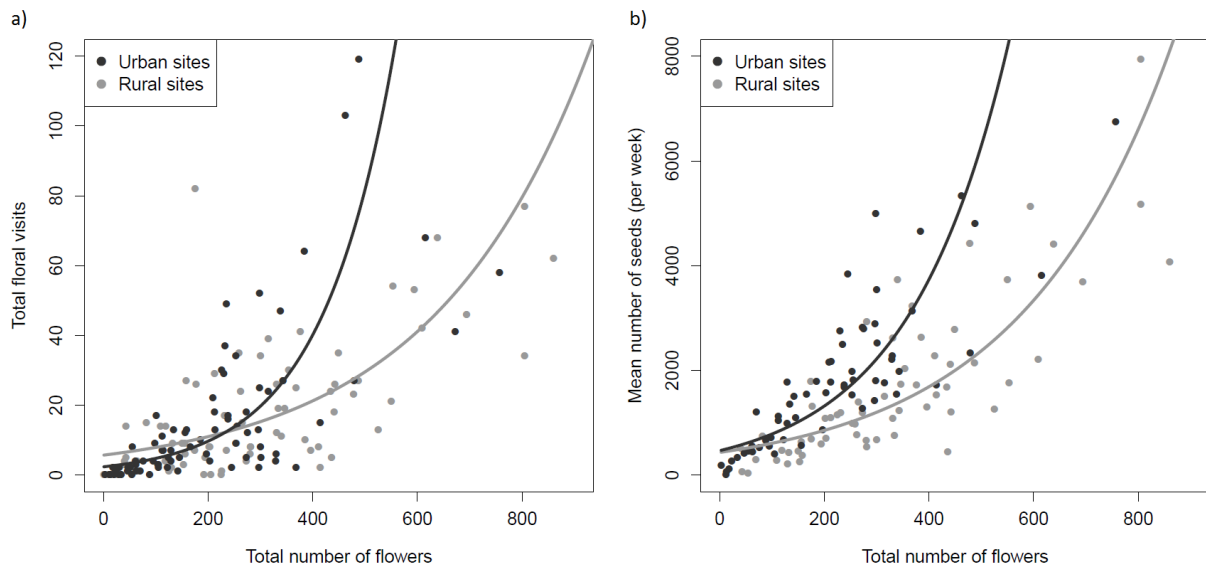


Figure V.4 : Relationship between the total number of flowers and the total floral visits (a) and between the total number of flowers and the mean seed production per plant and per week (b), according to the urban and rural experimental sites. Dots are representing individual plants and the lines the associated predicted values.

When we analyzed the variation of the total number of floral visits according to macula area, total number of flowers and landscape context of experimental sites (Urban vs Rural), we detected a significant effect only for flower number (p-value < 0.001) and a significant interaction between landscape context of experimental sites with the total flower number (p-value = 0.007). Neither single nor interacting significant effects of the macula area (p-value = 0.714) on total floral visits was identified.

Discussion

Concerning pre-fertilization characteristics in *C. muralis*, our results clearly showed a differentiation among the origin of seeds regarding reproductive traits (Table V.1). Compared to rural origins, plants from urban origins were shown to be mostly characterized by a greater total flower production, a lower number of ovules, a lower quantity of sterile pollen and smaller macula area. Concerning post-fertilization characteristics, plants from urban origins tended to have a greater mean number of fruits per week and a smaller number of seeds per fruits.

In *C. muralis*, Desaegeher et al. (2017) already showed that the slope relating the number of floral visits to the daily number of flowers per individual was significantly steeper in urban experimental sites compared to rural sites. We show in the present article that the differences in floral visits likely translates into fitness differences (i.e. seed production, Figure V.4b). Consistently, the number of seeds per fruit and the seed/ovule ratio were greater in the urban experimentation sites than in the rural sites (Table V.2).

At the population level, we found significant negative correlations between the total number of flowers and the macula area, and between the total number of flowers and the number of ovules per flower (Figure V.3), suggesting a resource allocation trade-off (van Noordwijk and de Jong 1986). Finally, the analysis of floral visits suggested that the number of flowers is the main factor involved in the attraction of visitors.

Cymbalaria muralis mating system

Almost a century ago, Gerbault (1919) mentioned that *C. muralis* was capable of autonomous selfing. Indeed, stamens and stigmata are spatially contiguous and are already mature prior corolla opening. This autonomous selfing mechanism, called prior selfing, is also found in the related *Linaria tursica* (Valdés and Lifante 1996), which belongs to the same tribe (Antirrhineae) as *C. muralis*, and displays a very similar floral morphology with smaller corollas (Ghebrehiwet et al. 2000). Based on direct observations on flower and fruit development and estimation of P/O ratio, *L. tursica* was determined to be strictly autogamous, and this was interpreted as an adaptation to the marked seasonality and highly disturbed areas where this species is found (Valdés and Lifante 1996). In the tribe Antirrhineae, extreme variations in P/O ratios among species have been observed, ranging from 48 for *L. tursica* to 5283 for *L. polygalifolia* (Cruden 1977; Valdés and Lifante 1996; Erbar and Langlotz 2005). To our knowledge, the P/O ratio of *C. muralis* had never been assessed before the present study. According to Cruden's classification (Cruden 1977), with a mean P/O ratio of 1388.9 ($\pm$ 41.6),

C. muralis is likely to be “facultative allogamous”. Based on corolla diameter (7.4 mm), temporal separation of anther dehiscence and stigma receptivity (protandry, Chevalier 1936), and spatial separation between stigma and anthers (contact possible), the Cruden’s outcrossing index (OCI) rather indicates a allogamous species (Cruden 1977). In fact, despite a strong correlation between the breeding system and the P/O ratio, deviations from the general pattern are possible (Erbar and Langlotz 2005; Michalski and Durka 2009). For instance, pollen consumption, which is a common situation for bee-pollinated species, can lead to an evolutionary compensation towards excessive pollen production and thus higher P/O ratios than expected for selfing species (Erbar and Langlotz 2005). Genetic markers or pollination experiments would allow better estimations of selfing rates in *C. muralis*.

Floral characteristics and seed origins

Since we only studied the F1 generation of each population, we cannot exclude maternal effects on the observed traits (Donihue and Lambert 2014). However, for several species, late stage developmental traits (*e.g.* reproductive traits) were shown to be non-significantly affected by these effects (Weiner et al. 1997; Bischoff and Müller-Schärer 2010).

In contrast with the study of Brys and Jacquemyn (2012) in *Centaureum erythraea*, we could not detect any difference in P/O ratios of *C. muralis* between urban and rural origin of seeds. In fact, both amounts of pollen grains and ovules tended to be smaller in plants from urban origin. Based on the statistical correlation between outcrossing rates and P/O ratios (Cruden 1977; Michalski and Durka 2009) our P/O ratio results suggest similar levels of autonomous selfing between plants from urban and rural origins. So, the lack of differences in P/O ratios do not allow to suggest strong differences in pollen limitation between urban and rural contexts.

In opposition to Brys and Jacquemyn (2012, see also Ushimaru et al. 2014), we found a significantly higher number of flowers in plants from urban origins than from rural origins. Since flower number was the main factor influencing pollinator visitation, plants issued from seeds collected in urban environments seems to have increased investment in pollinator attraction. As far as we know, such evolutionary outcome in urbanised environments had never been empirically shown before. However, in an experimentation involving various natural populations of the forest herb *Phyteuma spicatum*, Weber and Kolb (2011) highlighted that reduced population density due to forest fragmentation was associated to a positive selection of inflorescence size. In another context, high altitudinal conditions compared to lowlands have been associated for several plant species to a greater allocation proportion of the above-ground

biomass to flowers (Fabbro and Körner 2004). High-altitude plants also exhibited a prolonged flowering period associated with longer stigmatic receptivity (Bingham and Orthner 1998; Fabbro and Körner 2004). Higher investment in floral biomass for high-altitude plants has also been shown for autogamous species (Arroyo et al. 2013). Together with other potential factors, like higher water availability or higher seed abortion, the sporadic pollination associated with the importance of outcrossing to avoid too much inbreeding costs in altitudinal condition, was suggested as an explanation to this increased allocation to floral biomass (Fabbro and Körner 2004; Arroyo et al. 2013).

Surprisingly, population U1 (urban seed origin) stands apart from the other urban origins and shares the characteristics of the rural seed origins regarding total number of flowers, macula area and number of ovules. This, together with the low statistical power due to the small number of populations involved in the experiment, explains the non-significant results obtained with the model including the populations as a random intercept. Population U1 was collected in the garden of the Rothschild Hospital in Paris. This location, which has been recently redesigned (2008-2010), displays a high plant diversity and a historical tree patrimony protected by the status EVIP (Espace Vert Intérieur Protégé) (<http://www.complementterre.com/projects/hopital-rothschild>). Two hypotheses could explain these results: (i) the plant diversity of this historical garden is hosting a pollinating fauna similar to rural environments, resulting in low urban evolutionary pressures on *C. muralis* plants, (ii) the plants of *C. muralis* present today in the garden come from seeds that were imported from rural places when the garden was redesigned, and potentially did not had enough time to adapt to urban conditions.

Genetic trade-offs between plant characteristics

A trade-off relationship between the number and size or quality of repeated biological structures (*e.g.* leaves, flowers, fruits *etc.*) is commonly found in nature (Lloyd 1987; Worley and Barrett 2001). Those results are well explained by theoretical models describing for a given amount of resource (energy) an investment in each structure inversely proportional to the number of structures that are produced (Smith and Fretwell 1974; Worley and Barrett 2001). However, failures to find empirically these theoretical trade-offs is also frequent (see Metcalf 2000; Worley and Barrett 2001). We were in this situation when we considered correlations over all data at the individual plant level. Interestingly, at the population level, we found significantly negative relationships between (i) the total number of flowers and macula area, (ii) the total number of flowers and the number of ovules per flower (Figure V.3). A satisfying

explanation to these opposite correlations, between the population level and the individual level within populations, is provided by the elegant mathematical model of van Noordwijk and de Jong (1986). This model highlighted that if, among individuals, there is a relatively small (large) variation in the total amount of available resources compared to the variation in the allocation proportion, then a positive (negative) correlation between two traits involved in a trade-off can be observed. From this model, we can infer the existence of a relatively small variation in the resource allocation proportion (e.g. between total flower number and ovule number per flower) among individuals of the same population, compared to the variation in resource availability among experimental sites. In contrast, a relatively strong variation seems to exist among populations for the resource allocation proportion between the studied traits. The marked difference in trade-off relationships between urban and rural seed origins suggest an evolutionary differentiation in the proportion of resource allocation between the studied traits.

Plant-pollinator interactions

Trade-offs and differentiation between urban and rural populations suggest that urban plants would benefit from producing more, and possibly larger flowers (see previous section). One possible explanation is the existence of a different pollinator abundance, community or individual behaviour between the urban and rural landscape contexts. In Desaegher et al. (2017), no significant differences in the proportion of floral visits by different floral visitors was observed between urban and rural experimental sites, but we detected a significant interaction between and the landscape context of experimental sites for the number floral visits (Figure V.4a) and the mean seed production per plant (Figure V.4b). Thus, a given increase in the number of open flowers leads to a greater gain in seed production in urban sites than in rural sites.

The Charnov's "marginal value theorem" (1976), describing the optimal time for a predator to leave one patch of resource in a patchy environment, fits well to the foraging behaviour of pollinators (Goulson 1999). One of the model prediction is that the number of visits per flower should be nearly independent of total number of flowers in the patches when the travel time is short between floral patches. On the contrary, when the travelling time is longer, the number of visits per flower should increase together with the total number of flowers in the patches (Goulson 1999). This prediction was empirically shown for bumblebees, which were staying longer and visited a higher proportion of inflorescences in fragmented patches (Goverde et al. 2002). Since urban environments are often characterized by increased habitat fragmentation (see the review of Harrison and Winfree 2015) one can assume that flowering

patches are on average more distant from one another in urban sites than in rural sites. Honeybees foraging on *Crepis sancta* have also been shown to be affected by urban fragmentation, with longer capitulum visit durations in patchy plant populations compared to large populations (Andrieu et al. 2009). These predictions from optimal foraging theory models and the latter empirical results are consistent with the observed steeper slopes relating the number of visits and seed production to the number of flowers in urban experimental sites compared to rural sites in *C. muralis*. Moreover, pollinators are all the more likely to select plants or patches with large floral displays that the habitat is more fragmented (as in urban areas), to compensate for the greater flight costs.

If we assume a greater average distance between *C. muralis* patches in urban natural populations compared to rural natural populations, optimal foraging behaviours of pollinators could have selected for a greater investment in flower production in urban than in rural populations. Higher flower production in urban population was at the expense of flower coloration and ovule production per flower.

However, it is important to stress out that inferring from present pollinator behaviours the adaptive role of plant population floral differentiation to past pollinator behaviours is highly hypothetical and our conclusions need to be considered with care (Ollerton 1996; Blanco-Pastor et al. 2015). Future studies of urbanisation effect on plant reproductive systems need to use diachronic pollinator observations in natural plant populations and if possible in areas urbanised for varying times to evaluate how fast evolution is going on in cities. This would help us to better understand plant species adaptability and evolutionary trajectories of plants species in these disturbed environments.

Acknowledgements

This study was financially supported by the Mairie de Paris and the Société Botanique de France, which we both warmly acknowledge. We would like to thank Jacqui Shykoff for her insightful comments and discussions. We are grateful to land managers for allowing us to set up our experiment on their respective sites, particularly David Otamendi, Aubin Garcia, Philippe Barré, Pascale Evrard, Karina Prévost, Christophe Montagnier, Alexandre Mari, Amandine Hansart, Beatriz Decenci re and Céline Riaut . Many thanks and to Esther Debray and Zineb Taha for pollen and ovule counting and to Eric Motard, Xavier Raynaud and Gwendoline Grandin for seed collection. We warmly thank Alexandra Cerqueira de Araujo, Jamie Lozoff, Jan Perret, Lucie Berthon, Jean-Baptiste Bonnin, Yannick Poyat and Alexia Garrido for data collection and their help in the field.

Appendices chapter V

Appendix V.1: Detailed information on origin of seeds and experimental sites

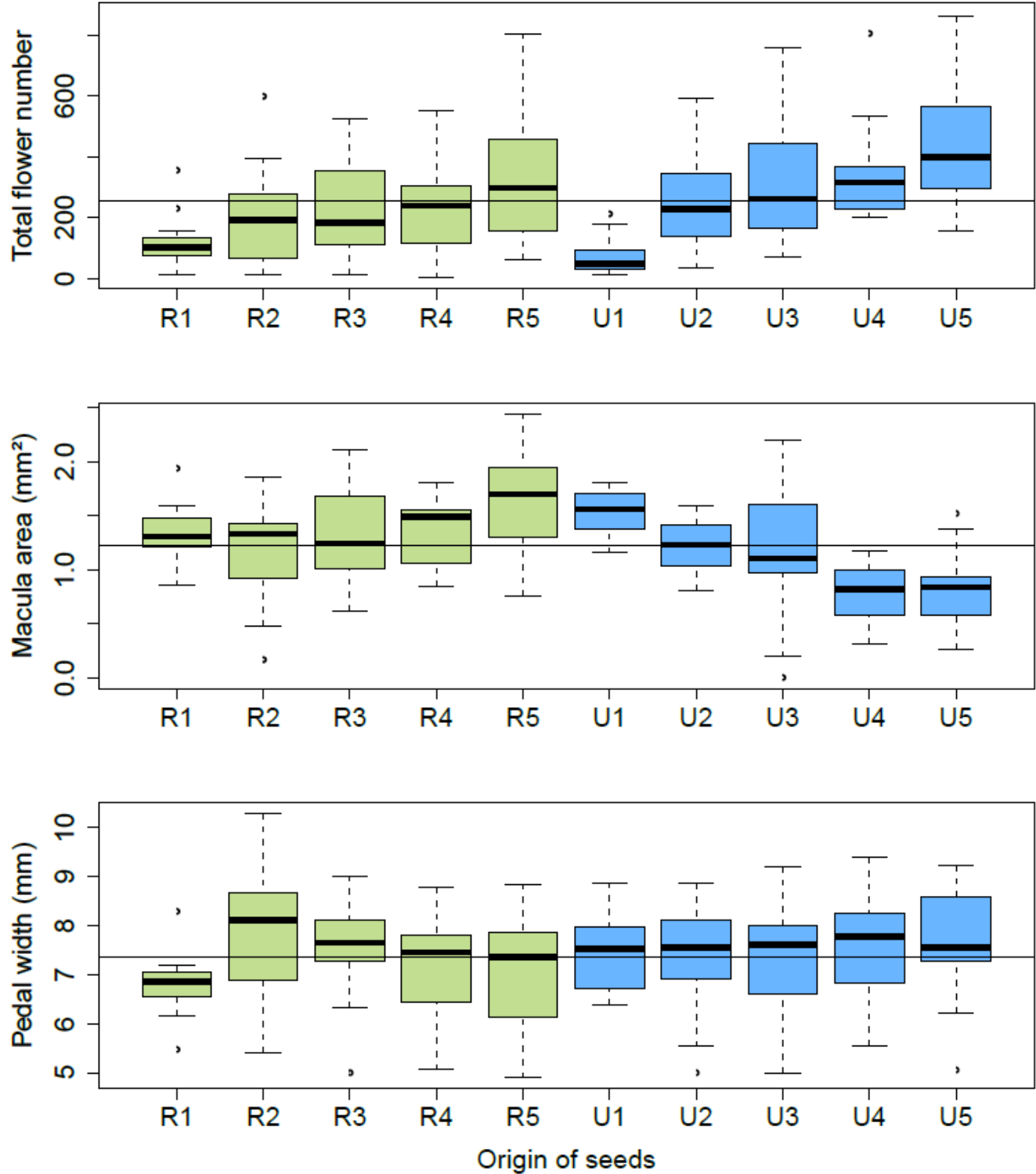
Table V.3 : Summary of the locations where the seeds of *Cymbalaria muralis* were collected and their corresponding code and GPS position.

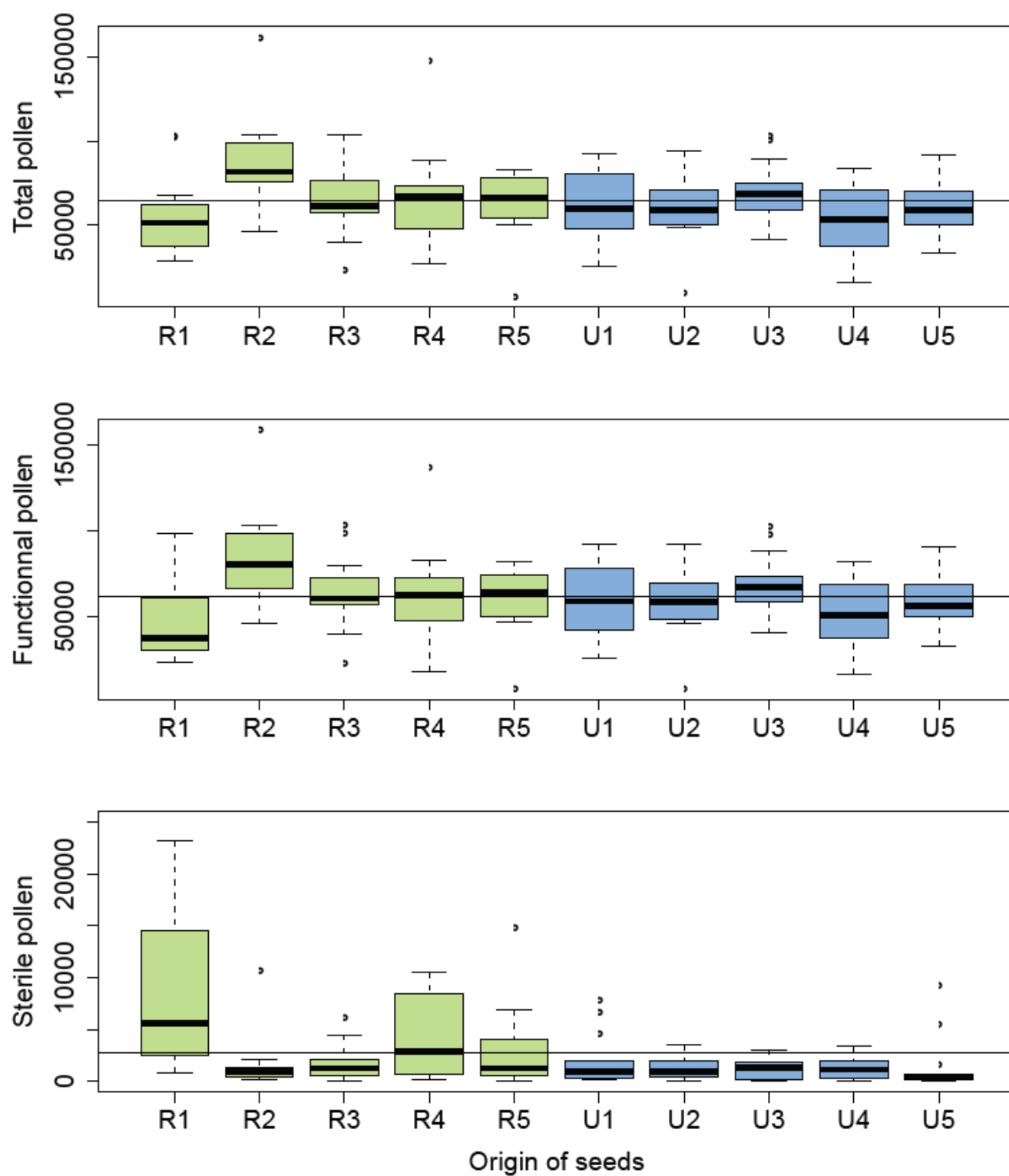
U/R-Origin	Code	Name of the locality (Population)	GPS position
Urban	U1	Parc Hôpital Rothschild	48°50'36.78"N ; 2°23'59.70"E
	U2	Rue Saint-Vincent	48°53'18.95"N ; 2°20'21.05"E
	U3	Jardin de Reuilly-Paul Pernin	48°50'31.00"N ; 2°23'17.55"E
	U4	Jussieu roof of building A	48°50'53.19"N ; 2°21'28.51"E
	U5	Petite Ceinture 15ème	48°50'9.50"N ; 2°16'50.52"E
Rural	R1	Station d'écologie forestière	48°25'14.36"N ; 2°43'41.44"E
	R2	Tigaux	48°49'23.63"N ; 2°54'8.78"E
	R3	Dampierre-en-Yvelines	48°42'21.64"N ; 1°59'11.60"E
	R4	Le Cormier	48°37'46.22"N ; 2°3'28.16"E
	R5	Guignes	48°38'13.14"N ; 2°47'41.98"E

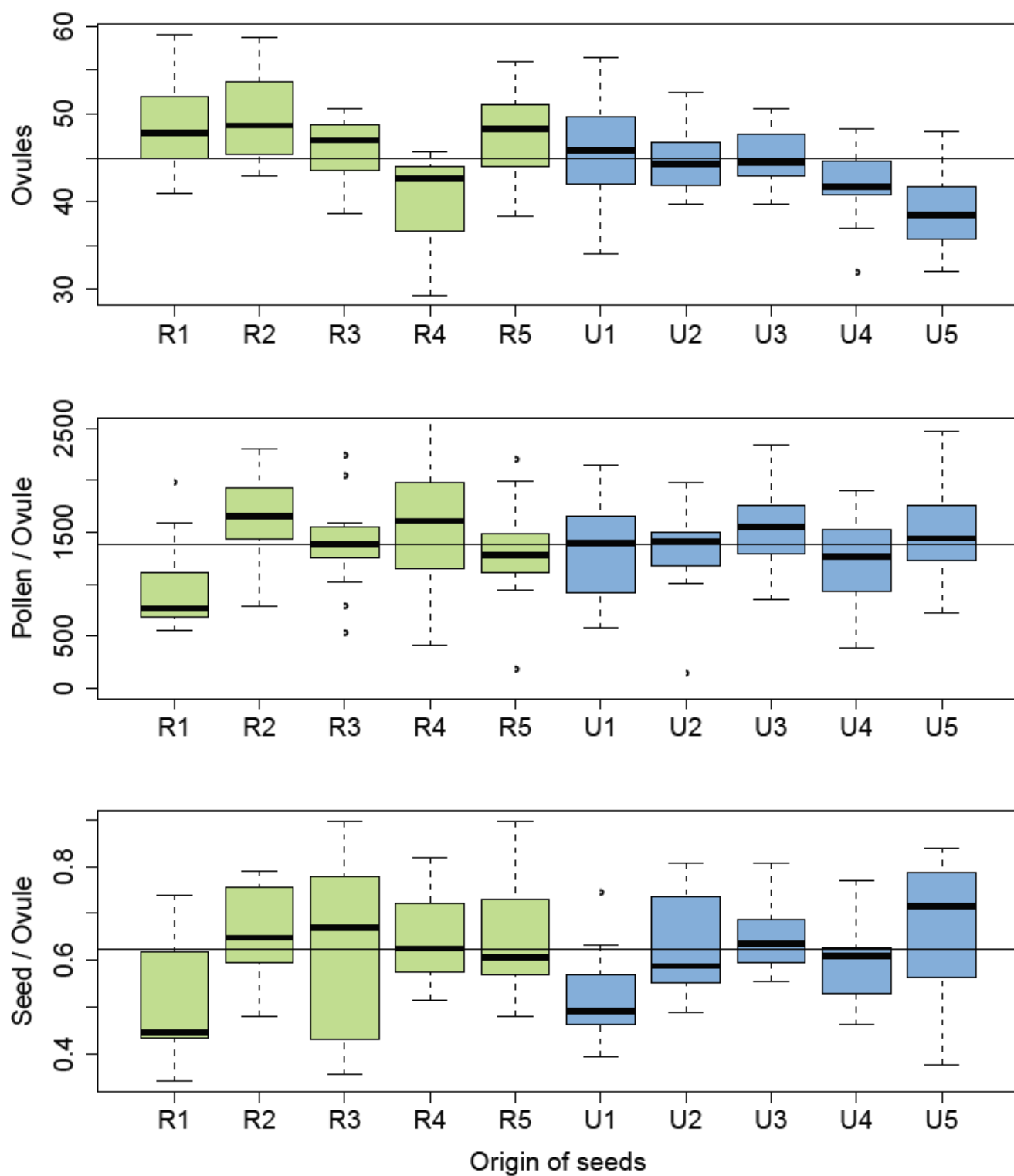
Table V.4 : Summary of the locations where the plants of *Cymbalaria muralis* were transplanted and their GPS position.

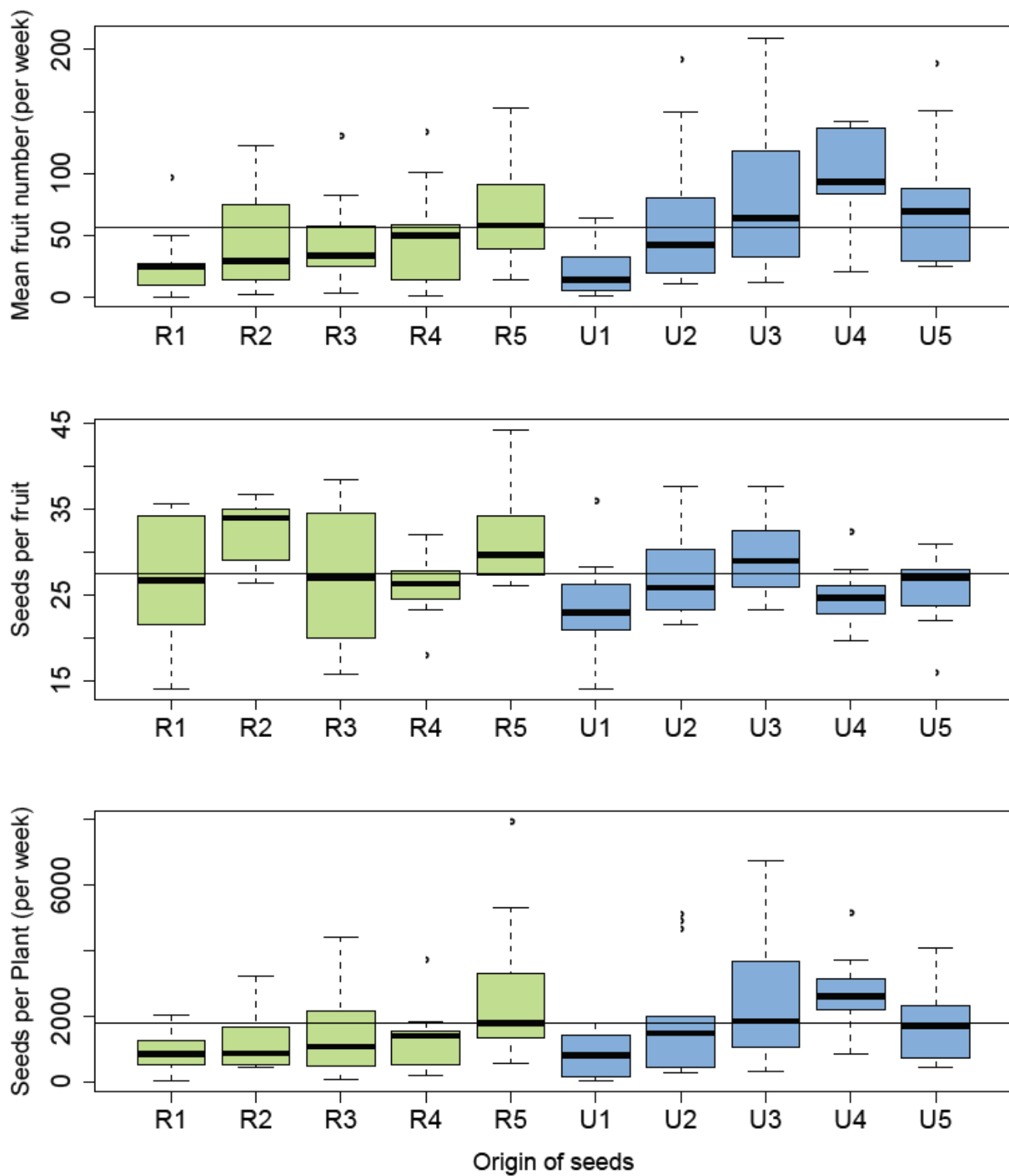
U/R-Site	Name of the locality	GPS position
Urban	Jardin VerTêtu (Cambrai)	48°53'42.50"N ; 2°22'37.65"E
	Parc de Bercy	48°50'10.42"N ; 2°22'56.26"E
	Cité Internationale Universitaire de Paris	48°49'10.94"N ; 2°20'17.93"E
	Jardin Ecologique of the MNHN	48°50'38.10"N ; 2°21'41.05"E
Rural	CEREAP-Ecotron IleDeFrance	48°16'54.84"N ; 2°39'58.88"E
	Campus Orsay	48°42'16.07"N ; 2°10'11.11"E
	PNR de la Haute Vallée de Chevreuse	48°44'17.47"N ; 2° 1'7.32"E
	INRA Versailles	48°48'20.83"N ; 2° 5'5.58"E

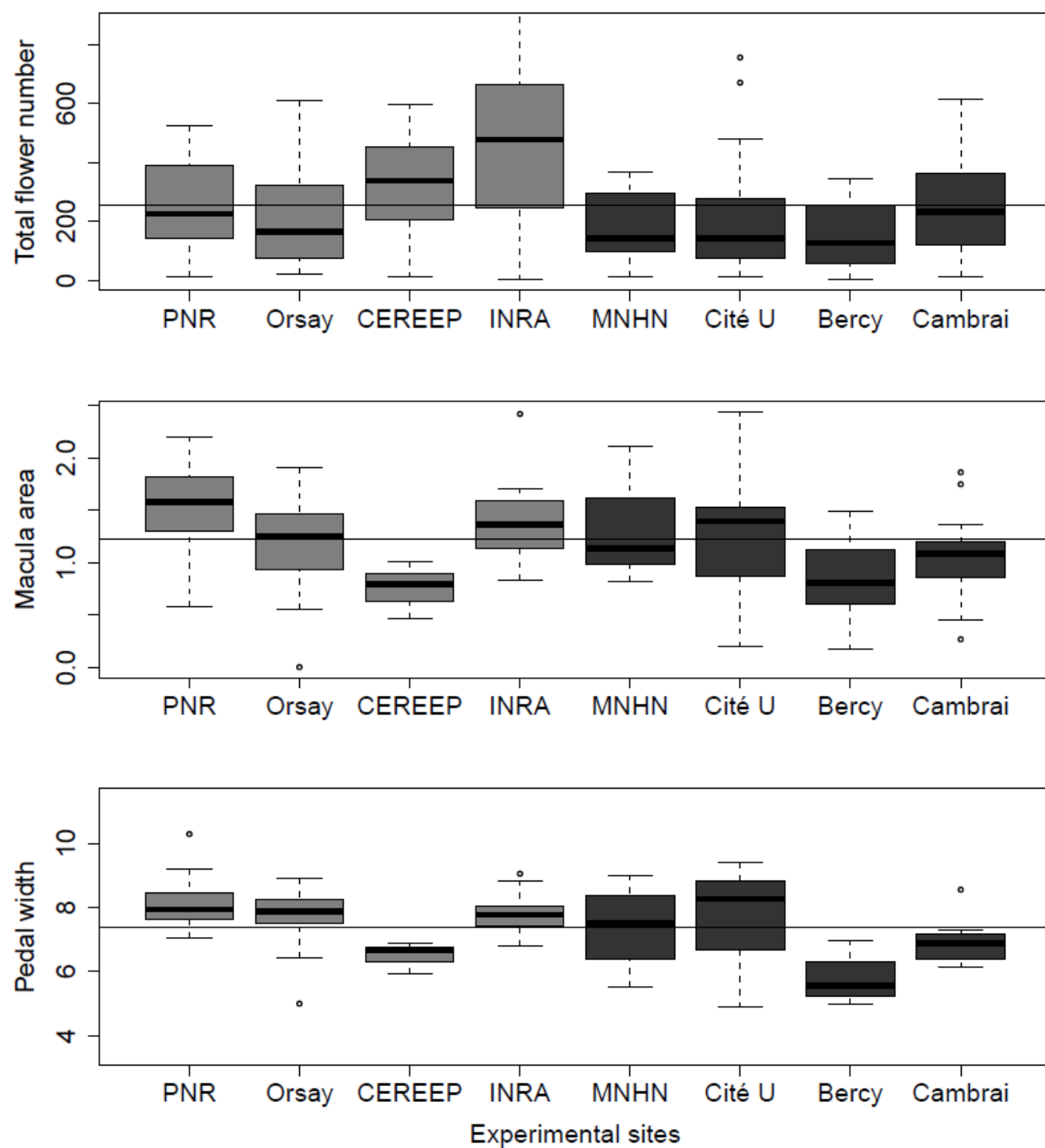
Appendix V.2: Boxplots associated to every plant characteristic according to every population and every experimental site.

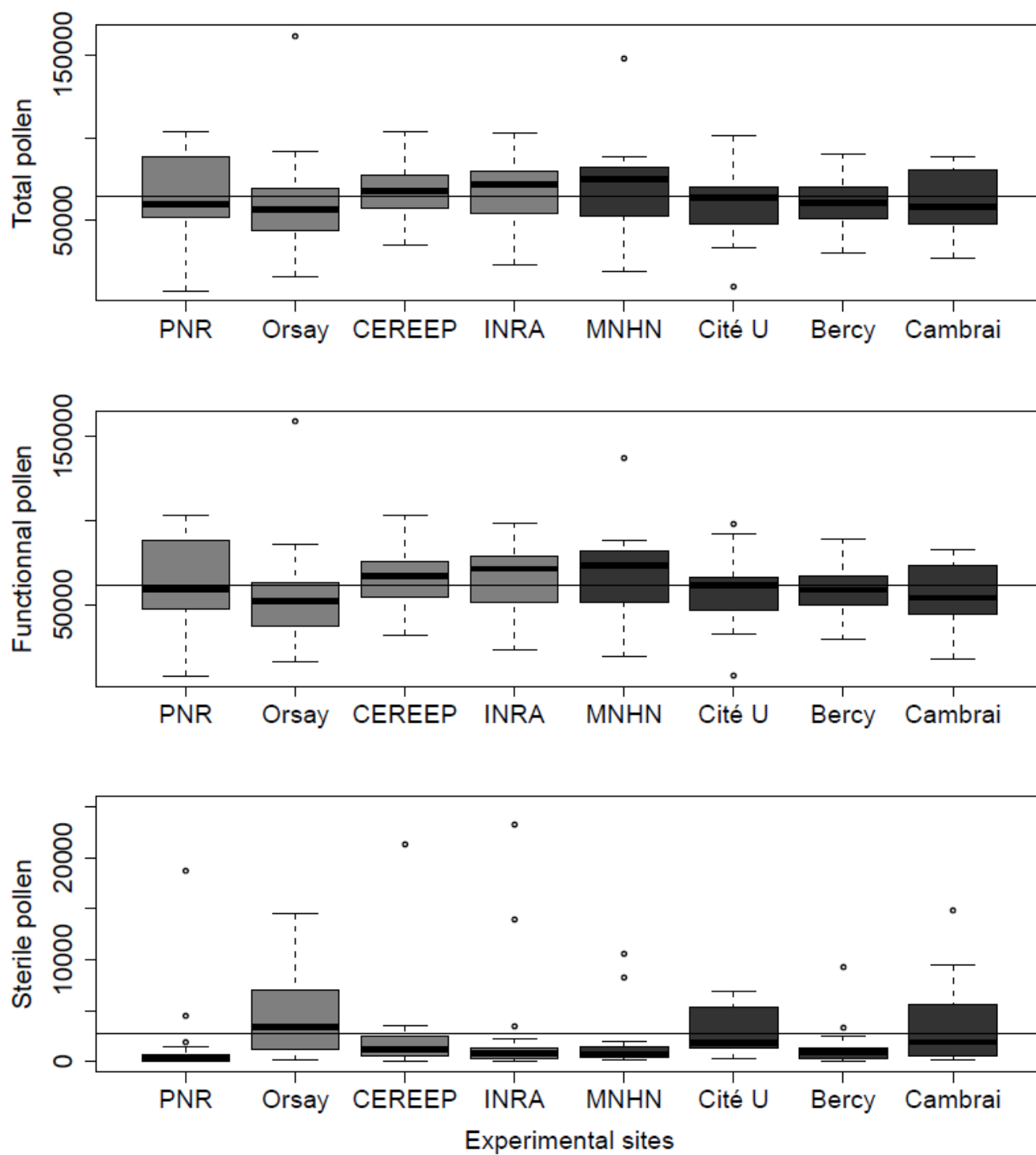


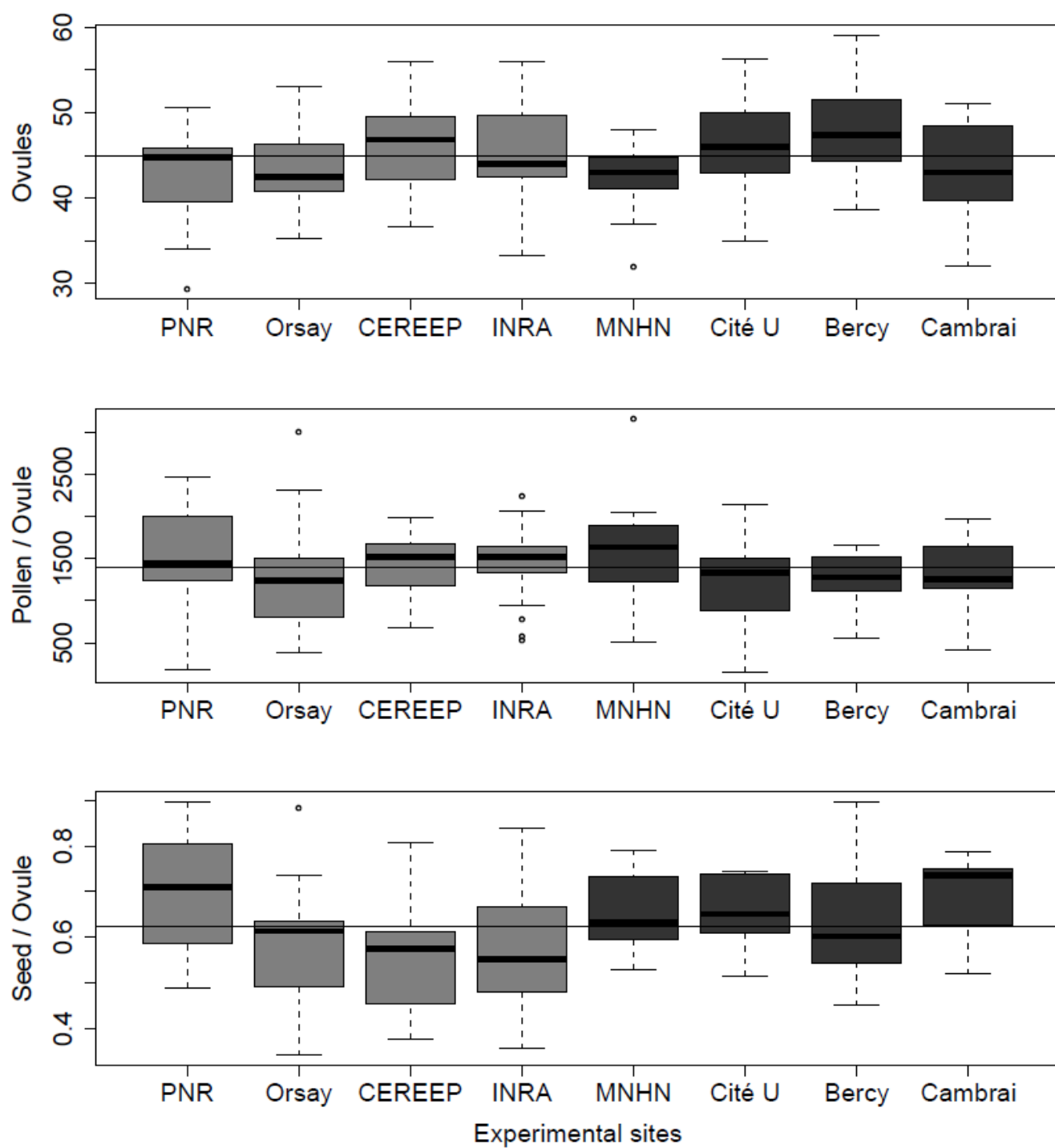












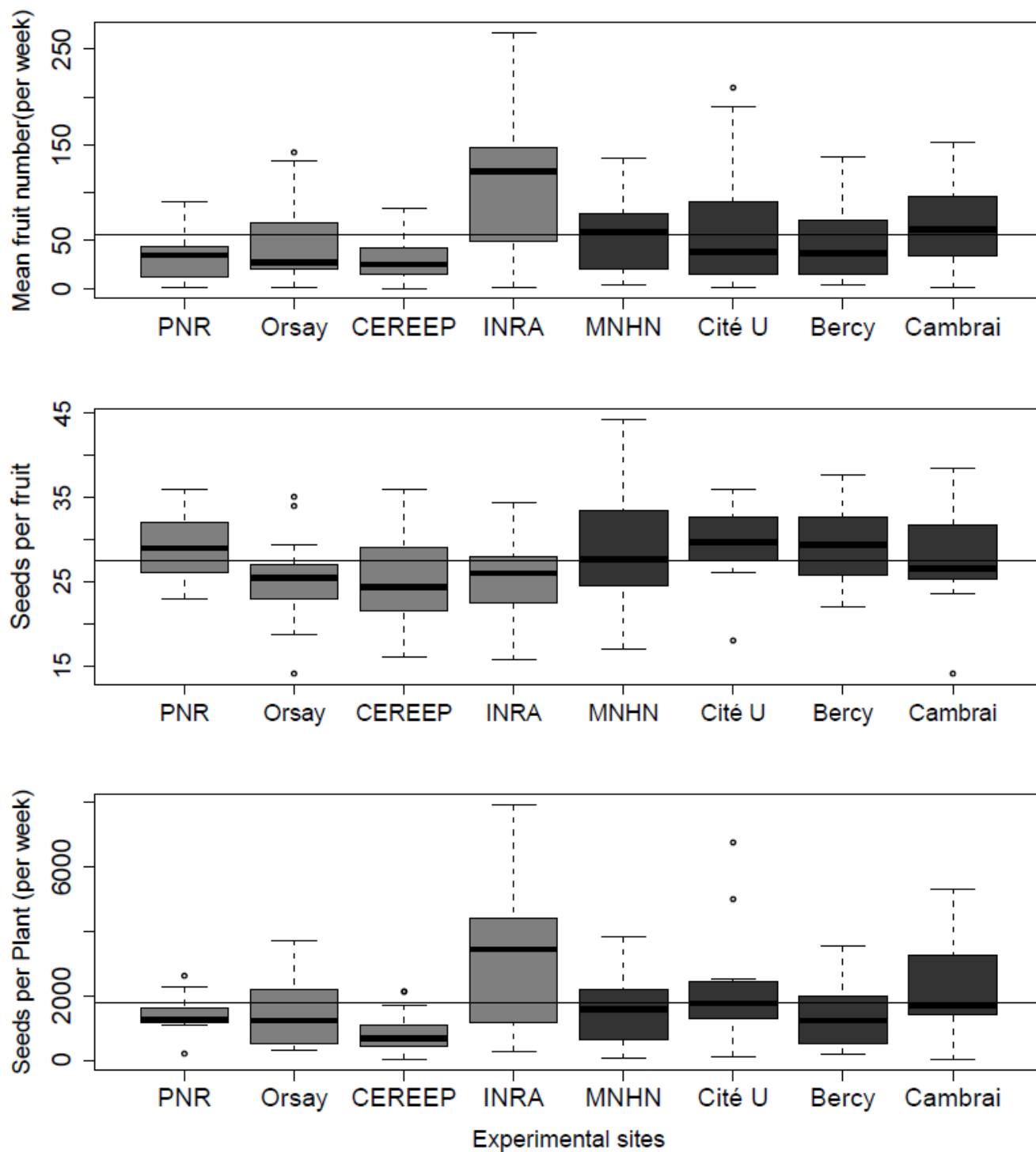


Figure V.5 : Variation in plant characteristics according to every population and every experimental site. Blue and green boxplots are respectively associated to urban (U1 to U5) and rural populations (R1 to R5). Dark grey and light grey boxplots are respectively associated to urban and rural experimental sites. The horizontal line in the graphs represents the mean value for the plant characteristic.

Appendix V.3: Trade-off relationships between the total number of flowers and the number of ovules per flower and between the petal width and the macula area

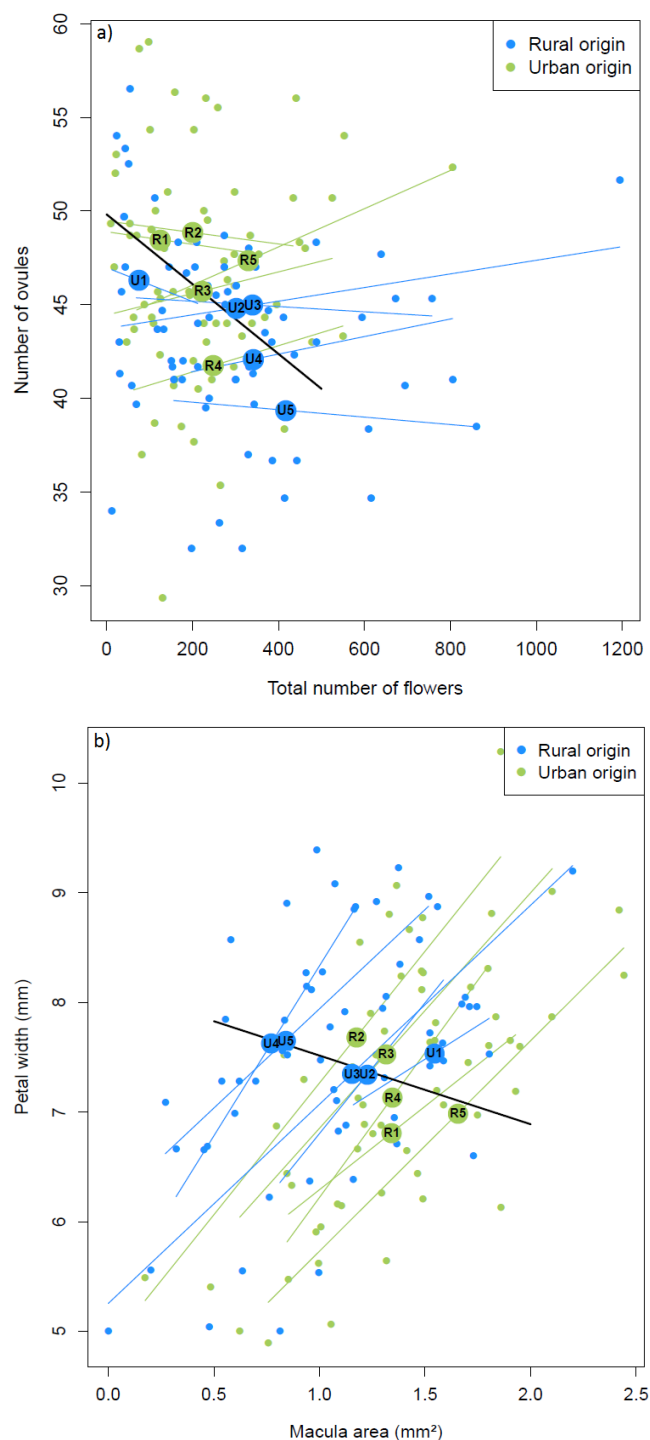


Figure V.6 : Relationship between the total number of flowers and the number of ovules per flower (a) and between the petal width and the macula area (b). The small dots are representing plant individuals and the large dots are the means per seed origin. The blue and green lines are representing the linear relationship within each seed origin and the black line the linear relationship between the mean values per population of both traits.

Chapitre VI : Discussion générale et perspectives

Chapitre VI : Discussion générale et perspectives

VI. 1. Urbanisation et assemblage des communautés de plantes et de pollinisateurs

VI. 1.1. Retour sur les résultats des chapitres II et III

Cette première section de la discussion générale constitue un bref résumé des résultats obtenus dans les chapitres **II** et **III** de cette thèse. L'objectif global de ces chapitres était de déterminer les effets de l'urbanisation sur l'assemblage des communautés de plantes et de pollinisateurs et également identifier les traits, les taxons ou les comportements sur/sous-représentés en ville.

Dans le **chapitre II**, les analyses conduites sur la base de données SPIOLL pour la région Île-de-France nous ont amené à constater l'existence de familles d'insectes positivement, négativement ou bien non clairement affectées par l'accroissement de l'imperméabilisation dans le paysage, indicateur du degré d'urbanisation. Seulement 3 familles d'insectes (Halictidae, Megachilidae, Sphecidae) ont montré une affinité positive à l'imperméabilisation (urbanophiles) contre 21 familles ayant une affinité négative (urbanophobes). La richesse en familles urbanophobes diminue principalement pour les paysages ayant entre 0 et 50% d'imperméabilisation (calculé dans un rayon de 1000 m). Pour l'ensemble des familles urbanophobes, cet effet négatif de l'imperméabilisation est le plus marqué lorsque l'occupation des sols est considérée dans un rayon compris entre 100 et 1500 m. Au contraire, l'effet positif de l'imperméabilisation sur les familles urbanophiles est le plus marqué lorsque l'occupation des sols est considérée au rayon maximal d'analyse de 4000 m. Ce point révèle que l'échelle à laquelle l'urbanisation affecte le plus l'occurrence des familles semble être fonction de l'affinité des taxons à l'imperméabilisation. Par ailleurs, nous avons identifié que la forme de la corolle des espèces végétales, en particulier la présence ou non de tube floral, représente le facteur principal dans la présence des familles d'insectes en un lieu donné. Les familles d'insectes ayant de longues pièces buccales ont une affinité positive pour les corolles tubulées et les insectes à courtes pièces buccales ont une affinité positive pour les corolles non-tubulées. Par ailleurs, l'affinité des familles d'insectes aux corolles en tube s'est avérée positivement corrélée à leur affinité à l'imperméabilisation.

En parallèle, dans le **chapitre III**, l'analyse de la base de données « Sauvages de ma rue », a montré que l'imperméabilisation était un facteur structurant de la composition spécifique des communautés végétales. Nous avons montré que l'urbanisation sélectionne les

communautés végétales sur leur affinité aux fortes températures et aux milieux secs, probablement en réponse à l'existence d'un îlot de chaleur urbain dans les centres-villes. Par ailleurs, l'accroissement du pourcentage de surfaces imperméables dans le paysage est significativement associé d'une part à une réduction de la fréquence d'observation des plantes entomophiles, et d'autre part à une augmentation de la fréquence d'observation des plantes autogames ainsi que des plantes auto-compatibles. Ces résultats suggèrent qu'en région Île-de-France, l'urbanisation est associée à une forte réduction de l'abondance en pollinisateurs. L'analyse de la fréquence d'observation des morphotypes floraux le long du gradient d'urbanisation a révélé une sous-représentation des espèces ayant des fleurs de type 1 (corolle en tube de plus de 1 cm et étamines peu accessibles) et dans une moindre mesure de type 4 (corolle en tube de plus de 1 cm et étamines facilement accessible). Ce résultat s'expliquerait par le fait que les espèces ayant des fleurs de type 1 sont les plus spécialisées, en termes de visites de pollinisateurs, et seraient les premières touchées par une réduction de l'abondance des pollinisateurs en ville. Ce résultat peut aussi suggérer une réduction d'abondance des pollinisateurs fonctionnellement asymétrique, qui toucherait plus particulièrement les pollinisateurs de type 1 (insectes à largeur d'abdomen inférieure à 2 mm, par exemple les petites abeilles solitaires) et/ou 2 (insectes à largeur d'abdomen supérieure à 2 mm et à longues pièces buccales).

VI. 1.2. Synthèse des résultats et interprétations générales

Transition des communautés végétales vers l'autofécondation autonome

Les résultats présentés dans les **chapitres II** et **III** sont cohérents puisque nous observons d'une part une réduction de la richesse en familles de pollinisateurs avec l'urbanisation, et d'autre part une transition des communautés végétales vers une augmentation de la fréquence d'espèces ayant la capacité de s'autoféconder et moins dépendantes des insectes pour la pollinisation. La perte de diversité spécifique des pollinisateurs peut être à l'origine d'une disparition en chaîne des espèces végétales étant obligatoirement pollinisées par les taxons concernés. Elle peut également favoriser l'augmentation des taux d'autofécondation des espèces végétales ayant une capacité d'autofécondation autonome (Figure VI.1). L'augmentation des taux d'autofécondation peut être directement la conséquence de l'extinction d'un pollinisateur (Figure VI.1, plante n°1), ou bien indirectement, par une réduction de la compétition entre les taxons de pollinisateurs pour la ressource florale (nectar, pollen) d'autres espèces végétales (Figure VI.1, plante n°5).

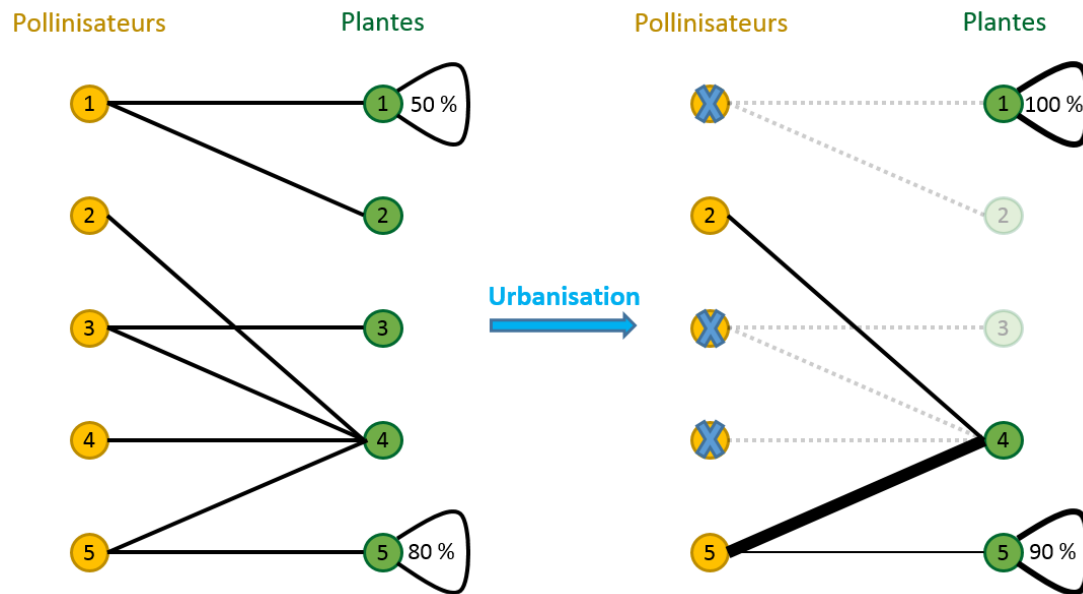


Figure VI.1 : Effets théoriques possibles de l’extinction de taxons de pollinisateurs, induite par l’urbanisation, sur l’extinction ou la modification du système de reproduction des espèces végétales. Chaque rond numéroté représente une espèce de pollinisateurs ou de plantes à fleurs. Les croix bleues indiquent les pertes de pollinisateurs induites par l’urbanisation. Les boucles représentent la capacité d’autofécondation autonome des espèces végétales et les chiffres donnent les proportions de graines produites issues d’autofécondation. La taille des traits représente l’intensité des relations de pollinisation.

L’augmentation du taux d’autofécondation peut aboutir à une réduction du succès reproducteur par dépression de consanguinité, ce qui peut conduire à une réduction de la taille des populations jusqu’à leur extinction. Ce dernier point est exacerbé par l’environnement urbain, souvent plus fragmenté que l’environnement rural, ayant pour effet d’accroître l’isolement des populations, et donc la consanguinité par croisements entre apparentés (Jacquemyn et al. 2012). Le risque d’extinction dans ces populations petites et isolées est également accru à cause des stochasticités démographique et environnementale (voir la synthèse de Kearns et al. 1998). Ainsi la perte de taxons de pollinisateurs peut également accroître la probabilité d’extinction pour les espèces végétales ayant un système de reproduction mixte.

Une étude menée en Grande-Bretagne et aux Pays-Bas (Biesmeijer et al. 2006) a mis en lumière un déclin parallèle des pollinisateurs et des espèces végétales obligatoirement pollinisées par les insectes, avec une réduction moins marquée pour les espèces ayant la capacité de s’autoféconder (par rapport au espèces entomophiles et allogames strictes) et une forte augmentation de l’occurrence des espèces pollinisées de façon abiotique. Bien que les causes de cette crise de pollinisation n’aient pas été étudiées, on peut néanmoins souligner que ces deux pays présentent des paysages très densément peuplés et artificialisés (Biesmeijer et al.

2006). Ces résultats, joints à nos propres résultats, suggèrent que l'urbanisation pourrait bien être l'une des causes principales du déclin des pollinisateurs et d'une transition dans la composition des communautés végétales, vers des communautés composées d'espèces capables d'autofécondation autonome ou à pollinisation abiotique, plutôt que composées d'espèces entomophiles, dominantes dans les milieux naturels.

Il faut cependant rappeler que la relation de cause à effet existant entre l'extinction d'espèces de pollinisateurs et l'extinction d'espèces entomophiles est complexifiée par la structuration du réseau pollinisation.

Stabilité des réseaux d'interactions plantes-pollinisateurs

Les relations exclusives entre une espèce pollinisatrice et une espèce végétale sont rares et les relations de pollinisation s'inscrivent généralement dans un réseau d'interactions complexe (Kearns et al. 1998). La plupart du temps, une espèce végétale peut être visitée par plusieurs espèces de pollinisateurs, et une espèce de pollinisateur peut elle-même visiter plusieurs espèces végétales (Bascompte et al. 2003). Par simulation, si les espèces de pollinisateurs venaient à disparaître de façon aléatoire, ce ne serait qu'à partir de 70-80% de perte des espèces de pollinisateurs qu'un fort effet sur l'extinction des plantes serait observé, suggérant que la structure des réseaux plantes-pollinisateurs confère une stabilité face aux extinctions en chaîne des plantes et des pollinisateurs (Memmott et al. 2004). La tolérance du réseau aux extinctions est d'autant plus marquée s'il s'agit d'espèces spécialistes qui disparaissent en premier. Au contraire, si ce sont les plus généralistes qui disparaissent d'abord, suivies des plus spécialistes, la relation existant entre le pourcentage d'extinction de pollinisateurs et celui des plantes est quasiment linéaire (Memmott et al. 2004). L'une des propriétés des réseaux d'interactions plantes-pollinisateurs, par rapport à d'autres réseaux (par exemple les réseaux trophiques), est leur topologie emboîtée (Thébault and Fontaine 2010). Cette propriété correspond au fait que les plantes généralistes interagissent généralement avec les pollinisateurs spécialistes, alors que les plantes spécialistes interagissent plutôt avec les pollinisateurs généralistes (Figure I.4). Ainsi, si par exemple un pollinisateur spécialiste venait à disparaître, l'espèce de plantes généraliste qu'il visitait le sera toujours par les pollinisateurs restant. Une autre propriété conférant de la stabilité aux réseaux plantes-pollinisateurs serait le faible niveau de compartimentation, qui permettrait d'éviter l'extinction en chaîne d'un groupe d'espèces végétales et d'un groupe d'espèces de pollinisateurs fortement interconnectés (Memmott et al. 2004; Thébault and Fontaine 2010).

A l'inverse de ces études empiriques et théoriques montrant une stabilité de la fonction de pollinisation face aux perturbations (Bascompte et al. 2003 ; Memmott et al. 2004 ; Thébault and Fontaine 2010), nos résultats et interprétations suggèrent plutôt une disparition en chaîne au sein des communautés de plantes et de pollinisateurs, induite par l'urbanisation. Ceci va cependant dans le sens de la synthèse bibliographique de Hadley and Betts (2011) qui soulignent les effets marqués de la fragmentation sur la fonction de pollinisation, malgré la tolérance de ces réseaux. En effet, si la perte de pollinisateurs se fait de façon aléatoire, selon les résultats de simulation de Memmott et al. (2004) il faudrait attendre une réduction de près de 80% de perte d'espèces pollinisatrices des villes en comparaison à celle du milieu rural pour voir des effets marqués sur la perte de plantes entomophiles. Cette prédiction semble néanmoins peu réaliste (voir Figure II.1).

Comme l'urbanisation peut affecter à la fois l'abondance des plantes et celle des pollinisateurs de façon indépendante, il est possible que cela impacte plus fortement que prévu la tolérance des réseaux de pollinisation face aux extinctions en chaîne. Par ailleurs, on peut s'interroger sur le caractère aléatoire des pertes d'espèces pollinisatrices, car l'urbanisation pourrait induire une perte plus marquée de certain morphotype fonctionnel et ainsi causer plus rapidement que prévu des extinctions espèces entomophiles.

Relations fonctionnelles et urbanisation

Expérimentalement il a été montré que la diversité fonctionnelle des pollinisateurs est positivement corrélée à la diversité en espèces végétales (Fontaine et al. 2006). Les contraintes fonctionnelles comme la taille du corps de l'insecte ou son comportement ainsi que la forme des corolles ou la quantité de pollen et de nectar sont des facteurs cruciaux pour la compréhension de la structuration des relations plantes-pollinisateurs (Stang et al. 2006). Comme le confirme notre travail, il semble que l'urbanisation puisse favoriser certaines espèces de plantes et de pollinisateurs en fonction de leurs traits fonctionnels. En effet, il a déjà été montré que les communautés végétales urbaines pouvaient présenter d'une part une diversité phylogénétique plus réduite, avec en outre des espèces fonctionnellement similaires (Knapp et al. 2008a), et présenter d'autre part une réduction du degré de spécialisation des communautés d'insectes floricoles pour les espèces végétales avec l'urbanisation (Deguines et al. 2016). Les résultats présentés dans le **chapitre II**, montrant que l'affinité des familles d'insectes à l'urbanisation est significativement corrélée à leur affinité aux corolles en tube, sont en accord avec ce dernier constat, fait sur les insectes floricoles à l'échelle de la France. Les espèces ayant de longues pièces buccales ont généralement une préférence pour les corolles en tube, mais

elles ont néanmoins la capacité de visiter des corolles non-tubulées si les espèces à corolles en tubes viennent à manquer dans le milieu, et peuvent donc être considérées comme des généralistes (Fontaine et al. 2006).

En prenant en compte de nombreux facteurs paysagers, météorologiques, saisonniers et floraux, nous avons montré que la forme des corolles était le facteur principal impliqué dans l'observation sur les fleurs des familles d'insectes. Dans une expérience menée sur cinq espèces végétales, Geslin et al. (2013) ont mis en évidence une réduction significative d'un indice de succès reproducteur pour deux espèces (*Matricaria inodora* et *Sinapis arvensis*) ayant des corolles « en assiette » - ou pseudo-corolle dans le cas de *Matricaria* - avec le niveau croissant d'urbanisation, alors qu'aucune différence n'était observée pour les espèces à corolles « en tube ». Bien que les critères de distinction des corolles tubulées ou non-tubulées diffèrent légèrement entre notre étude (**Chapitre II**) et celle de Geslin et al. (2013), cette différence de succès reproducteur pourrait s'expliquer par la perte de taxons de pollinisateurs ayant une affinité positive pour les corolles non-tubulées avec l'urbanisation. Ce résultat est bien en accord avec la mise en évidence d'une réduction de l'abondance des espèces d'abeilles ayant des petites tailles de corps (tribu des Halictini) et une relative tolérance des abeilles plus trapues (Geslin et al. 2016), ainsi qu'une réduction des visites florales effectuées par les insectes ayant de petites pièces buccales (Geslin et al. 2013) le long du gradient d'urbanisation de la région parisienne. La réduction de la fréquence d'occurrence des espèces végétales ayant des corolles de type 1 (Figure III.2) avec l'urbanisation (et dans une moindre mesure de type 4), montrée dans le **chapitre III**, pourrait également s'expliquer par la réduction de l'abondance des pollinisateurs de petite taille (pollinisateurs de type 1). La réduction d'abondance des pollinisateurs de type 1 avec l'urbanisation pourrait avoir une incidence particulièrement néfaste sur la reproduction des espèces végétales de type 1 car les autres types floraux sont plus généralistes et peuvent malgré tout être pollinisés par les autres types de pollinisateurs. Néanmoins cette interprétation n'exclut pas une réduction globale du succès reproducteur des espèces végétales de type 2, 3 et 5 en réponse à la perte du pollinisateur de type 1 avec l'urbanisation.

Nos résultats peuvent s'expliquer par deux hypothèses distinctes mais non-exclusives. La **première hypothèse** est que le milieu urbain sélectionne directement les espèces insectes ayant des préférences pour les corolles tubulées, ou contre-sélectionne les insectes ayant une préférence pour les corolles non-tubulées. Plusieurs raisons peuvent expliquer cette sélection fonctionnelle directe des insectes. Les insectes ayant de longues pièces buccales ou un petit corps ont la possibilité de visiter une plus large diversité de formes florales et auront ainsi une

plus grande **flexibilité de butinage** que les insectes ayant un corps plus large et une des pièces buccales plus courte (voir par exemple Fontaine et al. 2006). Or en milieu urbain les espaces verts semblent présenter une diversité fonctionnelle végétale amoindrie par rapport aux zones plus rurales (Knapp et al. 2008) et favoriseraient ainsi les insectes ayant des comportements de butinage plus flexibles ou spécialisés sur les fleurs majoritairement présentes en ville. Ceci est en accord avec les résultats de Biesmeijer et al. (2006) montrant que les pollinisateurs spécialistes et ayant des besoins spécifiques en habitats sont plus enclins à disparaître que les pollinisateurs généralistes. Rappelons qu'il existe de fortes relations allométriques entre les différents traits des insectes. Une relation entre la taille du corps et (i) la longueur des pièces buccales (Stang et al. 2006) et (ii) la **capacité de vol à grande distance** (Greenleaf et al. 2007) a ainsi été montrée chez les abeilles. La capacité de vol à grande distance confèrerait aux insectes une plus grande tolérance à la fragmentation des espaces verts en milieu urbain (Geslin et al. 2013). Par ailleurs, il a été montré que les taxons ayant de longues pièces buccales (donc avec une flexibilité de butinage plus grande) sont également des taxons ayant la **capacité de nicher dans des cavités anthropiques** (Fortel et al. 2014), plus fréquemment observées en ville.

La seconde hypothèse pour expliquer la relation positive entre l'affinité des taxons aux corolles en tube et l'affinité à l'urbanisation serait que la proportion des espèces végétales (spontanées ou non) ayant des corolles en tubes, par rapport aux espèces n'ayant pas ce caractère, est plus importante en ville qu'en milieu rural. Ceci proviendrait d'un **biais de distribution des espèces ayant des corolles tubulées**, dû éventuellement à une préférence anthropique pour l'introduction en ville d'espèces à corolles tubulées par rapport aux corolles non-tubulées. La plus grande disponibilité des espèces à corolles en tubes en ville pourrait ainsi donner un avantage, par compétition pour la ressource florale, aux pollinisateurs ayant de longues pièces buccales ou ayant un corps moins large par rapport aux autres insectes. Néanmoins, l'analyse présentée dans le **chapitre III** sur la flore des rues ne révèle pas de surreprésentation des plantes ayant des corolles en tubes en ville en comparaison aux milieux plus ruraux. Ceci nous conduirait donc à invalider cette seconde hypothèse. Cependant l'analyse de la répartition des morphotypes floraux sur l'ensemble de la flore (spontanée ou non) est nécessaire avant de pouvoir écarter cette hypothèse au profit de l'autre.

Les deux hypothèses présentées ici ne sont pas mutuellement exclusives car il existe possiblement des ***cas intermédiaires avec une dynamique évolutive*** entre les plantes spontanées et les pollinisateurs sauvages. En effet, le constat réalisé sur la préférence des pollinisateurs urbanophobes pour des corolles non-tubulées peut induire un désavantage sélectif

pour les espèces végétales spontanées ayant ce type de corolles (voir Geslin et al. 2013). Au fil des années, ce désavantage sélectif des espèces ayant des corolles non-tubulées pourrait conduire à leur disparition progressive du milieu urbain et constituerait une raison possible pour expliquer une surreprésentation des plantes ayant des corolles en tubes en ville (point de départ de l'hypothèse 2).

VI. 1.3. Freins des interprétations et perspectives scientifiques

Avec les jeux de données sur les plantes et les pollinisateurs dont nous disposons il n'est pas possible de tester si l'urbanisation induit une relation de cause et de conséquence entre la perte de l'entomophilie et la perte de taxons de pollinisateurs ou bien si d'autres facteurs liés à l'urbanisation n'affectent pas indépendamment les communautés de plantes et les communautés de pollinisateurs (voir Biesmeijer et al. 2006). Il en est de même pour la relation positive entre l'affinité des familles de pollinisateurs à l'imperméabilisation et l'affinité de ces familles pour les corolles en tubes. Néanmoins, tout au long des **chapitres II** et **III** nous avons eu la volonté d'étudier des traits fonctionnels traduisant les interactions entre les plantes et les pollinisateurs afin de pouvoir réaliser des inférences fonctionnelles entre les communautés de plantes et de pollinisateurs.

Il existe encore très peu de preuves directes d'une relation entre la fragmentation des espaces verts en ville et la sélection des taxons de pollinisateurs ayant des capacités de vols à grande distance. Cette hypothèse s'appuie essentiellement sur des relations allométriques entre la taille des abeilles et leur capacité de vol (Steffan-Dewenter and Tscharntke 1999 ; Steffan-Dewenter et al. 2002 ; Warzecha et al. 2016). A contrario, l'hypothèse d'un trade-off entre la capacité de survie dans des petits patchs et la capacité de vol à grande distance a déjà été proposée (Harrison and Winfree 2015), sans toutefois que cette hypothèse ait été testée à notre connaissance. Encore très peu d'études se sont concentrées sur les effets de la fragmentation sur d'autres visiteurs floraux que les abeilles, comme les syrphes ou encore les lépidoptères (voir Baguette et al. 2003 ; Krauss et al. 2003 ; Meyer et al. 2009). De plus, les interprétations uniquement basées sur la relation entre la taille du corps et la capacité de vol restent entièrement spéculatives puisqu'il existe potentiellement des effets confondants avec d'autres caractéristiques des taxons. Par exemple, il existe une forte corrélation entre la taille du corps et la taille des pièces buccales (Stang et al. 2006). Or la taille des pièces buccales pourrait constituer un atout majeur pour la tolérance des taxons floricoles au milieu urbain. Il faudrait donc évaluer l'importance relative de la **capacité de vol à grande distance** et de la **flexibilité**

de butinage (conférées par la taille du corps ou la taille des pièces buccales) par rapport à la **tolérance des taxons à l'urbanisation**.

Notre étude suggère qu'il n'existe pas une unique échelle spatiale à laquelle le paysage affectait le plus la présence des taxons. En effet, une grande variabilité a été détectée entre les effets des différents usages des sols et indices de paysage (proportion surfacique, nombre de patches et densité de bordures). Il semblerait que les insectes urbanophiles soient affectés par la proportion d'imperméabilisation dans le paysage à plus large échelle que les insectes urbanophobes. Ces résultats vont dans le sens d'une plus grande tolérance à l'urbanisation pour les taxons ayant la capacité de prospecter le paysage à longue distance. Néanmoins nos résultats sont à interpréter avec précaution puisque les taxons ont été définis au niveau de la famille et masquent probablement une forte variabilité interspécifique et inter-genre. Ce faible niveau de résolution taxonomique pourrait expliquer en partie la difficulté de détection d'une l'échelle de paysage « caractéristique de chaque taxon ». Rappelons que la notion d'échelle spatiale « caractéristique d'un taxon » est issue des études de corrélation multi-échelle et représente un paradigme relativement récent (Steffan-Dewenter et al. 2002 ; Westphal et al. 2003 ; Westphal et al. 2006 ; Meyer et al. 2009 ; Jackson and Fahrig 2012 ; Jackson and Fahrig 2015). Cette nouvelle vision a d'importantes limites puisque il a été décelé que la structure du paysage pouvait avoir de fortes conséquences sur l'identification d'échelles caractéristiques sans que cela soit imputable à une capacité biologique de prospection du paysage à une certaine échelle spatiale (Dormann and Seppelt 2007). Ce dernier point souligne ainsi la difficulté à détecter une possible sélection des taxons sur leur capacité de vol face à des niveaux croissants de fragmentation ou le long d'un gradient paysager (comme par exemple l'urbanisation).

Par ailleurs, l'identification d'un possible trade-off entre la capacité de survie dans des petits patches et la capacité de vol à grande distance (Harrison and Winfree 2015) nécessite d'obtenir des données suffisamment précises sur la phénologie, l'abondance et la richesse végétale dans un paysage, ce qui représente une tâche d'une grande envergure. Selon la disponibilité florale au cours de l'année, le comportement des insectes pollinisateurs pourra être différent, passant de comportement généraliste à spécialiste ou encore de butinage à petites ou grandes distances du lieu de nidification. Lorsqu'on étudie la fragmentation des habitats, il s'avère que la nature de la matrice paysagère (zones entre les habitats) peut grandement affecter la mobilité des organismes (Kindlmann and Burel 2008). La matrice paysagère en ville est essentiellement constituée de béton et de goudron, avec une forte circulation routière. Ainsi, les décisions prises par les pollinisateurs peuvent également être le résultat d'un compromis entre

disponibilité des ressources et le risque de mortalité lors de la traversée de la matrice paysagère (Turcotte and Desrochers 2003; Hadley and Betts 2011).

A l'avenir il serait intéressant d'installer des dispositifs expérimentaux dans des zones nouvellement urbanisées visant à suivre sur plusieurs années l'évolution parallèle des communautés de plantes et de pollinisateurs. Ces suivis temporels constitueraient potentiellement des preuves directes de mécanismes sélectifs et de l'ordre d'apparition des événements modifiant fonctionnellement ces communautés. Parallèlement au suivi des communautés, il serait également très instructif de suivre la démographie de plusieurs espèces végétales, les modifications de leur système de reproduction et de déterminer le degré d'héritabilité de ces modifications. Les installations de ruches d'abeilles domestiques ou de nichoirs à insectes (d'espèces telle que *Osmia sp.*) représentent également des opportunités d'expérimentation synchronique et/ou diachronique des communautés de plantes et de pollinisateurs, notamment pour tester l'influence d'une augmentation de l'abondance d'une population d'abeilles ayant de longues pièces buccales sur la démographie des espèces de plantes sauvages à corolles en tubes ou non. Ces dispositifs expérimentaux nous instruiroient également sur les relations de compétitions interspécifiques entre les abeilles sauvages et domestiques (Geslin et al. 2017).

VI. 2. Urbanisation et évolution des traits de reproduction des espèces végétales

VI. 2.1. Synthèse des résultats et interprétations générales

Les **chapitres IV et V** présentent les résultats issus de l'expérience de transplantation réciproque impliquant initialement quatre espèces végétales, *Cymbalaria muralis*, *Geranium robertianum*, *Geum urbanum* et *Prunella vulgaris*. Comme attendu, avec des architectures florales et des morphotypes floraux distincts (voir morphotypes floraux **chapitre III**), ces quatre espèces ont été visitées par des catégories différentes de pollinisateurs. *Cymbalaria muralis* (morphotype floral 2 de la Figure III.2) a été visitée principalement par des petites abeilles et par des bourdons. *Prunella vulgaris* (morphotype 3 ou 4) a été visitée majoritairement par des bourdons, alors que *G. urbanum* (morphotype 5) a été visitée par des petites abeilles et des syrphes.

Comme l'espèce *G. robertianum* n'a pas bien fleuri l'année de l'expérimentation (2015), les individus ont à nouveau été observés au mois de juin de l'année suivante (2016) en utilisant le même protocole. Bien que les résultats n'aient pas été inclus dans l'article du **chapitre IV**, ils sont néanmoins intéressants à interpréter du point de vue des relations entre

morphotypes floraux et visites des pollinisateurs et ils font l'objet de l'**encadré VI.1**. Cet encadré est également l'occasion de présenter graphiquement des résultats évoqués dans le Chapitre IV concernant les trois autres espèces.

La majeure partie des fleurs de *G. robertianum* (morphotype 3) sont visitées par des bourbons (40%) ou des grosses abeilles solitaires (37,4%). Néanmoins, lorsqu'on considère le nombre d'interactions insecte-fleur, on considère le nombre de fois où une plante de *G. robertianum* a été visitée au moins une fois pendant 10 min par une catégorie d'insectes, les pourcentages sont fortement modifiés. Les individus de *G. robertianum* sont presque équitablement visités par les petites abeilles (27,4 %), les bourdons (27,4 %) et les syrphes (22,1%) (Figure VI.2).

La similitude des proportions de visites florales entre *P. vulgaris* et *G. robertianum* est à mettre en relation avec la similitude de leur morphologie florale (morphotype 3). Pour les deux espèces, les ressources nectarifères ne sont accessibles que pour des pollinisateurs ayant de longues pièces buccales ou ayant une petite taille de corps alors que les étamines restent accessibles pour la plupart des pollinisateurs ayant des petites pièces buccales (*e.g.* les syrphes). Cependant, par rapport à *G. robertianum*, *P. vulgaris* présente des étamines un peu moins accessibles et possède des corolles en tubes plus profondes, pouvant expliquer légèrement moins de visites de syrphes et proportionnellement plus de visites de bourdons. Chez *C. muralis*, la proportion importante de visites de petites abeilles et d'abeilles ayant de longues pièces buccales s'explique par la présence d'un éperon nectarifère rendant difficile l'accès au nectar pour les visiteurs n'ayant pas ces attributs. Contrairement aux trois autres espèces, très peu de visites de bourbons ont été observées chez *G. urbanum*. Un constat similaire avait déjà été fait par Bonnier (1879) sur des populations de *G. urbanum* se trouvant dans les environs de Paris, au contraire de certaines populations de *G. urbanum* en Scandinavie produisant également plus de nectar. Comme les étamines sont plus facilement accessibles chez *G. urbanum*, en comparaison à *C. muralis*, cela expliquerait également qu'une plus grande part des visites soit réalisée par les coléoptères et les diptères.

Rappelons que l'intérêt majeur de notre expérimentation de transplantation réciproque était la possibilité de révéler l'existence de différences phénotypiques entre les populations urbaines et rurales, et également de pouvoir identifier les causes de ces changements phénotypiques. L'adaptation locale peut être identifiée en mesurant la différence de succès reproducteur pour des populations plantées dans leur site d'origine et le succès reproducteur de ces mêmes populations transplantées dans d'autres environnements (Blanquart et al. 2013; Donihue and Lambert 2014).

Encadré VI.1 : compléments d'observations sur *Geranium robertianum* en 2016

Protocole d'observation

Courant juin 2016, les visites florales sur les individus de *G. robertianum* ayant survécu à l'hiver ont été comptabilisées sur les huit sites de plantation (4 sites urbains et 4 sites ruraux). En juin 2016, tous les sites de plantation ont été échantillonnés une fois, sauf les sites ruraux d'Orsay et du PNR Haute Vallée de Chevreuse qui ont été échantillonnés à deux reprises. Sur chaque site expérimental, les observations ont été menées en suivant le protocole décrit dans le **chapitre IV**.

Les pourcentages de visites florales

Deux méthodes de calcul ont été utilisées pour déterminer les pourcentages de visites de chaque catégorie d'insectes sur les quatre espèces végétales. La première méthode consiste à additionner le nombre de visites florales pour chaque catégorie d'insectes, toutes sessions d'observation confondues, puis à déterminer les pourcentages de chaque catégorie. La seconde méthode consiste à déterminer le nombre de sessions où une plante a été visitée au moins une fois par une catégorie d'insectes pendant les 10 min d'observation. Les pourcentages issus de la première méthode représentent l'abondance des visites de chaque catégorie de visiteurs et tiennent compte du fait qu'un insecte peut visiter plusieurs fleurs sur une même plante. La seconde méthode représente davantage la diversité des catégories de visiteurs et permet la comparaison entre les espèces végétales ayant des nombres de fleurs ou des architectures florales différentes.

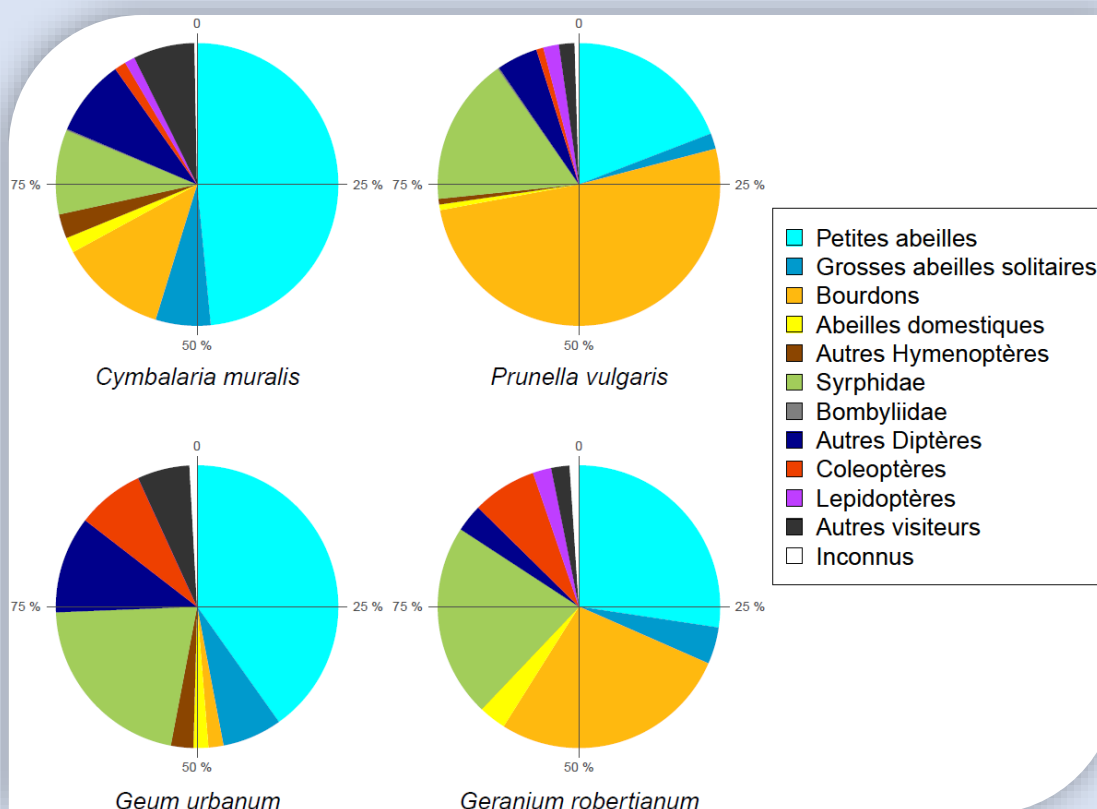


Figure VI.2 : Pourcentages de visites florales pour les quatre espèces étudiées. Les pourcentages reflètent le nombre de fois où les plantes ont été visitées au moins une fois pendant 10 min par une catégorie d'insectes. Pour *C. muralis*, *P. vulgaris* et *G. urbanum*, les observations ont été réalisées en 2015 pendant 14 semaines, à raison d'une fois par semaine et sur chacun des huit sites de plantation. Les observations de 2015 ont été complétées par les observations de juin 2016 pour *Geranium robertianum*.

Contrairement à notre hypothèse de départ, aucune différence du nombre de visites florales sur *C. muralis* n'a été observée en moyenne entre les sites de plantation urbains et ruraux. Néanmoins, pour cette espèce, l'un des résultats les plus marquants de l'étude présentée dans le **chapitre IV** a été la mise en évidence d'une interaction significative entre les sites de plantation (urbains vs ruraux) et le nombre de fleurs ouvertes par individu en relation avec le nombre de visites florales. La pente de la courbe reliant le nombre de visites florales au nombre de fleurs est plus importante pour les sites de plantation urbains que pour les sites de plantation ruraux. Cette différence de pente est particulièrement marquée pour les visites des petites abeilles sur *C. muralis*, mais la même tendance est également observée pour les visites des petites abeilles sur *P. vulgaris* et *G. urbanum*. Le fait que la différence de pente soit significative seulement pour *C. muralis* s'explique par le nombre beaucoup plus élevé de visites par les petites abeilles sur cette espèce, en comparaison aux deux autres espèces. En conséquence la pente de la courbe reliant le nombre moyen de graines produites par plante au nombre de fleurs est également plus importante pour les sites de plantation urbains que pour les sites ruraux (voir le **chapitre V**). Ainsi cela suggère que l'avantage, en termes de succès reproducteur, à produire un plus grand nombre de fleurs est plus élevé en milieu urbain qu'en milieu rural.

En parallèle, nous avons montré pour *C. muralis* une forte tendance chez les populations d'origine urbaine à avoir un plus grand nombre de fleurs ouvertes en même temps (taille de la vitrine florale, **chapitre IV**) et à produire sur les 14 semaines un plus nombre de fleurs (**chapitre V**) que les populations d'origine rurale. Mis à part une population urbaine de *C. muralis* (population du Jardin de l'hôpital Rothschild), la différence de taille de la vitrine florale entre les populations d'origines urbaine et rurale est significative. Pour les trois espèces végétales étudiées, une grande variabilité de la taille de la vitrine florale a été détectée entre les populations. Cependant pour *P. vulgaris* et *G. urbanum* aucune différence n'a été constatée entre les populations d'origines urbaines et rurales. Pour *C. muralis* la différence de production totale de fleurs au cours des 14 semaines semble s'accompagner d'une différence du nombre d'ovules par ovaire ainsi que d'une différence de coloration des macules jaunes présentes sur les fleurs. Ainsi les populations urbaines semblent produire en moyenne plus de fleurs au détriment du nombre d'ovules par ovaire et de la coloration des fleurs révélant l'existence d'un trade-off entre ces caractères. La quantité totale de fleurs produites par *C. muralis* est le facteur principal de la quantité de visites alors qu'aucun effet significatif n'a été identifié pour la coloration des macules. Par rapport aux populations d'origine rurale, les populations d'origine urbaine produisaient moins de graines par fruit (ce qui est probablement lié au plus faible nombre d'ovules par ovaire) mais par contre, elles produisaient au total plus de graines par

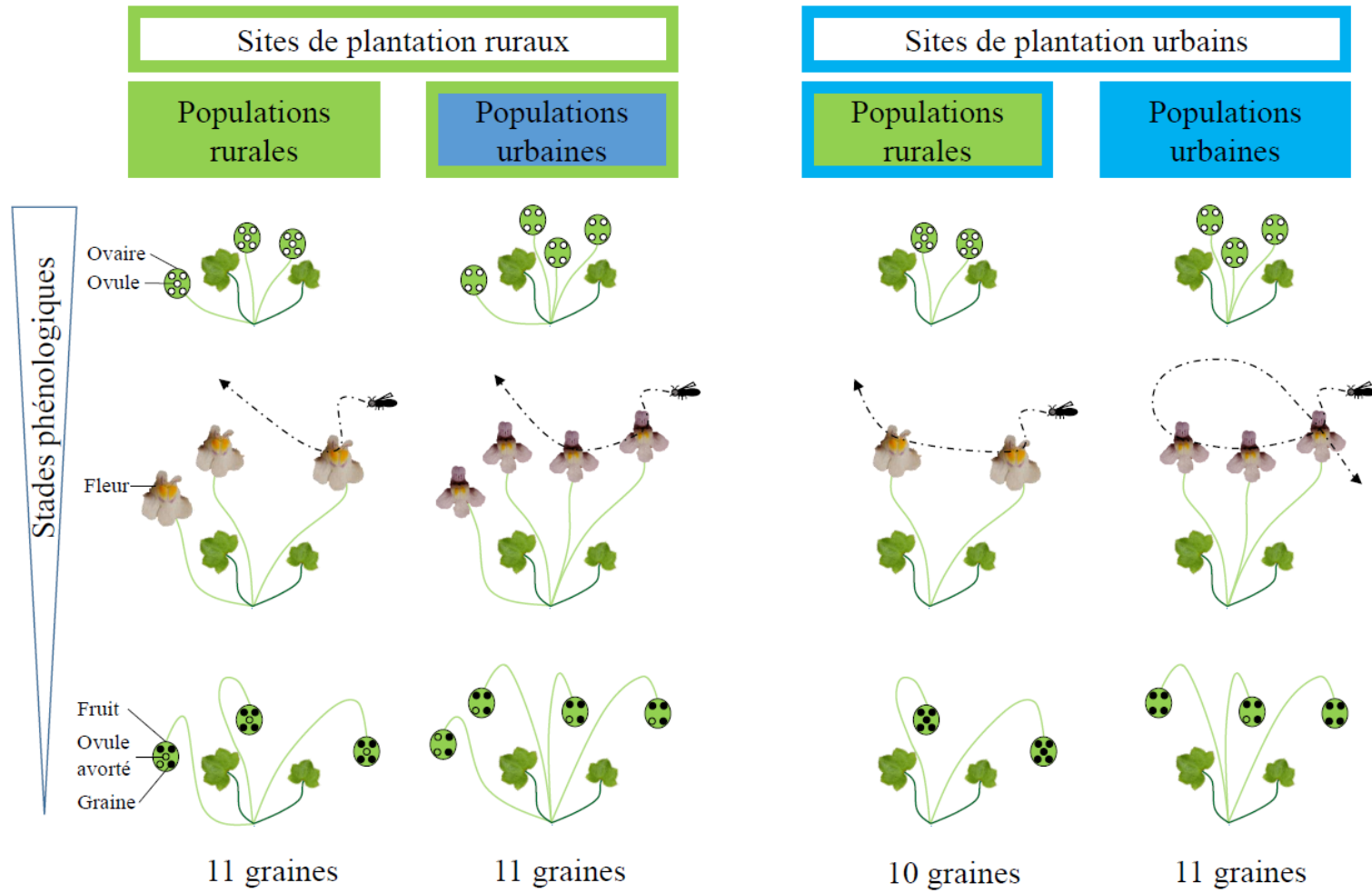
individu car elles présentaient un plus grand nombre de fruits (grâce à un plus grand nombre de fleurs produites).

En plus de la détection d'un effet de l'origine des graines sur le nombre de fleurs produites par individu, nous avons également mis en évidence qu'en moyenne les plantes poussant sur les sites d'expérimentation ruraux avaient plus de fleurs que les plantes poussant sur les sites urbains. Ce résultat pourrait s'expliquer par le fait que les sols des sites de plantation ruraux peuvent être en moyenne plus fertiles que les sols des sites urbains. Ce dernier point suggère l'existence de plasticité phénotypique pour la production de fleurs. Bien que non significatif, un léger avantage reproducteur (graines produites par plante) a été détecté pour les populations d'origine urbaine poussant sur les sites urbains par rapport aux trois autres combinaisons. L'une des raisons pouvant expliquer cette non-significativité serait la forte plasticité phénotypique, car chez les cymbalaires la production plus importante de fleurs dans les sites de plantation ruraux s'accompagne de la production d'une plus grande quantité totale de graines (voir schéma bilan Figure VI.3 a et Figure VI.b).

L'ensemble de ces différences phénotypiques, associées aux traits de reproduction, entre les populations urbaines et rurales chez la cymbalaire pourrait être la conséquence évolutive du plus grand avantage qu'ont les plantes, en termes de visites de pollinisateurs et de production de graines, à produire plus de fleurs dans les milieux urbains que dans les milieux ruraux. L'une des hypothèses qui pourrait expliquer cette différence de visites de pollinisateurs entre les sites d'expérimentation urbains et ruraux serait un changement de comportement de butinage des pollinisateurs face à la fragmentation des habitats associée à l'urbanisation. En effet, l'un des attendus de la théorie de butinage optimal est une exploitation plus exhaustive des ressources florales par les pollinisateurs dans les patchs visités des environnements fragmentés afin de compenser de plus grandes pertes énergétiques associées à l'augmentation des distances de vols entre les patchs fleuris (Charnov 1976; Goulson 1999; Andrieu et al. 2009).

En vue d'étayer cette hypothèse selon laquelle les différences de visites observées entre les sites de plantation urbains et ruraux peuvent être expliquées par des différences de fragmentation du milieu, nous avons commencé à mettre au point un modèle simulation. La construction de ce modèle informatique a été l'objet du stage de master 1 de Jérôme Eschenbrenner (co-encadré avec Bruno Colas). La section suivante constitue un bref résumé du modèle ainsi que des résultats préliminaires obtenus (voir Annexe).

a)



b)

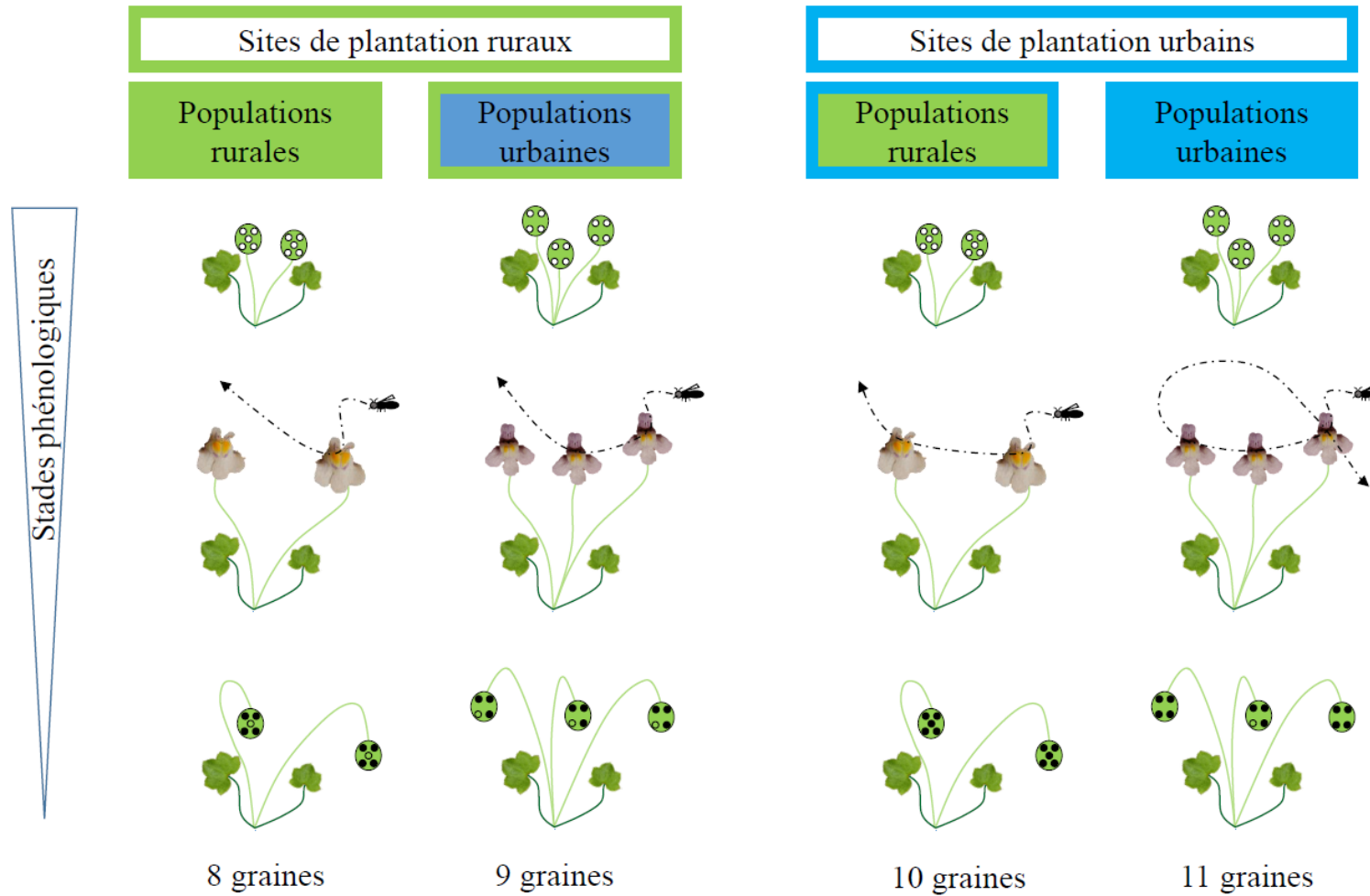


Figure VI.3 : Schéma bilan des résultats obtenus sur *Cymbalaria muralis* mettant en évidence les différences entre les nombres d'ovules par fleur et par plante (ligne 1), de fleurs et de visites florales par plante (ligne 2) de graines par fruit et par plante (ligne 3) selon l'origine des graines (urbain *versus* rural) et le site d'expérimentation (urbain *versus* rural). La relation entre le nombre d'ovules par bouton et le nombre de fleurs par plante rend compte du trade-off mis en évidence dans le chapitre 5. a) Bilan des résultats obtenus. b) Résultats attendus dans le cas d'une expérimentation qui aurait gommé les variations liées au développement des plantes jusqu'à leur floraison entre les sites de plantation urbains et ruraux.

VI. 2.2. Simulation de butinage optimal en milieu fragmenté

Suite aux résultats empiriques obtenus sur *C. muralis* et présentés dans les **chapitres IV et V** nous avons tenté d'approfondir notre compréhension des modifications possibles du butinage des insectes en réponse à la fragmentation du milieu, sur des plantes ayant des vitrines florales différentes. Pour cela nous avons créé un modèle théorique de simulation, individu centré, visant à reproduire les mouvements d'un pollinisateur sur des patches de cymbalaires plus ou moins distants les uns des autres. L'objectif de ce modèle est de vérifier si les différences de comportement de butinage, selon la fragmentation de l'environnement, peuvent causer des variations de pressions de sélection entraînant une évolution vers une augmentation de la taille de la vitrine florale chez les populations urbaines de cymbalaires.

Notre modélisation mathématique s'appuie essentiellement sur le théorème de la valeur marginale énoncé par Charnov (1976). Ce modèle mathématique, visant initialement à décrire le comportement de recherche de proies par un prédateur dans un environnement en patches, a par la suite été appliqué au comportement de butinage des pollinisateurs (voir Goulson 1999). Le théorème prédit à quel moment il est énergétiquement optimal, pour un pollinisateur, de sortir d'un patch donné pour aller commencer à butiner dans un nouveau patch. Ce modèle suppose que plus un pollinisateur butine de fleurs dans un patch, plus il va devenir difficile d'extraire des ressources florales de ce patch (épuisement des ressources). Dans ce modèle les pollinisateurs sont censés adopter un comportement énergétiquement optimal.

Contrairement au modèle de Charnov (1976) dans lequel les prédateurs maximisent leur récolte d'énergie par unité de temps, nous avons considéré que les pollinisateurs allaient maximiser leur récolte d'énergie, issues des ressources florales, par rapport à l'énergie dépensée pour leur déplacement (**Encadré VI.2**). Des observations empiriques ont mis en évidence que les abeilles domestiques (*Apis mellifera*) semblent plutôt maximiser le rapport gains énergétiques/dépenses énergétiques en comparaison au rapport gains énergétiques/temps de butinage (Schmid-Hempel et al. 1985). En effet, à partir d'une certaine distance parcourue cumulée le métabolisme des butineuses commence à dégénérer (Neukirch 1982; Schmid-Hempel et al. 1985).

Encadré VI.2 : Modélisation mathématique du moment de départ optimal d'un patch fleuri

Définition des variables :

D_{unit} : énergie nécessaire pour le parcours d'une unité de distance. Par définition, $D_{unit} = 1$, car les autres variables sont exprimées relativement à cette constante.

i : nombre de déplacements unitaires au sein d'un patch (pas du modèle)

$D(i)$: énergie nécessaire pour effectuer i déplacements unitaires. $D(i) = i * D_{unit} = i$

$RFb(i)$: énergie brute récoltée à partir de la ressource florale après i déplacements unitaires. Cette énergie est relative au coût d'un déplacement unitaire.

$RFn(i)$: énergie nette récoltée à partir de la ressource florale, corrigée par les couts énergétiques de déplacement après i déplacements unitaires. Cette énergie est relative au coût d'un déplacement unitaire.
 $RFn(i) = RFb(i) - D(i) = RFb(i) - i$

Soit un paysage composé de plusieurs types de patches (e.g. quantité de nectar ou de pollen différent, nombre de fleurs différent, etc.), P_x est la fréquence d'occurrence d'un patch de type x dans le paysage. On notera $RFb_x(i_x)$ et $RFn_x(i_x)$, pour indiquer que le patch considéré est de type x et que le départ du patch à i_x est fonction du type de patch. Dans un paysage composé de x types de patches, nous définissons l'énergie nette récoltée moyenne par : $\overline{RFn(i_x)} = \sum_1^x RFn_x(i_x) * P_x$.

$\overline{D_{inter}}$: énergie moyenne nécessaire pour le parcours d'une distance inter-patch. Cette énergie est relative à la moyenne des distances deux à deux entre chacun des patches du paysage et qui seront visités.

$TRFn(i_x)$: Taux d'énergie nette récoltée moyenne sur x types de patches, par unité d'énergie nécessaire au déplacement intra-patch pour un départ à i_x et pour le parcours d'une distance inter-patch moyenne.

$$TRFn(i_x) = \frac{\overline{RFn(i_x)} - \overline{D_{inter}}}{(\sum_1^x D(i_x) * P_x) + \overline{D_{inter}}} = \frac{\sum_1^x RFn_x(i_x) * P_x - \overline{D_{inter}}}{(\sum_1^x D(i_x) * P_x) + \overline{D_{inter}}} = \frac{\sum_1^x (RFb_x(i_x) - D(i_x)) * P_x - \overline{D_{inter}}}{(\sum_1^x D(i_x) * P_x) + \overline{D_{inter}}} \quad (1)$$

A l'échelle intra-patch :

La variation instantanée d'énergie nette récoltée entre deux pas de déplacement i est notée: $\frac{dRFn}{di}$

A l'échelle du paysage :

L'application de l'équation (1) donne :

$$TRFn_{inter}(i_x) = \frac{\sum_1^x (RFb_x(i_x) - D(i_x)) * P_x - \overline{D_{inter}}}{(\sum_1^x D(i_x) * P_x) + \overline{D_{inter}}}$$

$TRFn_{inter}(i_x)$ est une fonction à x dimensions. Notons $TRFn_{inter}^*$ la valeur de cette fonction lorsque tous les i_x sont aux valeurs optimales. Les i_x optimaux sont trouvées en posant pour tous les types de patches $\Delta_{i,i+1} TRFn_{inter}(i_x) = 0$.

Critères de départ d'un patch :

Par application du théorème de la valeur marginale (Charnov 1976) un pollinisateur devrait partir d'un patch lorsque la variation instantanée d'énergie nette récoltée au sein du patch $\left(\frac{dRFn}{di}\right)$ chute en dessous de l'espérance du taux d'énergie nette récoltée optimal dans les autres patches du paysage ($TRFn_{inter}^*$).

Mathématiquement cela se vérifie pour : $\frac{dRFn}{di} = TRFn_{inter}^* \quad (2)$

Le patch fleuri

Le programme de simulation a été réalisé sur R Core Team (2016). Chaque patch fleuri (un patch représente un individu de cymbalaire) a été modélisé par une matrice de 14 lignes et 14 colonnes (196 cellules), dans laquelle n fleurs ont été réparties aléatoirement, avec n allant de 5 à 195 par pas de 5. Chaque cellule ne peut contenir qu'une seule fleur. Le nombre maximum de fleurs a été fixé en accord avec les données de vitrines florales observées dans le **chapitre IV**. Sachant que les individus de cymbalaire dépassent rarement 50 cm de diamètre (donnée issue de nos sites de plantation, aucune mesure n'ayant été réalisée *in situ*), cela consiste à considérer que les fleurs sont séparées au minimum de 3,5 cm les unes des autres. Comme nous n'avons pu trouver aucune information concernant la valeur énergétique contenue dans une fleur de cymbalaire (quantité et qualité du nectar et du pollen), nous avons considéré arbitrairement que chaque fleur renfermait l'équivalent de 50 déplacements unitaires intra-patch. On considère que le pollinisateur étudié est spécialiste de la cymbalaire et que la quantité de ressources florales dans chaque fleur pleine est identique.

Le comportement du pollinisateur au sein d'un patch

Le pollinisateur est programmé pour commencer aléatoirement sur l'une des fleurs présentes dans le patch. Le pollinisateur va vider entièrement la fleur de sa ressource florale (nectar et pollen) en un seul passage. Au pas suivant, si une ou plusieurs fleurs se trouvent dans les cellules autour du pollinisateur (au maximum 8 cellules), alors le pollinisateur ira sur une de ces fleurs aléatoirement. Si aucune fleur ne se trouve dans les cellules autour du pollinisateur, alors il choisira aléatoirement une fleur présente dans le patch, dans une des cellules non-adjacentes à celle où il se trouve. Ce comportement est répété jusqu'à épuisement de toutes les fleurs du patch. Tel quel, le pollinisateur modélisé est trop efficace car il ne fait aucune erreur. Ceci rentre en contradiction avec l'hypothèse principale du modèle mathématique de Charnov (1976) prévoyant que plus un pollinisateur butine de fleurs dans un patch, plus il va devenir difficile d'extraire des ressources florales de ce patch. Cette réduction de l'efficacité de butinage des pollinisateurs a été observée empiriquement sur les plantes ayant beaucoup de fleurs car les pollinisateurs vont butiner à plusieurs reprises les mêmes fleurs, réduisant ainsi leur efficacité de butinage (Goulson 1999). Pour prendre en compte cette réduction d'efficacité de butinage, nous avons ajouté à notre programme des conditions de déplacements supplémentaires. Ainsi, nous avons fait la distinction entre la matrice des fleurs (matrice 1), présentée plus haut, et la matrice des ressources florales (matrice 2). Au départ les deux matrices sont identiques, puis

lorsque le pollinisateur ira sur une fleur (matrice 1) il videra par la même occasion la fleur de ses ressources florales (matrice 2). Par simplicité de modélisation nous avons considéré que le pollinisateur n'avait connaissance de la matrice des ressources florales (matrice 2) que pour les huit cellules autour de lui. Ainsi, le pollinisateur ne visitera pas une seconde fois une fleur qu'il a déjà visitée si elle se situe dans les huit cellules autour de lui. Par contre, si aucune fleur pleine n'est présente dans les huit cellules, le pollinisateur ira aléatoirement sur une fleur dans le patch en se basant sur la matrice des fleurs (matrice 1) et pourra possiblement visiter une fleur déjà vidée.

Nous avons simulé 3000 sessions de butinage pour chaque type de patch. Un type de patch représente le nombre de fleurs n compris dans le patch. A chaque nouvelle session, un nouvel agencement des n fleurs est réalisé. Une session de butinage représente 400 déplacements unitaires.

Ces sessions de butinage nous ont permis d'obtenir les courbes d'énergie brute récoltée ($RFb(i)$) et d'énergie nette récoltée ($RFn(i)$) pour les 39 types de patch (noté x dans l'**encadré VI.2**) en fonction du nombre de déplacements unitaires.

Le paysage de butinage

Par l'intermédiaire des calculs de $\overline{RFn(i_x)}$ et $TRFn_{inter}$, nous avons construit deux « familles » de paysages. Dans le premier cas nous avons considéré que tous les patches du paysage étaient de même type ($P_x = 1$) et que tous les patches étaient équidistants ($\overline{D_{inter}} = cste$). Pour tester l'effet de la fragmentation du paysage sur le départ optimal du pollinisateur nous avons conduit les simulations sur des paysages ayant des $\overline{D_{inter}}$ différents (entre 0 et 300m). Pour la seconde « famille » de paysages nous avons considéré des ($P_x \neq 1$), en se basant sur l'histogramme de répartition des fréquences de chaque type de patch (nombre de fleurs par individu) pour une population de cymbalaires d'origine urbaine (petite ceinture du 15^{ème} arrondissement de Paris) au moment du pic de floraison (semaine 7) et poussant sur les huit sites d'expérimentation. Au sein de chaque paysage tous les patches étaient également équidistants ($\overline{D_{inter}} = cste$). Dans la suite nous ne présentons que les résultats de la première « famille » de paysages (voir Annexe).

Résumé des résultats préliminaires issus des simulations

Comme attendu, si le pollinisateur butine de façon optimale, on observe qu'une corrélation positive existe entre le nombre de fleurs présentes dans le patch et le nombre de

fleurs visitées au moins une fois par le pollinisateur. La fragmentation affecte cette relation puisque la pente de la courbe reliant le nombre de fleurs par patch au nombre de fleurs vidées est plus forte quand les patches sont distants de 300 m que lorsque les patches sont distants de 10 m (Figure VI.4, gauche). Plus la distance inter-patch est grande plus le nombre de visites par fleur est important (Figure VI.4, droite). Ce dernier point traduit le fait qu'en milieu fragmenté le pollinisateur a plus intérêt, en termes énergétiques, à rester dans un patch quitte à visiter à plusieurs reprises et en vain certaines fleurs, plutôt que d'aller dans un autre patch. De manière générale, la probabilité de visiter une fleur à plusieurs reprises augmente lorsque le nombre total de fleurs dans le patch diminue. Ceci explique que le nombre de visites par fleur est de plus en plus faible à mesure que le nombre de fleurs par patch augmente (Figure VI.4, droite).

Une réduction du nombre de visites par fleur peut se produire dans les patches ayant moins de 15 fleurs. Il est probable qu'avec l'actuel encodage du comportement du pollinisateur, avec un accès à la matrice des ressources florales (matrice 2) uniquement dans les cellules autour de lui, il y ait des comportements irréalistes pour des petits nombres de fleurs. En effet, pour un petit nombre de fleurs par patch il y a une plus forte probabilité que les cellules autour du pollinisateur soient vides et cela va induire un comportement trop aléatoire, réduisant très rapidement l'intérêt de rester dans le patch.

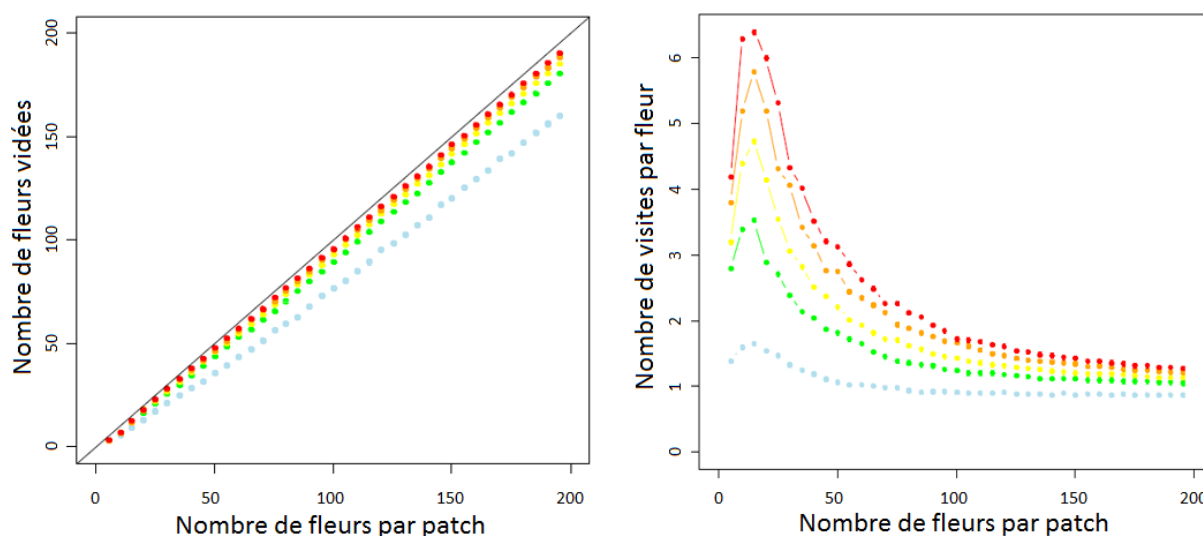


Figure VI.4 : Nombre de fleurs vidées (gauche) et nombre moyen de visites par fleur (droite) si le pollinisateur butinait de façon optimale en fonction du nombre de fleurs dans le patch. En bleu, les patches sont équidistants de 10 mètres, en vert de 50 mètres, en jaune de 100 mètres, en orange de 200 mètres et en rouge de 300 mètres. A gauche, la droite représente le nombre maximal de fleurs pouvant être vidées.

Bien que le modèle soit encore largement perfectible, notamment pour l'encodage du comportement du pollinisateur et de la répartition spatiale des patches dans le paysage, les

résultats issus de cette simulation sont prometteurs. Ils confirment que l'augmentation de la distance entre les patchs fleuris peut expliquer une plus forte pente de la courbe reliant le nombre de fleurs visitées au nombre de fleurs présentes dans le patch (Figure VI.4, gauche). Ce résultat de simulation est en accord avec les observations empiriques mis en évidence par plusieurs auteurs (Goulson 1999 ; Goverde et al. 2002 ; Andrieu et al. 2009). Ils confirment que la fragmentation des habitats en milieu urbain pourrait bien être l'un des facteurs responsables de l'avantage des individus de *C. muralis*, en termes de production totale de graines, à avoir une plus grande vitrine florale en milieu urbain qu'en milieu rural.

VI. 2.3. Freins importants des interprétations et perspectives scientifiques

A notre connaissance, il s'agit de la première fois que par démonstration empirique il ait été montré que l'urbanisation peut être à l'origine d'une évolution vers une augmentation de la production de fleurs (sur 14 semaines) ainsi qu'une augmentation de la taille de la vitrine florale chez une espèce végétale. Notre hypothèse pour expliquer cette évolution induite par l'urbanisation est que, face à la fragmentation, le comportement optimal des pollinisateurs favoriserait les individus ayant de plus grandes vitrines florales, ce qui entraînerait une sélection de ce caractère.

Néanmoins nos résultats doivent être interprétés avec prudence car ils suscitent encore certaines interrogations. Jusqu'à maintenant, encore aucune preuve directe de l'existence d'une plus grande fragmentation au sein des populations urbaines de cymbalaires en comparaison aux populations rurales n'a été apportée. Bien que nous ayons transplanté des graines de populations urbaines et rurales dans les jardins communs urbains et ruraux, rappelons que notre expérimentation de transplantation n'est pas totalement réciproque (Blanquart et al. 2013). En effet, les cymbalaires sont des plantes se développant principalement sur les murs et entre les rochers (Chevalier 1936) alors que dans notre expérimentation les individus ont été transplantés en pleine terre, modifiant ainsi fortement les conditions de développement (en termes notamment de disponibilité de l'eau et en nutriments).

Il faut souligner que le nombre de populations de cymbalaires, mais également des trois autres espèces impliquées dans le dispositif expérimental, est largement insuffisant (10 populations par espèce). Ce dernier point n'est pas spécifique à nos travaux et représente un point commun avec de nombreuses études portant sur les adaptations locales (Franks et al. 2007 ; Cheptou et al. 2008 ; Weber and Kolb 2011 ; Brys and Jacquemyn 2012, cependant voir Thompson et al. 2016 ; Yakub and Tiffin 2017). Comme la cymbalaire est une espèce très commune en Europe occidentale, pour généraliser nos résultats il serait nécessaire

d'échantillonner des populations dans d'autres gradients d'urbanisation, associés à d'autres villes. Ces deux points faibles (nombre insuffisant de populations et de gradients d'urbanisation), associés aux contraintes pratiques de la mise en place d'un dispositif de transplantation réciproque complet (chaque population cultivée dans tous les sites de récolte des graines) font partie des éléments responsables de la création d'un fossé entre les études théoriques et empiriques (voir la synthèse de Blanquart et al. 2013).

Comme l'urbanisation représente un ensemble de changements environnementaux biotiques et abiotiques (Johnson et al. 2015), il est nécessaire à l'avenir de considérer un large panel de facteurs pouvant affecter l'évolution des traits en milieux urbains en comparaison aux milieux ruraux. Par exemple, dans le cas de la cymbalaire un décalage important de phénologie a été observé entre 1954 et 1998 (Fitter and Fitter 2002), probablement en réponse à une hausse des températures moyennes. Comme les températures nocturnes dans Paris *intra-muros* sont en moyenne 2 à 3 °C supérieures à celles enregistrées dans les zones rurales alentour (Desplat et al. 2013), il serait intéressant à l'avenir de tester les possibles conséquences évolutives de ce facteur sur la floraison des cymbalaires. En outre, la concentration en CO₂ en ville peut modifier la taille de la vitrine florale (Neil and Wu 2006). Ceci est cohérent avec l'étude de Lambrecht et al. (2016) montrant l'existence d'adaptations morphologiques, phénologiques et physiologiques en ville chez *Crepis sancta*, très probablement en réponse à des différences de concentration en CO₂ et en azote, ainsi qu'à des différences de températures et d'humidité. Une sélection pour des plantes de taille plus grande en ville, ayant de plus grands taux de photosynthèse et une concentration en azote plus importante dans les feuilles, a également été mise en évidence (Lambrecht et al. 2016).

Bien que nous ayons mis en évidence des différences de fréquences de visites florales entre les sites d'expérimentation urbains et ruraux, qui pourraient vraisemblablement s'expliquer par des différences de comportement des pollinisateurs, rappelons que les huit parcelles de plantation étaient disposées de façon très similaires. Ainsi ce n'est probablement pas la fragmentation des individus plantés dans les parcelles qui expliquerait les différences de visites, mais plutôt la fragmentation du paysage autour de ces huit sites. Cela souligne bien l'importance de l'identification des échelles spatiales auxquelles la fragmentation affecte le plus la présence et le comportement des pollinisateurs dans les fragments d'habitats. L'analyse présentée dans le **chapitre II** a révélé que la présence des Halictidae, famille d'insectes urbanophiles et visitant fréquemment la cymbalaire, était la plus affectée par le pourcentage d'espaces ouverts artificialisés et imperméabilisés pour le rayon maximal d'analyse du paysage de 4000 m. Cela suggère qu'une fragmentation à cette échelle spatiale est bien susceptible de

modifier la pollinisation de la cymbalaire. Des expérimentations supplémentaires sont nécessaires pour confirmer cette interprétation. Par exemple, des observations de visites florales pourraient être faites sur des cymbalaires plantées dans des espaces verts de surface variable, plus ou moins isolés, et dans lesquels la ressource florale a été caractérisée.

L'une des perspectives majeures de cette thèse serait de tester si les populations urbaines de cymbalaire (sur des murs) sont effectivement plus fragmentées *in situ* que les populations rurales, et de tester si les données d'observation des visites de pollinisateurs correspondent à celle attendues par des modèles de butinage optimal. Par une caractérisation des traits phénotypiques des individus de différentes populations (par exemple le nombre de fleurs) ainsi qu'une caractérisation des habitats et de la structure des populations (par exemple la densité), les calculs de gradients de fitness (relations traits-fitness ; Lande and Arnold 1983), mis en relation avec les caractéristiques des populations, permettraient d'identifier les traits sous sélection divergente ainsi que les agents responsables de cette sélection (Kawecki and Ebert 2004). En effet, l'application cette méthodologie classique des gradients de sélection a notamment déjà permis de montrer qu'en milieu forestier une réduction de la taille et de la densité des populations de *Phyteuma spicatum* était associée à une sélection vers de plus grande taille d'inflorescence (Weber and Kolb 2011). De par la commodité de sa mise en culture et de son habitat de développement, *Cymbalaria muralis* représente un bon modèle d'étude pour mieux comprendre les effets de la fragmentation induite par l'urbanisation sur l'évolution des espèces végétales. Néanmoins, l'un des freins à la mise en place d'une telle expérimentation *in situ* est la difficulté à distinguer les différents individus constituant des patchs fleuris et prospérant dans les anfractuosités des murs. Ceci obligerait donc à réaliser des plantations contrôlées ou à conduire des caractérisations phénotypiques à l'échelle des patchs et non des individus, pouvant potentiellement affecter les résultats et interprétations.

En complément de ces relevés *in situ*, il faudrait également s'assurer que la différenciation phénotypique des populations de *C. muralis* mise en lumière dans les chapitres **IV** et **V** est bien due à une sélection naturelle et non à une forte dérive génétique. Pour faire cette distinction, il est par exemple possible d'appliquer la méthode génétique de comparaison Q_{st} - F_{st} (Leinonen et al. 2013 ; Donihue and Lambert 2014). A l'avenir, il serait également intéressant d'élargir l'étude des traits de reproduction potentiellement soumis à une sélection divergente chez la cymbalaire. Ainsi l'examen de la durée d'anthèse, de la durée de réceptivité stigmatique ou encore le pourcentage de graines issues d'autofécondation autonome pourrait améliorer notre compréhension des effets de l'urbanisation sur la fécondation de *C. muralis* ainsi que son degré de dépendance aux pollinisateurs.

Conclusion générale

L'objectif global poursuivi tout au long de cette thèse était d'améliorer la caractérisation des conséquences de l'urbanisation sur l'interdépendance fonctionnelle entre les communautés de plantes et de pollinisateurs, en tâchant de comprendre les conséquences évolutives possibles de ces changements, en particulier sur les traits reproductifs des plantes. Par la double approche évolutive et fonctionnelle des communautés de plantes et de pollinisateurs, cette thèse constitue un travail original se situant à l'interface entre les domaines de l'écologie urbaine et de l'évolution. La particularité de cette thèse réside également dans la mise en place d'un lourd dispositif expérimental de transplantation réciproque impliquant quatre espèces végétales ainsi que dans l'utilisation de méthodes statistiques complexes pour l'analyse de bases de données issues de projet de science participative.

Les résultats présentés dans cette thèse montrent que les particularités environnementales du milieu urbain en région Île-de-France sont susceptibles d'affecter (i) de manière directe l'abondance des espèces de plantes et de pollinisateurs, (ii) de manière indirecte ces abondances, par une modification des relations fonctionnelles entre les espèces de plantes et de pollinisateurs, ce qui entraîne des conséquences sur leur succès reproducteur.

Il a été souligné dans cette thèse que la capacité de nidification dans des cavités anthropiques et la capacité de vol à grande distance des pollinisateurs pourraient constituer des avantages adaptatifs direct, en réponse à l'urbanisation. La flexibilité de butinage (liée à la taille du corps et à la longueur des pièces buccales) conférerait plutôt des avantages indirects, induits par une réduction de l'abondance de la ressource florale en milieu urbain et une modification des communautés végétales urbaines.

Nous avons mis en évidence que la tolérance au milieu sec et chaud semble être une caractéristique écologique particulièrement avantageuse pour les espèces végétales, face aux conditions abiotiques présentes en ville. D'autre part, la capacité d'autofécondation autonome et la possession de corolles pouvant être visitées par un large panel de morphotypes de pollinisateurs (généralisme) constituent des avantages adaptatifs face à la réduction de l'abondance des pollinisateurs induite par l'urbanisation. Enfin, la fragmentation des habitats, inhérente à l'urbanisation, pourrait également être à l'origine de la modification du comportement de butinage des pollinisateurs est ainsi conduire à une divergence évolutive de la vitrine florale entre les populations végétales urbaines et rurales. Des expériences complémentaires à celles menées sur *C. muralis* seront nécessaires pour confirmer cette

hypothèse. Il serait également intéressant de savoir si l'évolution des plantes en réponse à l'urbanisation et aux changements des communautés de pollinisateurs dépend de l'architecture florale des espèces.

A l'avenir, l'identification à la fois des interdépendances fonctionnelles entre les plantes et les pollinisateurs et des traits sous sélection en milieu urbain pourrait être utilisée à des fins plus appliquées. En effet, ces informations pourraient notamment aider à la mise en œuvre d'introduction durable d'espèces végétales dans les parcs, les espaces verts, les toitures ou encore les murs végétalisés, adaptées aux conditions abiotiques et biotiques imposées par le milieu urbain. Dans un contexte global d'expansion rapide du milieu urbain au détriment des espaces naturels, l'introduction contrôlée d'espèces végétales pourrait également s'inscrire dans des programmes de conservation des espèces de pollinisateurs sauvages en ville.

Références bibliographiques :

- Abrol DP (2012) Biochemical Basis of Plant-Pollination Interaction. In: Pollination Biology: Biodiversity Conservation and Agricultural Production. Springer Netherlands, Dordrecht, pp 413–458
- Ågren J, Hellström F, Toräng P, Ehrlén J (2013) Mutualists and antagonists drive among-population variation in selection and evolution of floral display in a perennial herb. *Proc Natl Acad Sci* 110:18202–18207.
- Ahrné K, Bengtsson J, Elmqvist T (2009) Bumble Bees (*Bombus* spp) along a Gradient of Increasing Urbanization. *PLoS One* 4:e5574.
- Alberti M, Correa C, Marzluff JM, et al (2017) Global urban signatures of phenotypic change in animal and plant populations. *Proc Natl Acad Sci* 114:8951–8956.
- Andrieu E, Dornier A, Rouifed S, et al (2009) The town *Crepis* and the country *Crepis*: How does fragmentation affect a plant-pollinator interaction? *Acta Oecologica* 35:1–7.
- Arroyo MTK, Muñoz MS, Henríquez C, et al (2006) Erratic pollination, high selfing levels and their correlates and consequences in an altitudinally widespread above-tree-line species in the high Andes of Chile. *Acta Oecologica* 30:248–257.
- Arroyo MTK, Pacheco DA, Aguilera P (2013) Floral allocation at different altitudes in highly autogamous alpine *Chaetanthera euphrasioides* (Asteraceae) in the central Chilean Andes. *Alp Bot* 123:7–12.
- Baguette M, Mennechez G, Petit S, Schtickzelle N (2003) Effect of habitat fragmentation on dispersal in the butterfly *Proclossiana eunomia*. *C R Biol* 326:S200–S209.
- Baldock KCR, Goddard MA, Hicks DM, et al (2015) Where is the UK's pollinator biodiversity? The importance of urban areas for flower-visiting insects. *Proc R Soc B Biol Sci* 282:20142849.
- Banaszak-Cibicka W, Zmihorski M (2012) Wild bees along an urban gradient: Winners and losers. *J Insect Conserv* 16:331–343.
- Bascompte J, Jordano P, Melián CJ, Olesen JM (2003) The nested assembly of plant–animal mutualistic networks. *Proc Natl Acad Sci* 100:9383–9387.

- Bastien P, Vinzi VE, Tenenhaus M (2015) Course: Régression linéaire généralisée PLS. 1–35.
- Bates AJ, Sadler JP, Fairbrass AJ, et al (2011) Changing Bee and Hoverfly Pollinator Assemblages along an Urban-Rural Gradient. *PLoS One* 6:e23459.
- Bates D, Maechler Martin, Walker S (2016) Package “lme4”: Linear Mixed-Effects Models using “Eigen” and S4. CRAN Repos 1–113.
- Baxter-Gilbert JH, Riley JL, Neufeld CJH, et al (2015) Road mortality potentially responsible for billions of pollinating insect deaths annually. *J Insect Conserv* 19:1029–1035.
- Bechtel B, Schmidt KJ (2011) Floristic mapping data as a proxy for the mean urban heat island. *Clim Res* 49:45–58.
- Bertrand F, Meyer N, Maumy- Bertrand M (2015) Package “plsRglm ”.
- Biesmeijer JC, Roberts SPM, Reemer M, et al (2006) Parallel declines in pollinators and insect-pollinated plants in Britain and the Netherlands. *Science* 313:351–354.
- Bingham RA, Orthner AR (1998) Efficient pollination of alpine plants. *Nature* 391:238–239.
- Bischoff A, Müller-Schärer H (2010) Testing population differentiation in plant species - How important are environmental maternal effects. *Oikos* 119:445–454.
- Blanco-Pastor JL, Ornos C, Romero D, et al (2015) Bees explain floral variation in a recent radiation of *Linaria*. *J Evol Biol* 28:851–863.
- Blanquart F, Kaltz O, Nuismer SL, Gandon S (2013) A practical guide to measuring local adaptation. *Ecol Lett* 16:1195–1205.
- Bocci G (2017) Package “TR8 : Extract traits data for plant species”.
- Bolker BM, Brooks ME, Clark CJ, et al (2009) Generalized linear mixed models: a practical guide for ecology and evolution. *Trends Ecol Evol* 24:127–135.
- Bonnier G (1879) *Les Nectaires, étude critique, anatomique et physiologique*. Librairie de l’académie de médecine, Paris
- Branchu P, Badin A-L, Bechet B, et al (2013) Pollution d’origine routière et environnement de proximité. *VertigO - la Rev électronique en Sci l’environnement*.
- Brys R, Jacquemyn H (2012) Effects of human-mediated pollinator impoverishment on floral traits and mating patterns in a short-lived herb: An experimental approach. *Funct Ecol*

26:189–197.

- Burel F, Baudry J (1999) Écologie du paysage. Concepts, méthodes et applications. TEC & DOC, Paris
- Carrascal LM, Galván I, Gordo O (2009) Partial least squares regression as an alternative to current regression methods used in ecology. *Oikos* 118:681–690.
- Ćetković A, Čubrilović B, Plećaš M, et al (2012) First records of the invasive American wasp *Isodontia mexicana* (Hymenoptera: Sphecidae) in Serbia. *Acta Entomol Serbica* 17:63–72.
- Chapuis R (2014) Espace rural. In: Hypergeo. <http://www.hypergeo.eu/spip.php?article481>. Visité le 28 Juin 2017
- Charmes E (2010) La densification en débat. In: La densification en débat. études foncières, n°145, pp 20–23
- Charnov EL (1976) Optimal foraging, the marginal value theorem. *Theor Popul Biol* 9:129–136.
- Cheptou P-O, Carrue O, Rouifed S, Cantarel a (2008) Rapid evolution of seed dispersal in an urban environment in the weed *Crepis sancta*. *Proc Natl Acad Sci* 105:3796–3799.
- Chevalier A (1936) Les espèces élémentaires françaises du genre *Cymbalaria*. *Bull Soc Bot France* 83:638–653.
- Chouard P (1960) Vernalization and its relations to dormancy. *Annu Rev Plant Physiol* 11:191–238.
- Chouard P, Tran Thanh Van M (1962) Nouvelles recherches sur l’analyse des mécanismes de la vernalisation d’une plante vivace, le *Geum urbanum* L. (Rosacées). *Bull Soc Bot France* 109:145–147.
- Christensen RHB (2015a) Analysis of ordinal data with cumulative link models — estimation with the R -package ordinal.
- Christensen RHB (2015b) Package “ ordinal ”. *Regression Models for Ordinal Data*. 1–61.
- Chrobock T, Kempel A, Fischer M, van Kleunen M (2011) Introduction bias: Cultivated alien plant species germinate faster and more abundantly than native species in Switzerland. *Basic Appl Ecol* 12:244–250.

- Clanché F, Rascol O (2011) Le découpage en unités urbaines de 2010. Insee Première 1364.
- Colding J (2007) “Ecological land-use complementation” for building resilience in urban ecosystems. *Landsc Urban Plan* 81:46–55.
- Cruden RW (1977) Pollen-Ovule Ratios: A Conservative Indicator of Breeding Systems in Flowering Plants. *Evolution* (N Y) 31:32–46.
- Cunningham MA, Snyder E, Yonkin D, et al (2008) Accumulation of deicing salts in soils in an urban environment. *Urban Ecosyst* 11:17–31.
- Darwin C (1877) The various contrivances by which orchids are fertilised by insects / by Charles Darwin., 2d ed. J. Murray, London
- Davis JD, Debinski DM, Danielson BJ (2007) Local and landscape effects on the butterfly community in fragmented Midwest USA prairie habitats. *Landsc Ecol* 22:1341–1354.
- De Palma A, Kuhlmann M, Roberts SPM, et al (2015) Ecological traits affect the sensitivity of bees to land-use pressures in European agricultural landscapes. *J Appl Ecol* 52:1567–1577.
- Deguines N (2015) L’urbanophobie chez les insectes pollinisateurs : apports de l’analyse des données 2010-2012 du programme SPIPOLL. *Le Biodiversitaire* 6.
- Deguines N, Julliard R, de Flores M, Fontaine C (2012) The Whereabouts of Flower Visitors: Contrasting Land-Use Preferences Revealed by a Country-Wide Survey Based on Citizen Science. *PLoS One* 7:e45822.
- Deguines N, Julliard R, de Flores M, Fontaine C (2016) Functional homogenization of flower visitor communities with urbanization. *Ecol Evol* 6:1967–1976.
- Delphia CM, O’Neill KM (2012) Supersedure of *Isodontia mexicana* (Saussure) (Hymenoptera: Sphecidae) Nests by *Megachile rotundata* (F.) (Hymenoptera: Megachilidae): Do Bees Destroy Wasp Cocoons? *J Kansas Entomol Soc* 85:380–383.
- Desaegher J, Nadot S, Dajoz I, Colas B (2017) Buzz in Paris: flower production and plant–pollinator interactions in plants from contrasted urban and rural origins. *Genetica* 145:513–523
- Desplat J, Meskel E, Gantois M (2013) L’ îlot de chaleur urbain à Paris. Document réalisé par l’Agence Parisienne du Climat et Météo-France, avec l’appui de la Mairie de Paris et la contribution de l’Atelier Parisien d’Urbanisme, Paris

- Devaux C, Lepers C, Porcher E (2014) Constraints imposed by pollinator behaviour on the ecology and evolution of plant mating systems. *J Evol Biol* 27:1413–1430.
- Donihue CM, Lambert MR (2014) Adaptive evolution in urban ecosystems. *Ambio* 44:194–203.
- Dormann CF, Seppelt R (2007) Do organisms use landscape at certain spatial scales? A null model for diversity pattern in relation to the spatial extend of landscapes. In: Schröder B, Reuter H, Björn R (eds) *Multiple scales in ecology*. Peter Lang, Peter Lang, Internationaler Verlag der Wissenschaften, Frankfurt am Main Germany, pp 35–42
- Eckert CG, Kalisz S, Geber MA, et al (2009) Plant mating systems in a changing world. *Trends Ecol Evol* 25:35–43.
- Ellenberg H, Weber E, Düll R, et al (1992) *Zeigerwerte von Pflanzen in Mitteleuropa*. Verlag Erich Goltze KG, Göttingen
- Erbar C, Langlotz M (2005) Pollen to ovule ratios: standard or variation a compilation. *Bot Jahrbücher für Syst Pflanzengeschichte und Pflanzengeographie* 126:71–132.
- European Environment Agency (2006) *Urban sprawl in Europe -The ignored challenge*. EEA report (Vol. 10, p. 56), Copenhagen
- Fabbro T, Körner C (2004) Altitudinal differences in flower traits and reproductive allocation. *Flora - Morphol Distrib Funct Ecol Plants* 199:70–81.
- Fahrig L (2003) Effects of Habitat Fragmentation on Biodiversity. *Annu Rev Ecol Environ Syst* 34:487–515.
- Fitter AH, Fitter RSR (2002) Rapid Changes in Flowering Time in British Plants. *Science* 296:1689–1691.
- Fontaine C, Dajoz I, Meriguet J, Loreau M (2006) Functional diversity of plant-pollinator interaction webs enhances the persistence of plant communities. *PLoS Biol* 4:0129–0135.
- Fortel L, Henry M, Guilbaud L, et al (2014) Decreasing Abundance, Increasing Diversity and Changing Structure of the Wild Bee Community (Hymenoptera: Anthophila) along an Urbanization Gradient. *PLoS One* 9:e104679.
- Franks SJ, Sim S, Weis AE (2007) Rapid evolution of flowering time by an annual plant in response to a climate fluctuation. *Proc Natl Acad Sci* 104:1278–1282.

- Frey FM, Robertson a, Bukoski M (2007) A method for quantifying rotational symmetry. *New Phytol* 175:785–791.
- Gathmann A, Tscharntke T (2002) Foraging ranges of solitary bees. *J Anim Ecol* 71:757–764.
- Gerbault EL (1919) Hérédités chez la Cymbalaire (Première contribution). *Bull Soc Linn Normandie* 2:111–116.
- Gerbault EL (1922) Hérédités chez la Cymbalaire (Deuxième et dernière contribution). *Bull Soc Linn Normandie* 5:3–9.
- Geslin B, Gauzens B, Baude M, et al (2017) Chapter Four - Massively Introduced Managed Species and Their Consequences for Plant–Pollinator Interactions. In: David A. Bohan (ed) *Networks of Invasion: Empirical Evidence and Case Studies*. Academic Press, pp 147–199
- Geslin B, Gauzens B, Thébault E, Dajoz I (2013) Plant Pollinator Networks along a Gradient of Urbanisation. *PLoS One* 8:e63421.
- Geslin B, Le Féon V, Folschweiller M, et al (2016) The proportion of impervious surfaces at the landscape scale structures wild bee assemblages in a densely populated region. *Ecol Evol* 6:6599–6615.
- Ghebrehiwet M, Bremer B, Thulin M (2000) Phylogeny of the tribe Antirrhineae (Scrophulariaceae) based on morphological and ndhF sequence data. *Plant Syst Evol* 220:223–239.
- Goulson D (1999) Foraging strategies of insects for gathering nectar and pollen, and implications for plant ecology and evolution. *Perspect Plant Ecol Evol Syst* 2:185–209.
- Goulson D, Stout JC (2001) Homing ability of the bumblebee *bombus terrestris* (hymenoptera: apidae). *Apidologie* 32:105–111.
- Goverde M, Schweizer K, Baur B, Erhardt A (2002) Small-scale habitat fragmentation effects on pollinator behaviour : experimental evidence from the bumblebee *Bombus veteranus* on calcareous grasslands. *Biol Conserv* 104:293–299.
- Greenleaf SS, Williams NM, Winfree R, Kremen C (2007) Bee foraging ranges and their relationship to body size. *Oecologia* 153:589–596.
- Grime JP (1974) Vegetation classification by reference to strategies. *Nature* 250:26–31.

- Hadley AS, Betts MG (2011) The effects of landscape fragmentation on pollination dynamics: Absence of evidence not evidence of absence. *Biol Rev* 87:526–544.
- Hamon J, Delmas R, Maldès J, Tussac M (1988) Quelques observations sur la distribution en france d’*Isodontia* (Saussure, 1867) (Hymenoptera, Sphecidae). *L’entomologiste* 44:111–1174.
- Harder LD, Aizen MA (2010) Floral adaptation and diversification under pollen limitation. *Philos Trans R Soc B Biol Sci* 365:529–543.
- Harder LD, Barrett SCH (1995) Mating cost of large floral displays in hermaphrodite plants. *Nature* 373:512–515.
- Harder LD, Williams NM, Jordan CY, Nelson WA (2001) The effects of floral design and display on pollinator economics and pollen dispersal. In: Chittka L, Thomson JD (eds) *Cognitive Ecology of Pollination: Animal Behaviour and Floral Evolution*. Cambridge University Press, Cambridge, pp 297–317
- Harrison T, Winfree R (2015) Urban drivers of plant-pollinator interactions. *Funct Ecol* 29:879–888.
- Hedwall P-O, Brunet J (2016) Trait variations of ground flora species disentangle the effects of global change and altered land-use in Swedish forests during 20 years. *Glob Chang Biol* 22:4038–4047.
- Hernandez J (2009) Ecology of urban bees: a review of current knowledge and directions for future study. *Cities Environ* 2:1–15.
- Hervé M (2016) Aide-mémoire de statistique appliquée à la biologie.
- Hope D, Gries C, Zhu W, et al (2003) Socioeconomics drive urban plant diversity. *Proc Natl Acad Sci* 100:8788–8792.
- Jackson HB, Fahrig L (2015) Are ecologists conducting research at the optimal scale? *Glob Ecol Biogeogr* 24:52–63.
- Jackson HB, Fahrig L (2012) What size is a biologically relevant landscape? *Landsc Ecol* 27:929–941.
- Jacquemyn H, de Meester L, Jongejans E, Honnay O (2012) Evolutionary changes in plant reproductive traits following habitat fragmentation and their consequences for population

- fitness. *J Ecol* 100:76–87.
- Johnson MTJ, Thompson KA, Saini HS (2015) Plant evolution in the urban jungle. *Am J Bot* 102:1951–1953.
- Joshi NK, Otieno M, Rajotte EG, et al (2016) Proximity to Woodland and Landscape Structure Drives Pollinator Visitation in Apple Orchard Ecosystem. *Front Ecol Evol* 4:1–9.
- Jung M (2016) LecoS - A python plugin for automated landscape ecology analysis. *Ecol Inform* 31:18–21.
- Kawecki TJ, Ebert D (2004) Conceptual issues in local adaptation. *Ecol Lett* 7:1225–1241.
- Kearns CA, Inouye DW, Waser NM (1998) Endangered mutualisms : The Conservation of Plant-Pollinator Interactions. *Annu Rev Ecol Syst* 29:83–112.
- Kennedy CM, Lonsdorf E, Neel MC, et al (2013) A global quantitative synthesis of local and landscape effects on wild bee pollinators in agroecosystems. *Ecol Lett* 16:584–599.
- Kettlewell HBD (1955) Selection experiments on industrial melanism in the *Lepidoptera*. *Heredity (Edinb)* 9:323–342.
- Kindlmann P, Burel F (2008) Connectivity measures: a review. *Landsc Ecol* 23:879–890.
- Kirchner F, Luijten SH, Imbert E, et al (2005) Effects of local density on insect visitation and fertilization success in the narrow-endemic *Centaurea corymbosa* (Asteraceae). *Oikos* 111:130–142.
- Knapp S, Kühn I, Bakker JP, et al (2009) How species traits and affinity to urban land use control large-scale species frequency. *Divers Distrib* 15:533–546.
- Knapp S, Kühn I, Schweiger O, Klotz S (2008a) Challenging urban species diversity: contrasting phylogenetic patterns across plant functional groups in Germany. *Ecol Lett* 11:1054–1064.
- Knapp S, Kuhn I, Wittig R, et al (2008b) Urbanization causes shifts in species' trait state frequencies. *Preslia* 80:375–388.
- Knapp S, Stadler J, Harpke A, Klotz S (2016) Dispersal traits as indicators of vegetation dynamics in long-term old-field succession. *Ecol Indic* 65:44–54.
- Kotkin J, Cox W, Modarres A, Renn AM (2014) The problem with megacities. *Chapman*

University, Orange, CA

- Krauss J, Steffan-Dewenter I, Tschamntke T (2003) How does landscape context contribute to effects of habitat fragmentation on diversity and population density of butterflies? *J Biogeogr* 30:889–900.
- Lambrecht SC, Mahieu S, Cheptou P-O (2016) Natural selection on plant physiological traits in an urban environment. *Acta Oecologica* 77:67–74.
- Lande R, Arnold SJ (1983) The measurement of selection on correlated characters. *Evolution* (N Y) 37:1210–1226.
- Laugier R (2012) L'étalement urbain en France. 1–24. Synthèse documentaire à l'initiative du Centre de Ressources Documentaires Aménagement, Logement et Nature. http://www.cdu.urbanisme.equipement.gouv.fr/IMG/pdf/Synthese_Etalement_Urbain2012.pdf.
- Legendre P, Anderson MJ (1999) Distance-based redundancy analysis: testing multispecies responses in multifactorial ecological experiments. *Ecol Monogr* 69:1–24.
- Leinonen T, McCairns RJS, O'Hara RB, Merilä J (2013) QST-FST comparisons: evolutionary and ecological insights from genomic heterogeneity. *Nat Rev Genet* 14:179–190.
- Lloyd DG (1987) Selection of Offspring Size at Independence and Other Size-Versus-Number Strategies. *Am Nat* 129:800–817.
- Lopez-Urbe MM, Oi CA, Del Lama AM (2008) Nectar-foraging behavior of Euglossine bees (Hymenoptera : Apidae) in urban areas. *Apidologie* 39:410–418.
- Luck GW, Ricketts TH, Daily GC, Imhoff M (2004) Alleviating spatial conflict between people and biodiversity. *Proc Natl Acad Sci* 101:182–186.
- MacIvor JS, Cabral JM, Packer L (2014) Pollen specialization by solitary bees in an urban landscape. *Urban Ecosyst* 17:139–147.
- Matteson KC, Ascher JS, Langellotto GA (2009) Bee Richness and Abundance in New York City Urban Gardens. *Ann Entomol Soc Am* 101:140–150.
- Matteson KC, Langellotto GA (2009) Bumble Bee Abundance in New York City Agriculture. *Cities Environ* 2:1–12.
- Matteson KC, Langellotto GA (2010) Determinates of inner city butterfly and bee species

- richness. *Urban Ecosyst* 13:333–347.
- Maxwell S, Fuller RA, Brooks TM, Watson JEM (2016) The ravages of guns, nets and bulldozers. *Nature* 536:143–145.
- McDonnell MJ, Hahs AK (2008) The use of gradient analysis studies in advancing our understanding of the ecology of urbanizing landscapes: Current status and future directions. *Landsc Ecol* 23:1143–1155.
- McGarigal K, Cushman S, Neel M, Ene E (2002) FRAGSTATS v3: Spatial Pattern Analysis Program for Categorical Maps. Computer software program produced by the authors at the University of Massachusetts, Amherst (Available at the following web site: <http://www.umass.edu/landeco/research/fragstats/fragstats>).
- McKinney ML (2008) Effects of urbanization on species richness: A review of plants and animals. *Urban Ecosyst* 11:161–176.
- Memmott J, Waser NM, Price MV (2004) Tolerance of pollination networks to species extinctions. *Proc Biol Sci* 271:2605–2611.
- Metcalf CJE (2000) Invisible Trade-offs : Van Noordwijk and de Jong and Life-History Evolution. doi: 10.1086/685487
- Mevik B-H, Wehrens R (2007) The pls Package: Principle Component and Partial Least Squares Regression in R. *J Stat Softw* 18:1–24.
- Meyer B, Jauker F, Steffan-Dewenter I (2009) Contrasting resource-dependent responses of hoverfly richness and density to landscape structure. *Basic Appl Ecol* 10:178–186.
- Meyer N, Maumy-Bertrand M, Bertrand F (2010) Comparaison de variantes de régressions logistiques PLS et de régression PLS sur variables qualitatives: application aux données d'allélotypage. *J la Société Française Stat* 151:1–18.
- Michalski SG, Durka W (2009) Pollination mode and life form strongly affect the relation between mating system and pollen to ovule ratios. *New Phytol* 183:470–479.
- Michener CD (2007) *The Bees of the World*, Second edi. The Johns Hopkins University Press, Baltimore
- Milius S (2016) Cities alter plant, animal evolution. *Sci. News* 17–21.
- Neil K, Wu J (2006) Effects of urbanization on plant flowering phenology: A review. *Urban*

Ecosyst 9:243–257.

- Neukirch A (1982) Dependence of the life span of the honeybee (*Apis mellifica*) upon flight performance and energy consumption. *J Comp Physiol* 146:35–40.
- Novakovskiy A, Maslova S, Dalke I, Dubrovskiy Y (2016) Patterns of Allocation CSR Plant Functional Types in Northern Europe. *International Journal of Ecology* 2016:1–11
- Ollerton J (1996) Reconciling Ecological Processes with Phylogenetic Patterns: The Apparent Paradox of Plant. Pollinator Systems. *J Ecol* 84:767–769.
- Ollerton J, Erenler H, Edwards M, Crockett R (2014) Extinctions of aculeate pollinators in Britain and the role of large-scale agricultural changes. *Science* 346:1360–1362.
- Omhovere M, Awada F, Charre S (2015) Vers une stabilisation des pressions foncières en milieu rural ? 708:1–4.
- Osborne JL, Martin AP, Carreck NL, et al (2008) Bumblebee flight distances in relation to the forage landscape. *J Anim Ecol* 77:406–415.
- Pageaud D (2010) L'occupation des sols. In: *L'environnement en France*. Edition 2010. Commissariat général au développement durable, Service de l'observation et des statistiques, Paris, pp 41–46
- Pautasso M (2007) Scale dependence of the correlation between human population presence and vertebrate and plant species richness. *Ecol Lett* 10:16–24.
- Pellissier V, Muratet A, Verfaillie F, Machon N (2012) Pollination success of *Lotus corniculatus* (L.) in an urban context. *Acta Oecologica* 39:94–100.
- Pellissier V, Rozé F, Aguejdad R, et al (2008) Relationships between soil seed bank, vegetation and soil fertility along an urbanisation gradient. *Appl Veg Sci* 11:325–334.
- Politi Bertoncini A, Machon N, Pavoine S, Muratet A (2012) Local gardening practices shape urban lawn floristic communities. *Landsc Urban Plan* 105:53–61.
- Pope SE, Fahrig L, Merriam HG (2000) Landscape complementation and metapopulation effects on leopard frog populations. *Ecology* 81:2498–2508.
- Potter A, LeBuhn G (2015) Pollination service to urban agriculture in San Francisco, CA. *Urban Ecosyst* 18:885–893.

- Pyšek P (1998) Alien and native species in Central European urban floras: a quantitative comparison. *J Biogeogr* 25:155–163.
- QGIS Development Team (2015) QGIS Geographic Information System. Open Source Geospatial Foundation Project. (<http://qgis.osgeo.org>).
- R Core Team (2016) R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria (<http://www.R-project.org/>).
- Rasband WS (2017) ImageJ 1.48v, U. S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA, <http://imagej.nih.gov/ij/>.
- Reznick DN, Ghalambor CK (2001) The population ecology of contemporary adaptations: What empirical studies reveal about the conditions that promote adaptive evolution. *Genetica* 183–198.
- Ricketts TH (2001) The matrix matters: effective isolation in fragmented landscapes. *Am Nat* 158:87–99.
- Riffell JA, Shlizerman E, Sanders E, et al (2014) Sensory biology. Flower discrimination by pollinators in a dynamic chemical environment. *Science* 344:1515–8.
- Ripley B, Venables W (2016) Package “ nnet ”. Feed-Forward Neural Networks and Multinomial Log-Linear Models. 1–11.
- Roetzer T, Wittenzeller M, Haeckel H, Nekovar J (2000) Phenology in central Europe – differences and trends of spring phenophases in urban and rural areas. *Int J Biometeorol* 44:60–66.
- Rossi JP, van Halder I (2010) Towards indicators of butterfly biodiversity based on a multiscale landscape description. *Ecol Indic* 10:452–458.
- Salisbury A, Armitage J, Bostock H, et al (2015) Enhancing gardens as habitats for flower-visiting aerial insects (pollinators): should we plant native or exotic species? *J Appl Ecol* 52:1156–1164.
- Sarkar SK, Chang C-K (1997) The Simes Method for Multiple Hypothesis Testing With Positively Dependent Test Statistics. *J Am Stat Assoc* 92:1601–1608.
- Sattler T, Duelli P, Obrist MK, et al (2010) Response of arthropod species richness and functional groups to urban habitat structure and management. *Landsc Ecol* 25:941–954.

- Schmid-Hempel P, Kacelnik A, Houston AI (1985) Honeybees Maximize Efficiency by Not Filling Their Crop. *Behav Ecol Sociobiol* 17:61–66.
- Seto KC, Güneralp B, Hutyrá LR (2012) Global forecasts of urban expansion to 2030 and direct impacts on biodiversity and carbon pools. *Proc Natl Acad Sci* 109:16083–16088.
- Seto KC, Parnell S, Elmqvist T (2013) A Global Outlook on Urbanization. In: Elmqvist T, Michail F, Goodness J, et al. (eds) *Urbanization, Biodiversity and Ecosystem Services: Challenges and Opportunities*. Springer Netherlands, pp 453–459
- Seto KC, Sánchez-Rodríguez R, Fragkias M (2010) The New Geography of Contemporary Urbanization and the Environment. *Annu Rev Environ Resour* 35:167–194.
- Sicard A, Lenhard M (2011) The selfing syndrome: A model for studying the genetic and evolutionary basis of morphological adaptation in plants. *Ann Bot* 107:1433–1443.
- Simes RJ (1986) An improved Bonferroni procedure for multiple tests of significance. *Biometrika* 73:751–754.
- Skibinska E (1986) Structure of Sphecidae (Hymenoptera) communities in urban green areas of warsaw. *Memorab Zool* 41:125–186.
- Smith CC, Fretwell SD (1974) The Optimal Balance between Size and Number of Offspring. *Am Nat* 108:499–506.
- Stang M, Klinkhamer PGL, Van Der Meijden E (2006) Size constraints and flower abundance determine the number of interactions in a plant-flower visitor web. *Oikos* 112:111–121.
- Steffan-Dewenter I, Münzenberg U, Bürger C, et al (2002) Scale-dependant effects of landscape context on three pollinator guilds. *Ecology* 83:1421–1432.
- Steffan-Dewenter I, Tschamtké T (1999) Effects of habitat isolation on pollinator communities and seed set. *Oecologia* 121:432–440.
- Stehlik I, Caspersen JP, Wirth L, Holderegger R (2007) Floral free fall in the Swiss lowlands: environmental determinants of local plant extinction in a peri-urban landscape. *J Ecol* 95:734–744.
- Su Z, Li X, Zhou W, Ouyang Z (2015) Effect of Landscape Pattern on Insect Species Density within Urban Green Spaces in Beijing, China. *PLoS One* 10:e0119276.
- Tenenhaus M (1998) *La regression PLS: théorie et pratique*, TECHNIP. Paris

- Thébault E, Fontaine C (2010) Stability of Ecological Communities and the Architecture of Mutualistic and Trophic Networks. *Science* 329:853–856.
- Thomann M, Imbert E, Devaux C, Cheptou PO (2013) Flowering plants under global pollinator decline. *Trends Plant Sci* 18:353–359.
- Thompson KA, Renaudin M, Johnson MTJ (2016) Urbanization drives the evolution of parallel clines in plant populations. *Proc R Soc B Biol Sci* 1803: 20142849.
- Threlfall CG, Walker K, Williams NSG, et al (2015) The conservation value of urban green space habitats for Australian native bee communities. *Biol Conserv* 187:240–248.
- Touati A (2010) Histoire des discours politiques sur la densité. In: *La densification en débat. études foncières*, n°145, pp 24–26
- Turcotte Y, Desrochers A (2003) Landscape-dependent response to predation risk by forest birds. *Oikos* 100:614–618.
- United Nations (2014) *World Urbanization Prospects: The 2014 Revision*. New York: United Nations
- US EPA: Climate Protection Partnership Division (2008) *Reducing Urban Heat Islands : Compendium of Strategies Urban Heat Island Basics*. In: Hogan K, Rosenberg J, Denny A (eds) *Urban heat island basics*. Washington, DC: Climate Protection Partnership Division, U.S. Environmental Protection Agency.
- Ushimaru A, Kobayashi Atsumi, Dohzono I (2014) Does Urbanization Promote Floral Diversification? Implications from Changes in Herkogamy with Pollinator Availability in an Urban-Rural Area. *Am Nat* 184:258–267.
- Valdés B, Lifante ZD (1996) Habitual autogamy in *Linaria tursica* Valdés et Cabezudo (Scrophulariaceae). *Flora* 191:329–333.
- Vallet J, Daniel H, Beaujouan V, et al (2010) Using biological traits to assess how urbanization filters plant species of small woodlands. *Appl Veg Sci* 13:412–424.
- van Noordwijk AJ, de Jong G (1986) Acquisition and Allocation of Resources: Their Influence on Variation in Life History Tactics. *Am Nat* 128:137–142.
- Vancolen S (2004) *La régression PLS. Mémoire Postgrade en Stat Univ Neuchâtel, Suisse* 1–28.

- Vanderwal J, Falconi L, Januchowski S, et al (2015) Package “SDMTools”.
- Vernier R (1995) *Isodontia mexicana* (Sauss.), un Sphecini américain naturalisé en Suisse (Hymenoptera, Sphecidae). J Swiss Entomol Soc 68:169–177.
- Warzecha D, Diekötter T, Wolters V, Jauker F (2016) Intraspecific body size increases with habitat fragmentation in wild bee pollinators. Landsc Ecol 31:1449–1455.
- Watkins R, Palmer J, Kolokotroni M (2007) Increased Temperature and Intensification of the Urban Heat Island: Implications for Human Comfort and Urban Design. Built Environ 33:85–96.
- Weber A, Kolb A (2011) Evolutionary consequences of habitat fragmentation: Population size and density affect selection on inflorescence size in a perennial herb. Evol Ecol 25:417–428.
- Weiner J, Martinez S, Muller-Scharer H, et al (1997) How important are environmental maternal effects in plants? A study with *Centaurea maculosa*. J Ecol 85:133–142.
- Westoby M, Falster DS, Moles AT, et al (2002) Plant Ecological Strategies: Some Leading Dimensions of Variation Between Species. Annu Rev Ecol Syst 33:125–159.
- Westphal C, Steffan-Dewenter I, Tschardt T (2006) Bumblebees experience landscapes at different spatial scales: Possible implications for coexistence. Oecologia 149:289–300.
- Westphal C, Steffan-Dewenter I, Tschardt T (2003) Mass flowering crops enhance pollinator densities at a landscape scale. Ecol Lett 6:961–965.
- Westrich P (1998) Die Grabwespe *Isodontia mexicana* (Saussure 1867) nun auch in Deutschland gefunden (Hymenoptera: Sphecidae). Entomol Zeitschrift 108:1997–1998.
- Whitlow TH, Bassuk NL, Reichert DL (1992) A 3-Year Study of Water Relations of Urban Street Trees. J Appl Ecol 29:436–450.
- Williams NM, Crone EE, Roulston TH, et al (2010) Ecological and life-history traits predict bee species responses to environmental disturbances. Biol Conserv 143:2280–2291.
- Williams NSG, Hahs AK, Vesik PA (2015) Urbanisation, plant traits and the composition of urban floras. Perspect Plant Ecol Evol Syst 17:78–86.
- Williams NSG, Schwartz MW, Vesik PA, et al (2009) A conceptual framework for predicting the effects of urban environments on floras. J Ecol 97:4–9.

- Wojcik VA, McBride JR (2012) Common factors influence bee foraging in urban and wildland landscapes. *Urban Ecosyst* 15:581–598.
- Wold S, Sjöström M, Eriksson L (2001) PLS-regression: A basic tool of chemometrics. *Chemom Intell Lab Syst* 58:109–130.
- Worley AC, Barrett SCH (2001) Evolution of floral display in *Eichhornia paniculata* (Pontederiaceae): genetic correlations between flower size and number. *J Evol Biol* 14:469–481.
- Wright IR, Roberts SPM, Collins BE (2015) Evidence of forage distance limitations for small bees (Hymenoptera: Apidae). *Eur J Entomol* 112:303–310.
- Yakub M, Tiffin P (2017) Living in the city: urban environments shape the evolution of a native annual plant. *Glob Chang Biol* 23:2082–2089.
- Zerbe S, Maurer U, Schmitz S, Sukopp H (2003) Biodiversity in Berlin and its potential for nature conservation. *Landsc Urban Plan* 62:139–148.
- Zuur AF, Ieno EN, Elphick CS (2010) A protocol for data exploration to avoid common statistical problems. *Methods Ecol Evol* 1:3–14.

Annexe

Rapport de stage

Soutenance le 06/06/2017

Etude des interactions plante-pollinisateur dans un paysage fragmenté : une approche par simulation

Jérôme Eschenbrenner



Photo SPIPOLL



Master mention Sciences De l'Univers, Environnement, Ecologie, spécialité EBE

M1 Ecologie, Biodiversité, Evolution (EBE), 2016 / 2017

Encadrants : James Desaegher et Bruno Colas

UMR 8079 Ecologie, Systématique et Evolution (ESE), Equipe Trajectoires EcologiqueS et Société (TESS)

Du 03 Avril au 05 Mai et du 22 Mai au 26 Mai

Table des matières

Introduction	1
Relation plantes-pollinisateurs	1
Contexte : urbanisation des paysages	1
Modèle biologique utilisé	1
La recherche de nourriture	2
Principe d'optimisation (Optimal Foraging)	2
Quand partir et le théorème de la valeur marginale	2
Effet de la fragmentation sur ce théorème	3
Matériels et méthodes	4
Modèle de Charnov modifié : une approche mathématique	4
A l'échelle intra-patch :	5
A l'échelle du paysage :	6
Règle de décision :	6
Explication de la simulation	6
Création des différents types de patches	6
Méthode de pollinisation dans un patch	7
Duré optimale de pollinisation d'un patch, changement de patch	8
Représentation du paysage	9
Paramétrage et généralités	9
Résultats	10
Approche mathématiques	10
Etude des résultats de la simulation	10
Comportement du pollinisateur à l'échelle Intra-patch	10
Etude du départ du pollinisateur au sein de patches de taille variable	11
Etude du départ du pollinisateur au sein de patches plus ou moins éloignés	12
Etude du départ du pollinisateur quand le paysage est constant	13
Discussion	14
Informations apportées par les résultats	14
Critiques	16
Perspectives	17
Bibliographie	18
Webographie	19

Introduction

Relation plantes-pollinisateurs

Contexte : urbanisation des paysages

Alors que la population humaine ne cesse d'augmenter, notre impact sur l'environnement se fait de plus en plus sentir. Les abeilles pollinisatrices et les plantes à fleurs en pâtissent tous deux. Dans le contexte d'urbanisation qu'est le nôtre, il est crucial de comprendre non seulement nos impacts sur chacun de ces deux groupes, mais aussi nos impacts sur leurs relations.

Nous savons que les abeilles pollinisatrices sont en déclin (Goulson et al. 2015), notamment à cause de la fragmentation des paysages et des écosystèmes (McKinney, 2008), de l'intensification de l'agriculture (Tschamntke et al., 2005), et de l'augmentation des surfaces imperméables (de type asphalte, béton...), conduisant à une perte des habitats et à leur fragmentation (Geslin et al., 2016). De même, les plantes à fleurs entomophiles ont une diversité spécifique plus faible (McKinney, 2008). Au niveau phénologique, les plantes fleurissent plus tôt en milieu urbain, sans doute à cause d'un effet d'îlot de chaleur (Neil et Wu, 2006).

La pollinisation impacte la dynamique des populations de plantes utilisant la fécondation entomophile, et la répartition, abondance et qualité des fleurs impactent la dynamique des populations de pollinisateurs, qui utilisent nectar et pollen pour se nourrir et nourrir leurs larves. Les relations plantes-pollinisateurs sont très influencées par l'urbanisation (Geslin et al., 2013).

Modèle biologique utilisé

Mon stage est basée sur la construction d'un modèle théorique et des simulations de Monte Carlo, le modèle biologique sous-jacent, ayant servi à calibrer les paramètres du modèle théorique, est le modèle cymbalaire des murs ([Cymbalaria muralis](#) P.Gaertn., B.Mey. & Scherb., [Plantaginaceae](#)) – abeille halicte *Lasioglossum malachurum* Kirby (Hymenoptera). La cymbalaire est une herbacée vivant principalement sur les murs des milieux urbains et ruraux, produisant de nombreuses petites fleurs hermaphrodites, d'avril à septembre. La *Lasioglossum* est une abeille noire de petite taille (1cm) vivant en colonie dans les sols.

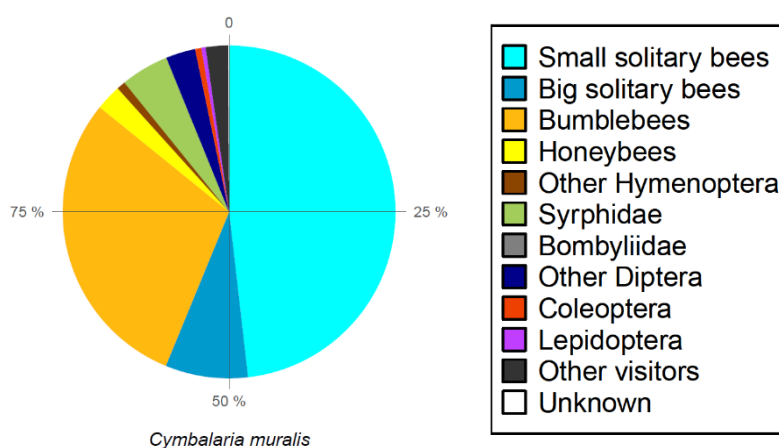


Figure 1 : Fréquence d'observation des pollinisateurs sur *Cymbalaria muralis* au cours de l'expérience en conditions contrôlées de Desaeagher et al. (données non publiées). Une majorité de petites abeilles solitaires et halictes avaient visité la cymbalaire.

James Desaegher, un des encadrants de mon stage, a dénombré et identifié les pollinisateurs de la cymbalaire en Ile-de-France au cours de sa thèse. Presque la moitié étaient des abeilles solitaires (nommé ainsi par opposition aux abeilles domestiques, et non à cause de leur mode de vie), et parmi celles-là la majorité étaient des *Lasioglossum* (figure 1).

La recherche de nourriture

La nourriture est un point critique de la survie des abeilles et de leurs larves. De nombreux traits relatifs au butinage ont ainsi évolué chez les insectes butineurs (Goulson, 1999). Parmi ceux-là, on compte notamment des traits comportementaux. De nombreux choix vont être effectués par les abeilles : le choix de l'espèce, de la fleur, du sexe de la fleur chez les espèces végétales monoïques, le choix de changer de lieu de butinage ou de rentrer au nid, etc.

Principe d'optimisation (Optimal Foraging)

Le concept de principe d'optimisation a été développé dans les années 1960, et a connu une certaine popularité dans les décennies qui suivirent. Ce concept essaie de prédire le comportement d'animaux par modélisation mathématique, à partir du fait que la valeur sélective de ces animaux est fonction de ces comportements, avec l'hypothèse que la sélection naturelle a dû au cours de l'histoire favoriser des gènes induisant des comportements optimaux (Pyke et al., 1977), sélection limitée par des contraintes spécifiques et environnementales (Benhamou, 1993). Cette hypothèse est forte, mais est relativement bien respectée dans le cas des butineurs, notamment ceux qui, quand ils sortent butiner, ne font que cela (comme chez certains insectes sociaux) (Goulson, 1999). Il est important de noter que l'accumulation de ressources est directement liée à l'accumulation d'énergie. Le comportement lié au butinage n'est bien sûr pas le seul trait faisant varier la valeur sélective, mais son impact est fort. Outre cette hypothèse sur l'optimisation, les autres hypothèses nécessaires pour étudier l'évolution doivent être faites (Pyke, 1984). Notons que la notion de prédation est souvent utilisée par ces modèles, mais ils sont parfaitement applicables au butinage.

Quatre types de stratégies de butinage ont surtout été étudiées (Pyke et al., 1977) : (1) quel type de nourriture butiner (régime optimal), (2) dans quel type de patchs butiner (choix de patch optimal), (3) quand partir du patch (changement de patch optimal) et (4) comment se déplacer, à différentes échelles (mouvement optimal). Nous nous concentrerons dans ce rapport sur la (3).

Quand partir et le théorème de la valeur marginale

Développé par Charnov (1976), le théorème de la valeur marginale est très vite devenu incontournable. Malgré son âge et ses simplicités, il reste une base solide pour une approche globale et qualitative du sujet. Ce modèle se concentre sur la question suivante : Quand le prédateur, récoltant des ressources réparties en patchs dans un milieu (de manière hétérogène), devrait-il quitter le patch où il se trouve pour aller dans un autre, de façon à maximiser sa récolte d'énergie ?

En plus des hypothèses de base des approches évolutives, une autre est faite : le pollinisateur, en accumulant des ressources, diminue petit à petit le taux d'accumulation des ressources de ce patch, jusqu'à une asymptote.

Charnov démontre mathématiquement que, dans ces conditions, un pollinisateur devrait quitter le patch qu'il est en train d'exploiter quand son taux d'accumulation d'énergie net dans le patch qu'il est en train de butiner devient plus petit que le taux d'accumulation moyen d'énergie net optimal dans le paysage.

Essayons de mieux se représenter ce que cela signifie. Le taux d'accumulation moyen d'énergie net optimal peut être vu comme la quantité d'énergie accumulée après le butinage d'un patch moyen situé à une distance moyenne, prenant en compte les patches qui intéressent le pollinisateur. C'est une fonction qui représente le taux d'accumulation d'énergie moyen par le pollinisateur en fonction de la distance moyenne entre tous les patches, et en fonction du départ théorique du pollinisateur de ces patches (patches qu'il n'a pas encore visités). Ce n'est donc pas une courbe, mais une fonction qui a autant de dimensions qu'il y a de différents types de patches (plus celle de la variation de la distance inter-patches). Cette énergie gagnée est optimale quand cette fonction est à son maximum. Or, le pollinisateur ne contrôle que le moment de son départ. Ainsi la fonction est optimale si le pollinisateur part de chaque patch au bon moment. Finalement, le pollinisateur a un comportement optimal s'il décide de partir de son patch quand son taux instantané d'accumulation d'énergie au sein du patch devient plus faible que l'espérance du taux d'accumulation dans le paysage alentour.

Cela suggère que le butineur est censé connaître le taux d'accumulation moyen dans le paysage. Il est cependant possible d'obtenir des résultats similaires s'il dispose simplement d'une estimation de ce taux a priori (acquis avec son expérience), qu'il peut modifier à posteriori à chaque fois qu'il butine (Benhamou, 1993).

Au final, ce théorème permet, en partant d'un paysage où l'abondance et la répartition des ressources peuvent être en partie inconnues ou stochastiques, d'élaborer une règle de décision déterministe simple. Il existe d'autres modèles, avec d'autres règles, utilisables dans des cas où les contraintes sont différentes (eg. Hodges, 1981). Nous ne nous concentrerons ici que le théorème de la valeur marginale.

Effet de la fragmentation sur ce théorème

La fragmentation a pour effet de changer le paysage (Xiao et al., 2016), notamment en augmentant la distance entre les patches de fleurs et en diminuant leur taille. Cela devrait avoir un effet sur le comportement du pollinisateur, puisque que cela augmentera le coût de vol (Zurbuchen et al., 2010) et diminuera les ressources disponibles dans chaque patch. Plusieurs études ont abordé l'impact de l'urbanisation et de la fragmentation sur la relation plantes-pollinisateurs (Xiao et al., 2016), mais très peu semble s'être portée sur les impacts de l'isolement des patches chez les abeilles (Andrieu et al., 2009), et aucune par le biais du principe d'optimisation et du modèle de Charnov.

Mon travail ici sera d'appliquer une variante du théorème de la valeur marginale à la problématique de la fragmentation pour essayer d'établir des prédictions sur le changement de comportement des abeilles et la relation plantes-pollinisateurs.

Matériels et méthodes

Modèle de Charnov modifié : une approche mathématique

Voici une version modifiée du modèle de stratégie de recherche optimale de nourriture de Charnov (1976), le théorème de la valeur marginale. Nous reprenons ce modèle ici, pour l'appliquer de façon discrète et non plus continue, au butinage des halictes et abeilles solitaires.

Un autre changement important de notre modèle par rapport à celui de Charnov est qu'on va considérer que le comportement optimal du pollinisateur n'est plus celui qui optimise l'accumulation d'énergie par unité de temps mais celui qui optimise l'accumulation d'énergie par unité d'énergie dépensée pour son déplacement. Ainsi, dans les limites de ses contraintes cognitives, ce qui importera aux pollinisateurs, ce ne sont pas les contraintes temporelles, mais les contraintes énergétiques. Il y a deux raisons à cela. D'abord, les coûts de vol, qui sont énergiquement chers. Comme prouvé par Schmid-Hempel et al. (1985), si les coûts énergétiques dépensés pendant le butinage sont modestes, alors la stratégie optimale est celle qui maximisera l'énergie collectée divisée par le temps de vol. Au contraire, si ces coûts sont importants, alors la stratégie optimale est celle qui maximisera l'énergie collectée divisée par l'énergie dépensée. C'est le cas pour les abeilles (Harrison & Fewell, 2002). La deuxième raison est la composante discrète du modèle : peu nous importe si le pollinisateur marque un petit arrêt de temps en temps, du moment qu'il reprend son butinage sans activité intermédiaire ; ce qui sera optimisé au final, c'est son gain d'énergie.

Nous posons en outre quelques hypothèses supplémentaires :

- H1: L'énergie dépensée par le pollinisateur, pour le parcours de la distance intra-patch d'une fleur à une autre fleur est toujours la même **OU** $\forall i, j, k, l$ fleurs d'un même patch, l'énergie dépensée par le pollinisateur pour se déplacer entre i et j est égale à celle dépensée entre k et l .
- H2: Le comportement du pollinisateur est optimal (ou presque), c'est-à-dire que ses choix comportementaux le conduisent à maximiser la quantité d'énergie récoltée. Le pollinisateur ne contrôle que les choix de (1) la fleur qu'il visitera en intra patch et (2) de changer de patch.
- H3: A chaque pas du modèle, le pollinisateur change de position. Un pas du modèle correspond donc à une unité de distance.
- H4: Il y a, pendant la période de butinage prise en compte dans notre modèle, toujours assez de patches à visiter dans le paysage pour que le pollinisateur n'ait pas à revenir sur un déjà visité. La durée de sa période de butinage est limitée par le poids des ressources accumulées.

De plus, alors que le modèle de Charnov est général, nous ne nous concentrerons que sur les patches d'une seule espèce de plante (constance florale : Goulson, 1999), et que sur ceux connus, atteignable et attractifs pour le pollinisateur, d'où la notion de « patches intéressants pour le pollinisateur ». Dans ces patches, toutes les fleurs sont identiques au départ d'une séquence de butinage.

Avant de poser les équations du modèle, définissons les variables et constantes.

D_{unit} : Energie dépensée par le pollinisateur, pendant le parcours d'une unité de distance. En unité d'énergie. Puisque les autres variables sont exprimées relativement à cette constante, on pose $D_{unit} = 1$.

i : pas du modèle où a lieu le départ du pollinisateur de son patch.

$D(i)$: Energie totale dépensée par le pollinisateur pour se déplacer dans le patch jusqu'au pas i . En unité d'énergie, relative au coût d'un déplacement. Par définition et avec H1, $D(i) = i * D_{unit} = i$.

$RFb(i)$: Quantité de d'énergie brute accumulée (énergie accumulée réelle moins toute l'énergie dépensée pour autre chose que ses déplacements), dans un patch, depuis l'entrée du pollinisateur dans celui-ci et pendant i pas du modèle. En unité d'énergie, relative au coût d'un déplacement. Notons que le butinage a pour effet de réduire la quantité de ressources disponibles du patch.

$RFn(i)$: Quantité de d'énergie nette (corrigée par la dépense énergétique de déplacement) accumulée dans un patch, depuis l'entrée du pollinisateur dans celui-ci et pendant i pas du modèle. En unité d'énergie, relative au coût d'un déplacement. Par définition, $RFn(i) = RFb(i) - D(i) = RFb(i) - i$.

Si on considère un paysage composé de plusieurs types de patch, P_x est la probabilité qu'un patch qui intéresse le pollinisateur lors de son changement de patch soit de type x . Dans notre simulation, les patches différents par leur nombre de fleurs.

Nous allons nous situer maintenant à l'échelle du paysage, qui comprend de nombreux patches. On notera maintenant $RFn(i)$ comme $RFn_x(i_x)$, pour indiquer que (1) l'accumulation de d'énergie nette et (2) la distance parcourue au sein d'un patch avant le départ de celui-ci, peuvent être différentes entre les patches. Ainsi, la quantité d'énergie nette accumulée moyenne entre x types de patches, pour des départs intra-patch à i_x , sera donc : $\overline{RFn(i_x)} = \sum_x RFn_x(i_x) * P_x$.

$\overline{D_{inter}}$ est l'énergie moyenne dépensée par le pollinisateur lors de son changement de patch, pour le parcours de la distance entre son patch et un autre patch qui l'intéresse ainsi qu'entre ces patches.

$TRFn(i_x)$ (Taux): Quantité d'énergie nette accumulée moyenne entre x types de patch par unité énergie dépensé pour le parcours une unité de distance, pour des départs intra-patch à i_x . Pas d'unité.

$$\text{Par définition, } TRFn(i_x) = \frac{\overline{RFn(i_x)} - \overline{D_{inter}}}{\sum_x D(i_x) * P_x + \overline{D_{inter}}} = \frac{\sum_x RFn_x(i_x) * P_x - \overline{D_{inter}}}{\sum_x D(i_x) * P_x + \overline{D_{inter}}} = \frac{\sum_x (RFb_x(i_x) - D(i_x)) * P_x - \overline{D_{inter}}}{\sum_x i_x * P_x + \overline{D_{inter}}}$$

A l'échelle intra-patch :

Plaçons-nous maintenant à l'intérieur d'un patch seulement.

Le taux d'accroissement (la dérivée) de la fonction $RFn(i)$ au point i est $\frac{dRFn}{di}$, avec i le nombre de distances unitaires parcourues. Cela nous donne la variation d'énergie nette accumulée entre deux pas.

A l'échelle du paysage :

Voici maintenant la fonction $TRFn(i_x)$, appliquée aux patchs qui intéressent le pollinisateur dans ses alentours.

$TRFn_{inter}(i_x)$ (Taux): Quantité d'énergie nette accumulée moyenne entre x types de patchs autour du pollinisateur et qui l'intéresse, par pas du modèle, pour des départs intra-patch à i_x .

$$TRFn_{inter}(i_x) = \frac{\sum_x (Rfb_x(i_x) - D(i_x)) * P_x - \overline{D_{inter}}}{\sum_x i_x * P_x + \overline{D_{inter}}}$$

Règle de décision :

Selon la théorie de la valeur marginale, le pollinisateur devrait quitter le patch qu'il est en train d'exploiter quand la variation d'énergie nette accumulée entre deux pas devient plus petite que le taux d'accumulation moyen d'énergie nette ($TRFn_{inter}(i_x)$) optimal.

Notons $TRFn_{inter}(i_x)$ comme $TRFn_{inter}^*$ quand toutes les distances $D(i_x)$ sont aux valeurs optimales qui permettent de maximiser $TRFn_{inter}(i_x)$. Ces distances optimales $D(i_x^*)$ sont trouvées en posant $\Delta_{i,i+1} TRFn_{inter}(i_x) = 0$.

Ces valeurs optimales vérifient l'équation $\frac{dRFn}{di} = TRFn_{inter}^*$. Le pollinisateur changera de patch quand $\frac{dRFn}{di}$ deviendra plus petit que $TRFn_{inter}^*$.

Notons que $\frac{dRFn}{di} > TRFn_{inter}^*$ au début du butinage d'un patch, puis $\frac{dRFn}{di}$ diminue jusqu'à être plus petit que $TRFn_{inter}^*$, si le pollinisateur reste trop longtemps dans le patch.

Explication de la simulation

Simulons maintenant une abeille butinant. La simulation se fait en temps discret. L'abeille est dans un paysage. Ce paysage est composé de plusieurs patchs de fleurs, de différents types, avec entre eux une matrice inintéressante pour l'abeille. Dans ce modèle, l'abeille va butiner au sein un patch, selon une méthode explicitée ci-dessous, jusqu'à ce que toutes les fleurs soient visitées (cela n'est donc sans doute pas optimal). De cela est tirée la fonction d'accumulation d'énergie du pollinisateur. En ajoutant le paysage (distances inter-patchs et types de patchs), nous calculons à quel moment le pollinisateur devrait partir si sa méthode de butinage est optimale.

Un patch est représenté par une matrice de zéro, avec à l'emplacement des fleurs une quantité d'énergie qui sera récoltée par l'abeille à son passage. Nous avons décidé d'utiliser un modèle discret, comme Pyke (1978), puisque les fleurs sont des entités distinctes. Le fait de modéliser les fleurs en patchs est facilement justifiable : c'est comme cela qu'elles se trouvent dans la nature.

Création des différents types de patchs

Les patchs de fleurs sont générés aléatoirement selon la méthode suivante.

La taille d'un patch est fixée à une matrice de 14 lignes et 14 colonnes, soit 196 cases. n fleurs sont ensuite réparties aléatoirement sur les 196 cases, pas plus d'une par case. La taille des patchs et le nombre de fleurs ont été décidés après l'analyse des observations du projet BUZZ (voir annexes).

Méthode de pollinisation dans un patch

Les différents types de patchs sont étudiés un à un. Notons que nous avons d'abord besoin des taux d'accumulation d'énergie du pollinisateur dans chaque patch, ce n'est seulement qu'après et avec elles que nous saurons quand il devrait partir. Ainsi nous le faisons butiner jusqu'à ce qu'il n'y ait plus de fleurs pleines.

Nous appliquerons ici la méthode décrite dans la review de Goulson (1999), quand il modélisait le théorème de la valeur marginale. L'auteur émet l'hypothèse, raisonnable, qu'un pollinisateur dans un patch avec peu de fleurs arrive assez bien à butiner la plupart des fleurs sans repasser deux fois sur la même, du fait de sa méthode de recherche spatiale et de sa mémoire à court terme. Au contraire, pour un patch avec beaucoup de fleurs le pollinisateur oubliera quelles fleurs il a visitées, et risquera au cours du temps de se tromper de plus en plus, perdant du temps et de l'énergie à visiter des fleurs vides. La méthode de simulation présentée ci-dessous suit ce raisonnement, ce qui nous permet d'avoir des courbes d'accumulation d'énergie similaires à celle de Goulson.

Rappelez-vous que nous avons déjà émis des hypothèses pour ce modèle (partie *Modèle de Charnov modifié : une approche mathématique*). Deux autres hypothèses liées à notre simulation sont émises :

H5: Le pollinisateur sait si les fleurs proches de lui sont pleines de ressources, mais pas chez les fleurs lointaines. Cette hypothèse est peu réaliste, car cette détection se fait par le biais d'odeurs laissées sur les fleurs (Dötterl & Vereecken, 2010), détectables seulement en étant très proche de la fleur. Cependant, notre méthode permet de façon simple de reproduire des résultats proches de ces méthodes, tout en simplifiant le modèle, dont l'étude ne porte pas sur des changements des conditions exprimées ci-dessus.

H6: Une fleur contient toujours la même quantité de ressources florales accessibles, et le pollinisateur la vide en un passage.

Si une ou plusieurs des fleurs autour de l'abeille (une des valeurs touchant sa case, diagonale comprise) est pleine, alors le pollinisateur ira en butiner une au hasard. Au contraire, si ces fleurs sont vides, alors l'abeille ira butiner une autre fleur au hasard autour d'elle, dans un rayon donné (en excluant les fleurs vides de proximité immédiate). Il sera donc possible que le pollinisateur visite une fleur qui avait déjà été butinée auparavant, et qui est donc maintenant vide. Notons que le rayon de visibilité du pollinisateur peut être agrandi s'il n'y a pas de fleur dans le rayon initial (ce qui peut arriver dans un patch avec peu de fleurs).

Ce comportement va induire des erreurs (une erreur étant faite quand le pollinisateur perd de l'énergie à s'intéresser à une fleur vide) dans l'optimisation du butinage, et le pollinisateur perdra de l'énergie à visiter des fleurs vides. Ainsi, plus il y aura de fleurs vides, et plus le pollinisateur fera des erreurs, et donc moins il récoltera de l'énergie pour une distance donnée. Notons que plus il restera dans un patch, et plus le nombre de

fleurs vides (vidées par lui-même) augmentera. En conclusion, plus il restera dans un patch, plus sa cinétique d'accumulation d'énergie diminuera.

Il est temps de clarifier la notion de ressources florales utilisée précédemment. Les ressources florales sont composées de nectar et de pollen. Comme précisé précédemment, nous chiffrons ces ressources en unité d'énergie, relative au coût d'un déplacement. Ainsi, la quantité de ressources florales prise en compte dans cette simulation est l'énergie que le pollinisateur est capable de récolter dans une fleur, brut (en retirant l'énergie dépensée pour le butinage, hors déplacement), divisé par l'énergie nécessaire pour un déplacement inter-fleur.

On peut en déduire de tout cela l'accumulation d'énergie (brute $RFb(i)$ et nette $RFn(i)$) par le pollinisateur en fonction de la distance qu'il a parcourue (et donc en fonction de l'énergie qu'il a dépensée). Ce modèle étant stochastique, la moyenne de ces valeurs sur 3000 d'itérations est prise en compte, pour permettre de connaître la tendance globale.

Puisque toutes les simulations sont stochastiques, il existe une certaine variation entre les simulations. Nous utilisons dans nos analyses la moyenne de tout cela. Nous ne montrerons pas dans nos futurs graphiques la variance, car comme il est possible de voir sur la figure 2, les courbes de la moyenne et de l'écart type sont très proches. Il n'est donc pas discuté ni montré, mais prenez note que l'intervalle de confiance a été analysé comme négligeable.

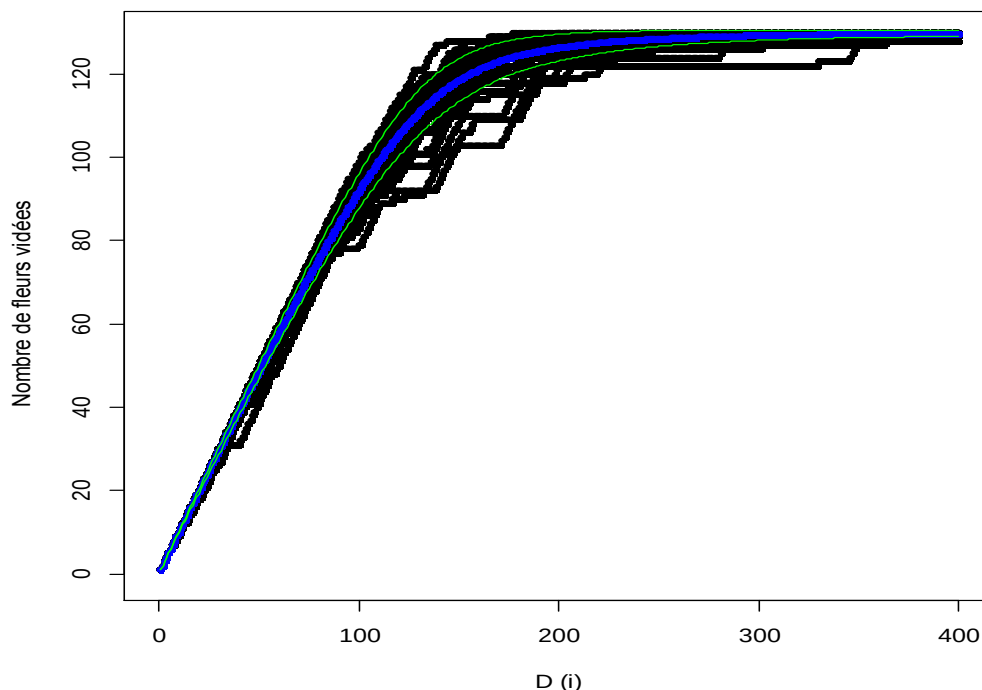


Figure 2 : Nombre cumulé de fleurs vidées, par le pollinisateur, dans des patches de 130 fleurs. En noir, les données des 3000 simulations. En bleu, la moyenne de ces données. En vert, l'écart type.

Durée optimale de pollinisation d'un patch, changement de patch

La décision prise par le pollinisateur modélisé de quitter son patch pour aller ailleurs suit le théorème de la valeur marginale de Charnov décrit plus haut. Basé sur la courbe moyenne des valeurs d'accumulation d'énergie du patch où est le pollinisateur et sur la quantité d'énergie nette accumulée moyenne maximum dans le paysage, nous calculons la distance optimale à parcourir dans un patch. Notons que puisque la règle de

décision est déterministe, cela signifie que le pollinisateur décidera de partir indépendamment de son histoire au sein du patch, et donc du nombre d'échecs (de fleurs vides visitées) qu'il a effectivement rencontrés.

A cause de la composante discrète du modèle, $\frac{dRFn}{di}$ est ici approximé par $\frac{\Delta_{i,i+1}RFn_{intra}}{\Delta_{i,i+1}D}$.

De ce programme est ressorti la distance que devrait parcourir un pollinisateur butinant de façon optimale son patch, ainsi que les nombre et pourcentage moyens de fleurs qu'il aura visitées après cette distance, ainsi que le nombre moyen de visites par fleur.

Représentation du paysage

Dans un premier temps, nous étudierons le cas le plus simple : tous les patches du paysage, y compris celui où se trouve notre abeille, ont le même nombre de fleurs. Ainsi, le patch où butine le pollinisateur sera, au début, aussi attractif que les autres, c'est-à-dire qu'il pourra en tirer la même quantité d'énergie.

Dans un second temps, nous étudierons le cas où le paysage est composé de patches différant par leur nombre de fleurs. Ce paysage est tout le même dans chaque simulation, qu'importe le patch étudié. Il a été créé à partir des données de Desaeher (données non publiées), et sera composé de patches avec entre 5 et 195 fleurs ouvertes.

Paramétrage et généralités

Le nombre de fleurs par patch a été estimé grâce aux données de Desaeher et al. (données non publiées), visible en annexes.

Il y a trois paramètres à estimer : l'énergie dépensée pendant le parcours de la distance inter-fleurs, pour pouvoir exprimer les deux autres relativement à celui-ci ; l'énergie dépensée pour le parcours des distances inter-patches ; et l'énergie accumulée moyenne en butinant une fleur. Le vol chez *Apis mellifera* a un coût estimé de 0.3 à 0.8 W/g (Harrison & Fewell, 2002), mais cette espèce est bien différente des halictes et des abeilles solitaires. Au final, nous avons utilisé des valeurs qui bien qu'arbitraires restent réalistes, tout en sachant que ce sont les tendances qui comptent dans notre simulation.

Avec notre simulation de patch de 14 x 14 cases (valeur décidé à dire d'expert), cela signifie que les fleurs sont séparées d'au minimum 3,5 cm (en moyenne) si le patch est très dense en fleurs. Cependant, la distance intra-patch moyenne parcourue par le pollinisateur est plus grande que 3,5 cm, puisque le pollinisateur n'ira pas forcément sur la fleur la plus proche, et ne passera pas par le plus court chemin (en comptant notamment qu'il s'élève dans les airs avant de redescendre sur une autre fleur). Notons que la distance inter-fleurs varie au sein d'un patch, mais que calculer la dépense à partir de la valeur moyenne de la distance est une approximation acceptable qui ne change pas les résultats du modèle. Malheureusement très peu d'études ont essayé de quantifier le coût du vol (Harrison & Fewell, 2002), et jamais, à notre connaissance, chez les halictes ou abeilles solitaires. On peut aussi se poser la question des autres coûts, notamment de la détection des ressources potentielles dans les fleurs.

La distance maximum que peut parcourir une abeille solitaire a été étudiée par A. Gathmann et T. Tschardt (2002), la distance de butinage se trouvait dans un rayon d'au maximum 150 à 600 m autour du nid. On peut en déduire que, pour des abeilles similaires, devoir faire des déplacements entre patches de plus de 150/600 m (dépendant du type d'abeille) n'est pas envisageable. De plus, au vu de données de *Cymbalaria muralis* issues des programmes Flora data de Tela Botanica et PhotoFlora par B. Bock (webographie [1]), notamment celles des zones bien couvertes, comme Paris ou Angers, nous pouvons estimer les distances inter-sites à entre 50 et 300 mètres en moyenne. Un site peut contenir quelques patches, bien que souvent un seul. Dans la simulation, la distance inter-patches a été estimée avoir une valeur variant entre 50 et 1500 déplacement intra-patch.

Chaque fleur visitée apporte une certaine énergie au pollinisateur. Malheureusement, bien que beaucoup de données soient disponibles, effectuer une comparaison entre la dépense énergétique lors des déplacements et l'énergie récoltée reste difficile. Dans la simulation, ce que rapporte une fleur a été estimé valoir 50 déplacement intra-patch.

Résultats

Approche mathématiques

Si le paysage est fragmenté, la distance moyenne parcourue lors d'un changement de patch, $\overline{D_{inter}}$, augmente. Donc, $TRFn_{inter}^*$ va diminuer ($\frac{\sum_x (RFb_x(i_x^*) - D(i_x^*)) * P_x - \overline{D_{inter}}}{\sum_x i_x^* P_x + \overline{D_{inter}}}$ diminue). Or si $PRFn_{inter}^*$ diminue, alors l'inégalité $\frac{dRFn}{di} > TRFn_{inter}^*$, vraie au début, sera vérifiée plus longtemps (pour un plus grand nombre du pas du modèle). Dans ce cas, l'augmentation du temps de trajet entre les patches (et donc de la fragmentation) aura pour conséquence un départ plus tardif des pollinisateurs de leur patch vers un autre.

Etude des résultats de la simulation

Comportement du pollinisateur à l'échelle Intra-patch

Commençons par observer le comportement intra-patch du pollinisateur, avant d'étudier son départ. Le nombre de fleurs des patches étudiés va de 5 à 195, par pas de 5. Pour faire en sorte que toutes les fleurs (ou presque) soient visitées, le pollinisateur a été lâché pendant 400 pas du modèle (c'est-à-dire qu'il a fait 400 déplacements) à chaque fois. A chaque type de patch, 3000 itérations ont été faites.

Les deux premières courbes de la figure 3 montrent les quantités d'énergie accumulées nettes en fonction du temps passé dans un patch. Tout d'abord, en regardant les axes, on se rend compte que le maximum des gains est plus haut quand le nombre de fleurs est grand, car plus il y a de fleurs, et plus il y a de ressources accumulables. De plus, on observe que l'arrivée à l'asymptote, dû à la baisse des gains alors que le coût de déplacement reste le même, est plus précoce et plus prononcé dans les patches qui contiennent un plus petit nombre de fleurs. En effet, la probabilité de se tromper augmentera plus vite, puisqu'il y a moins de fleurs.

Cela est dû à un plus grand nombre d'erreurs : le pollinisateur va perdre en efficacité plus rapidement dans les patches avec peu de fleurs que dans ceux avec beaucoup de fleurs.

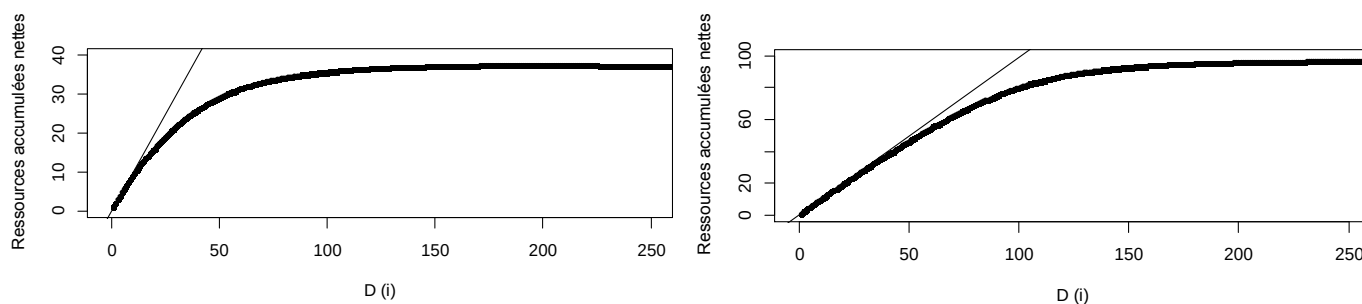


Figure 3 : Dynamique d'acquisition des ressources florales au fil des déplacements effectués par le pollinisateur dans des patches de 40 fleurs (à gauche) ou de 100 fleurs (à droite), avec la droite représentant ce qui se passerait si le pollinisateur récoltait des ressources à chaque pas. Les courbes présentent les valeurs moyennes de 3000 itérations d'un pollinisateur qui se déplace sur 250 pas du modèle.

Occupons-nous maintenant du départ du pollinisateur. Pour ces deux premières parties, rappelons que le paysage n'est composé que d'un seul type de patch.

Etude du départ du pollinisateur au sein de patches de taille variable

De notre modèle sort une relation corrélée positivement entre le nombre de fleurs du patch et le nombre optimal de fleurs vidées (figure 4, à gauche). Au contraire pour le pourcentage (figure 4, à droite), ces deux variables ne sont corrélées positivement que pour une distance inter-patch faible ou quand le nombre de fleurs par patch est petit.

On observe aussi une interaction entre le nombre de fleurs total et la distance inter-patches (Il existe une différence de pente): pour une distance inter-patch grande, le pourcentage de fleurs visitées varie peu en fonction de leur nombre dans le patch, alors que pour une distance inter-patch petite, un plus grand pourcentage de fleurs sera visité dans les patches plus grands.

On remarque de plus, sur la figure 4 (à droite), des valeurs étonnamment hautes à 5 fleurs totales par patches. Ce qui ressemble à première vue à un artefact est en fait biologiquement logique, et attendu par notre modèle : pour des très petits groupes de fleurs, le pollinisateur a une mémoire et se trompera moins.

Plus le nombre moyen de visites par fleur (figure 5) qui résulte d'un butinage optimal est supérieur à un, plus le pollinisateur est resté dans le patch et s'est trompé. Au contraire, plus cette valeur est inférieure à un, et plus le pollinisateur part sans même essayer d'avoir la plupart des fleurs, pour limiter fortement les erreurs. Cette figure nous apprend que le pollinisateur va tourner entre les fleurs plus longtemps dans les petits patches, et donc faire proportionnellement plus d'erreurs, si son butinage est optimal. De plus, la distance inter-patches a moins d'impact sur le nombre moyen optimal de visites par fleur pour des patches comportant plein de fleurs que pour ceux avec peu de fleurs.

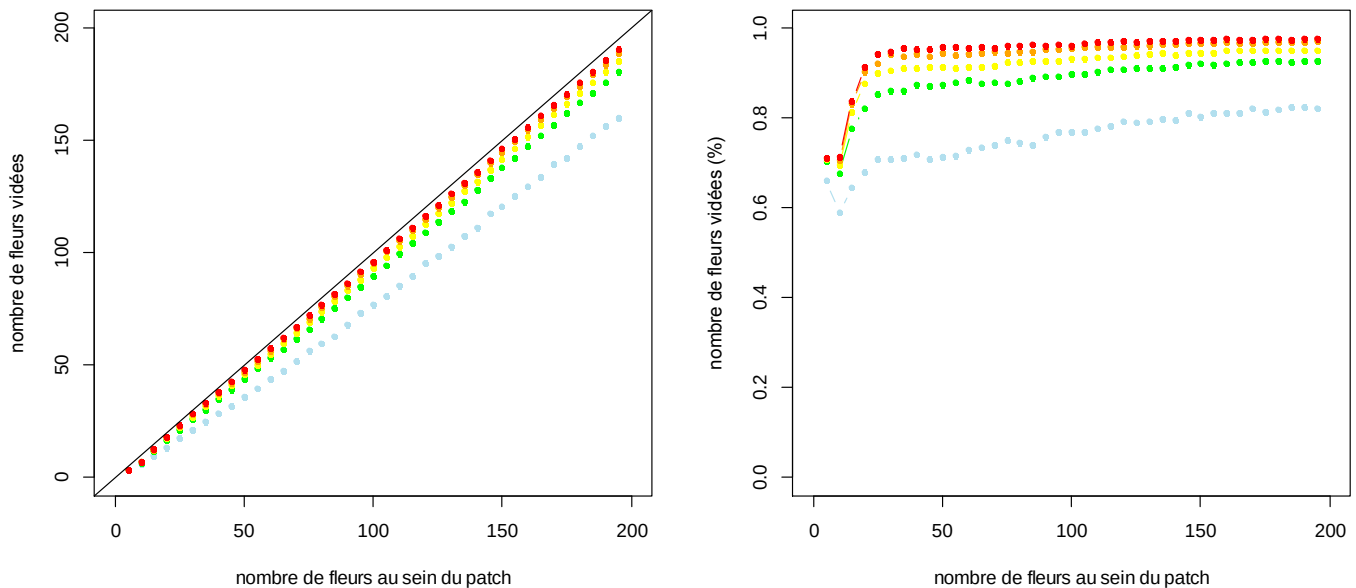


Figure 4 : nombre de fleurs vidées si le pollinisateur butine de manière optimale, dans un paysage où tous les patches sont du même type que le patch où il se trouve, en fonction du nombre de fleurs total dans le patch. A gauche, en nombre de fleurs, à droite, en pourcentage. En bleu, les patches sont distants de 10 mètres, en vert de 50 mètres, en jaune de 100 mètres, en orange de 200 mètres et en rouge de 300 mètres. La droite noire (à gauche) représente ce qui se passerait si toutes les fleurs étaient vidées.

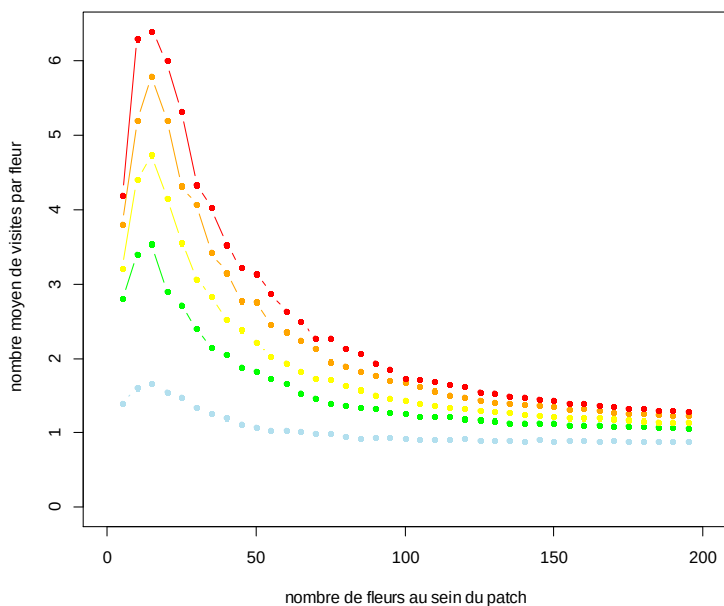


Figure 5 : nombre moyen de visite par fleur résultant d'un butinage optimal, dans un paysage où tous les patches sont du même type que le patch où le pollinisateur se trouve, pour différents nombres de fleurs par patch. En bleu, les patches sont distants de 10 mètres, en vert de 50 mètres, en jaune de 100 mètres, en orange de 200 mètres et en rouge de 300 mètres. Alors que la distance inter-patches a peu d'impact dans les patches très garnis en fleurs, elle fait beaucoup varier le nombre de visite par fleur dans les patches avec peu de fleurs.

Etude du départ du pollinisateur au sein de patches plus ou moins éloignés

On observe que lorsque la distance entre les patches augmente, le pollinisateur vide plus de fleurs, ce qui signifie qu'il reste plus longtemps dans le patch. Comme prédit mathématiquement, le départ optimal est retardé quand la distance entre les patches augmente (figure 6). Les variations de ce retard sont plus fortes quand les changements de distance inter-patches sont pour des petites valeurs de celle-ci, plutôt inférieurs à 50 mètres ; ces changements ont donc plus d'effet quand les patches qui intéressent le pollinisateur sont proches les uns des autres, alors qu'ils ont peu d'impact quand le pollinisateur cherche à aller dans un patch lointain.

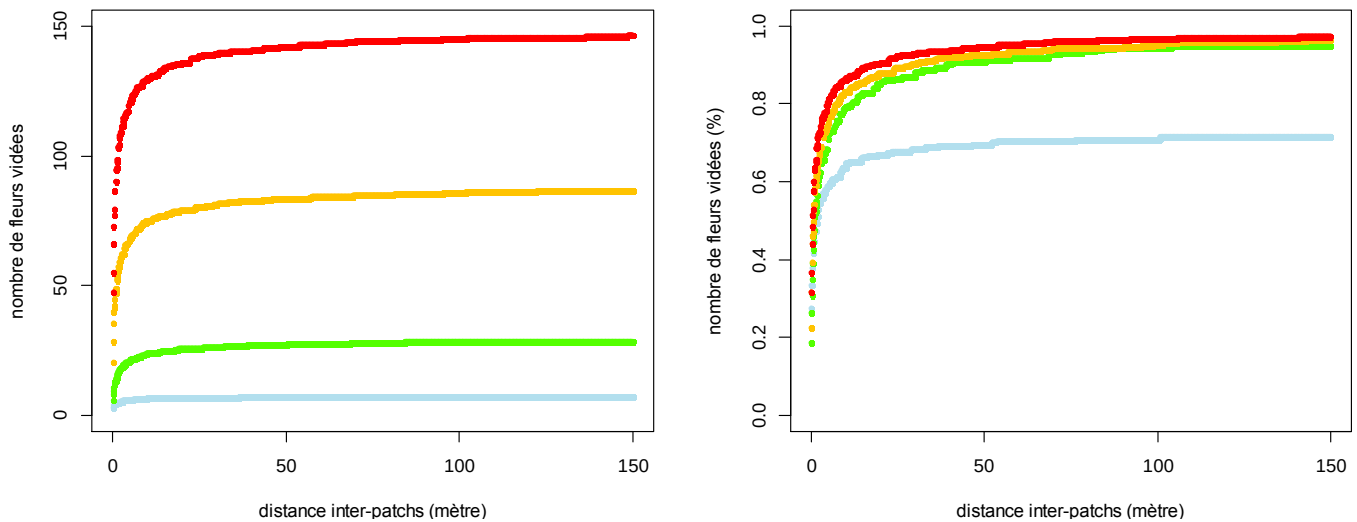


Figure 6 : nombre de fleurs vidées si le pollinisateur butine de manière optimale, dans un paysage où tous les patches sont du même type que le patch où il se trouve, en fonction de la distance inter-patches. En bleu, les patches ont 10 fleurs, en vert de 30 fleurs, en orange 90 fleurs et en rouge 150 fleurs.

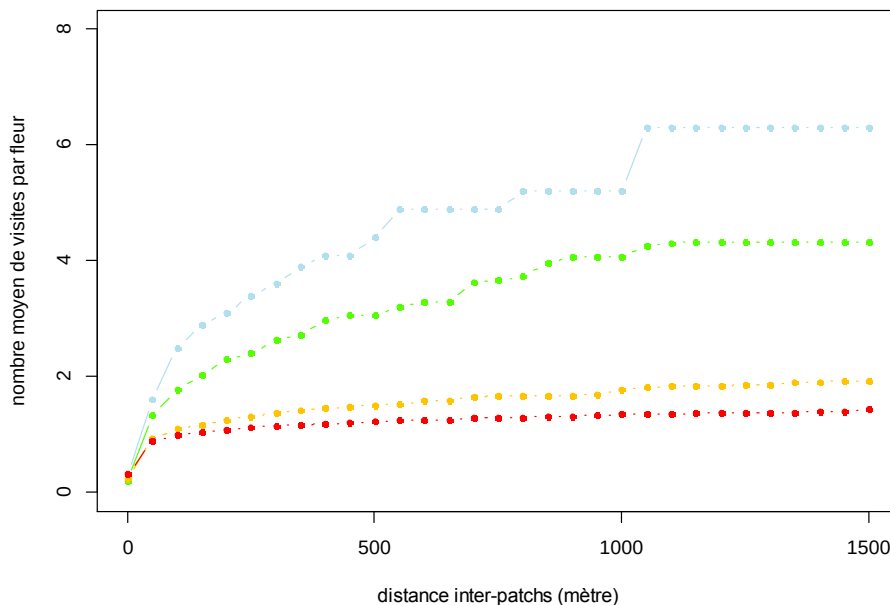


Figure 7 : nombre moyen de visites par fleur résultant d'un butinage optimal, dans un paysage où tous les patches sont du même type que le patch où il se trouve, pour différentes distances inter-patches. En bleu, les patches ont 10 fleurs, en vert de 30 fleurs, en orange 90 fleurs et en rouge 150 fleurs.

La figure 7 nous apprend sensiblement la même chose que la figure 5 : quand la distance entre les patches augmente, le nombre de visites par fleur augmente, c'est-à-dire qu'il est optimal pour le pollinisateur d'essayer de récolter plus de ressources, même si cela lui fait faire plus d'erreurs. De même, les variations sont plus fortes dans les patches contenant peu de fleurs que dans ceux qui en contiennent beaucoup.

Etude du départ du pollinisateur quand le paysage est constant

Etudions maintenant les mêmes variations, en changeant le paysage alentour. Maintenant, celui-ci est mixte (des patches de différentes tailles) et est toujours le même quel que soit le patch où se trouve le pollinisateur aux résultats trouvés pour des paysages contenant des patches tous identiques. Nous résumons ici les principales différences.

Il y a deux différences notables. D'abord, à toutes valeurs égales, les patchs ayant moins de fleurs sont moins vidés dans le cas du paysage mixte et constant, alors que les patchs ayant plus de fleurs le sont plus. Deuxièmement, alors que le nombre de visite par fleur reste le même pour les patchs ayant beaucoup de fleurs, il est plus petit dans les patchs avec peu de fleurs dans le cas du paysage mixte et constant. Les variations de la distance inter-patchs ne changeaient pas de façon marquante les résultats.

Discussion

Informations apportées par les résultats

Notre premier résultat, qui est que les abeilles restent plus longtemps butiner dans leur patch si celui-ci contient plus de fleurs (figure 4), est logique et nous rassure sur la cohérence de notre simulation. C'est en effet une prédiction simple du théorème de la valeur marginale, qui a été prouvé (Schmitt 1983 ; Gerber, 1985).

Le fait que les abeilles restent butiner plus longtemps dans leur patch quand la distance entre les patchs augmente (figure 6) est une prédiction simple, qui n'a malheureusement reçu que très peu d'attention. En effet, il semble que la plupart des études qui portent sur la relation plante-pollinisateur se font dans des paysages où les patchs de fleurs sont nombreux (Goulson, 1999). Cependant, il existe quand même quelques études à ce sujet, qui semblent être d'accord avec nous (Andrieu et al., 2009). Ce résultat est tout à fait logique : en effet, plus le pollinisateur reste dans son patch, et plus il se trompera et revisitera des fleurs qu'il avait déjà vidées, et moins il accumulera rapidement de l'énergie. Ainsi, si le fait de changer de patch ne lui coûte pas grand-chose, il vaudra mieux pour lui qu'il parte plus tôt. Cela signifie que, à l'opposé, quand la distance inter-patchs est grande, l'abeille aura tendance à essayer de vider plus de fleurs malgré les nombreuses erreurs, car bien que les gains soient de plus en plus faibles, ils sont nécessaires face au coût du déplacement élevé.

On voit aussi que, quand la distance inter-patchs est faible, le pollinisateur visite en moyenne moins de fois la même fleur (Figure 6), et donc réduit de beaucoup son nombre d'erreurs (Figure 7). Cela confirme le résultat précédent : le pollinisateur ne devrait pas dépenser beaucoup d'énergie à chercher les fleurs restantes, alors qu'il y en a plein de disponible à proximité.

La figure 6, en nous montrant que l'abeille part plus tard et fait plus d'erreurs dans les petits patchs, si sa méthode de butinage est optimale, nous fait comprendre que, bien que le gain d'énergie soit faible, il vaut mieux quand même que le pollinisateur en récolte une bonne partie et qu'il ne s'arrête pas aux premières, car les coûts d'erreurs ne sont pas si fort. Rappelons que les coûts pris ici en compte sont les coûts énergétiques, et que la perte de temps n'est pas grave, ce qui est sans doute exagéré : dans la nature, le temps est peut-être moins important que l'énergie, mais pas au point d'être insignifiant.

On remarque qu'un pollinisateur videra au total une plus petite proportion de fleurs dans un patch avec peu de fleurs (Figure 4), alors qu'il dépense plus d'énergie par fleur pour les vider (Figure 5, il fait plus

d'erreurs). Cela rend ces patchs moins attractifs, qui seront sans doute moins choisis lorsque le pollinisateur choisit son patch (ce qui est une autre question du principe d'optimisation).

Tous les effets cités plus haut semblent plus prononcés entre les patchs contenant peu de fleurs qu'entre ceux avec beaucoup de fleurs. Ces effets restent quand même importants à l'échelle du paysage, puisque la plupart des patchs sont composés d'un petit nombre de fleurs (Desaegher et al., données non publiées : voir annexes). Il semble ainsi que les patchs contenant beaucoup de fleurs soient si attractifs que les paramètres que nous étudions n'ont plus beaucoup d'effet sur le départ du pollinisateur.

Tous ces résultats nous indiquent que plus les patchs sont isolés, plus le pollinisateur restera longtemps à butiner les fleurs de ce patch. Cela aura donc des impacts pour la génétique des plantes : plus les patchs sont isolés, et plus les échanges de gamètes ne se feront qu'au sein des patchs, avec une plus faible proportion de pollen venant de l'extérieur : il y aura plus de geitonogamie (Harder & Barrett, 1995). Les patchs seront donc plus éloignés génétiquement les uns des autres, et les populations seront possiblement plus différentes entre-elles. Dans ma première étude, les paysages étaient toujours composés du même nombre de fleurs par patch. Ces changements de paysage peuvent être vus comme une simulation des effets de la distance inter-patchs au sein de différentes populations de cymbalaire : Desaegher et al. (données non publiées) ont en effet mis en évidence en Île-de-France plusieurs populations, qui avaient des nombres de fleurs par patch moyen différents. Ainsi, si les populations urbaines sont plus fragmentées, on s'attend à ce qu'elles soient plus consanguines, ce qui peut nuire à leur viabilité (dépressions de consanguinité).

De plus, il y a plus de visite par fleurs dans les patchs contenant moins de fleurs, ce qui risque d'augmenter l'autofécondation. Malgré cela, le pollinisateur reste pendant plus de pas du modèle (et donc visite au total un plus grand nombre de fleurs) dans les patchs contenant moins de fleurs : il y aura donc dans ces patchs moins de geitonogamie. Il semble que les avis à ce sujet soient mitigés. Certaines études sont d'accord avec notre modèle (De Jong et al., 1993 ; Cresswell & Osborne, 2004), alors que d'autres trouvent que la proportion de pollen provenant de l'extérieur des patchs est indépendante du nombre de fleurs par patch (Gerber, 1985).

Le fait de regarder les mêmes résultats avec un paysage alentour qui reste le même quel que soit le patch étudié nous permet de mieux comprendre les différences induites par le fait que le pollinisateur se trouve dans un patch peu / très intéressant comparé aux patchs alentour. Les résultats sont logiques : si le pollinisateur est dans un patch avec peu de fleurs, il fera moins d'efforts à essayer d'en vider le plus possible quand il sait qu'il y a d'autres patchs mieux garnis aux alentours (ce qui se voit aussi avec son nombre d'erreurs), alors qu'il essaiera d'en vider plus s'il sait qu'autour de lui les patchs sont moins bien garnis.

Goulson, dans sa review de 1999, avait esquissé un modèle partant du théorème de la valeur marginale. Notre modèle s'en rapprochant fortement, nous avons jugé pertinent de comparer nos prédictions. Notons d'abord que lorsqu'il parle du nombre de visites par fleur, il parle de tous les visiteurs confondus, alors que

dans notre cas nous n'en prenons qu'un seul ; ce problème du nombre de pollinisateurs est important et sera discuté par la suite. De plus, il mélange dans son analyse tous types de pollinisateurs, alors que nous concentrons sur les halictes et abeilles solitaires. Goulson avait fait quatre prédictions : (1) quand la distance entre les patchs est petite, le nombre de visites par fleur est à peu près indépendant de la taille des patchs (2) quand la distance entre les patchs est grande, le nombre de visites par fleur augmente avec la taille des patchs (3) les pollinisateurs visitent plus de fleurs dans les grands patchs (4) une plus petite proportion de fleurs est visitée dans les grands patchs. Notons que la notion de grand patch réfère chez nous à un plus grand nombre de fleurs par patch.

Nous avons déjà vu que nous sommes d'accord sur le point (3). Nous pouvons aussi nous dire d'accord sur le point (1) au vu de la figure 5, si on émet l'hypothèse que tous les pollinisateurs ont le même comportement dans les patchs avec peu de fleurs. Malheureusement les deux autres points sont difficilement comparables : puisque les patchs avec beaucoup de fleurs attirent plus de pollinisateurs (des abeilles domestiques et des bourdons, mais pas d'abeilles solitaires, Sih & Baltus, 1987), le (2) semble possible. De plus, le fait que ces nombreux pollinisateurs visitent plus les fleurs dans ces patchs rend la probabilité de visiter une fleur déjà visitée très grande, ce qui augmente le nombre d'erreurs et donc rend ces patchs moins attractifs, donnant possiblement lieu à la prédiction (4).

De plus, Desaegeher et al. (données non publiées) ont mis en évidence que les fleurs des patchs de cymbalaire étaient proportionnellement plus visitées quand le nombre de fleurs par patch augmente, et qu'elles étaient plus visitées en milieu urbain que rural. Cela semble entrer en contradiction avec le (4). Les auteurs ont aussi mis en évidence (par un modèle linéaire généralisé) qu'il n'y avait pas plus de fleurs dans un des milieux que dans l'autre. Ainsi, leur deuxième résultat semble concordant avec le nôtre, dans l'hypothèse que les patchs soient plus isolés en milieu urbain. Leur dernier résultat est que les graines de cymbalaire provenant de milieu urbain produisaient plus de fleurs que les autres. Si les patchs sont plus isolés en milieu urbain, alors ce résultat est logique : les ressources sont moins facilement accessibles pour le pollinisateur, et dans l'optique de la compétition inter-plantes pour les pollinisateurs, les cymbalaires avec cette adaptation ont pu compenser l'isolement de leurs patchs.

Critiques

Notre modèle donne des prédictions qui, bien que simples, semblent dans un premier temps acceptables. Cependant, il est imparfait du fait de lacunes et de simplifications. Voici quelques critiques, et des modifications qu'il serait bon, par la suite, d'apporter.

D'abord, le comportement intra-patch du pollinisateur pose quelques problèmes. En effet, le fait qu'il sache si une fleur proche de lui est pleine est irréaliste et résulte en un trop grand succès dans les patchs avec beaucoup de fleurs, ce qui les rend d'autant plus attractifs et productifs. Ainsi, avec une bonne rectification, le pollinisateur devrait faire plus de fautes. Il faudrait, pour corriger ce problème, modéliser au mieux les actions du pollinisateur, ou utiliser des courbes d'accumulations de ressources florales tirées d'une expérience. Cela demande dans les deux cas la mise en place d'expériences, ce qui n'a pas été possible de faire dans mon

stage, où la plus grande partie du temps a été dédié à la simulation. Il est aussi possible de regarder dans la littérature, mais nous n'avons rien trouvé à ce sujet qui soit facilement programmable et relatif à nos paramètres.

L'utilisation du théorème de la valeur marginale est un choix qui a été fait de nombreuses fois, par beaucoup d'auteurs. Cependant, il semble que ce théorème soit souvent trop simple, ou inadéquat (Zimmerman, 1981 ; Kadmon & Shmida 1992). Toujours est-il que plusieurs études l'ont utilisé et qu'il collait bien avec les données empiriques (Pyke, 1978, 1981 ; Hodges 1981 ; Collevatti et al., 1997). Il semble donc que ce théorème soit réaliste, et que son utilisation soit limitée par des contraintes qui ne sont pas toujours respectées. Une des questions essentielles est donc de savoir si nos modèles biologiques respectent les hypothèses de ce théorème : notre modèle est sans doute réaliste dans certain cas, mais dans quels cas l'est-il, et l'est-il pour les espèces étudiées par mes encadrants ? Nous avons fait notre possible pour décider de l'orientation du modèle et le paramétrer avec des données issues d'articles utilisant nos modèles biologiques et nos conditions écologiques. Malheureusement, les halictes, abeilles solitaires et la cymbalaire n'ont pas beaucoup été étudiées, et des approximations ont dû être faites à partir de groupes proches. Cependant, de nombreuses précautions ont été prises pour que notre modèle soit cohérent, et nos résultats réalistes. Il est cependant clair que notre modèle n'est pas généralisable à l'ensemble des abeilles et des herbacées poussant en patches.

Enfin, un des gros manque de notre modèle est l'absence d'autres pollinisateurs. En effet, notre modèle est individus-centrés, et dans nos premiers résultats présentés ici, nous sommes allés au plus simple. Ainsi, quand le pollinisateur arrive dans son patch, toutes les fleurs sont pleines, il n'y a aucune hormone sur les fleurs et personne qui pourrait contrarier sa route. Or, dans la réalité, d'autres pollinisateurs ont déjà interagi avec ce patch, et une partie des fleurs ont déjà été vidées (notons d'ailleurs que la plupart des pollinisateurs ne voient pas les fleurs totalement).

Perspectives

Le modèle que nous avons créé nous apporte déjà des connaissances utiles, mais n'est pas fini. En plus de vérifier toutes les hypothèses de façon exhaustive et poussée et d'obtenir des paramètres par des biais plus sûrs, deux choses seront à améliorer.

D'abord, il faut changer le comportement du pollinisateur intra-patch. Ce qui a été critiqué peut être amélioré, dans le but de simuler de façon réaliste les mouvements du pollinisateur et d'avoir un taux d'accumulation des ressources florales correct.

Ensuite, il serait non seulement utile, mais aussi très intéressant de connaître l'impact de la présence d'autres pollinisateurs, qui sont forcément présents dans la nature. Il existe deux façons de faire cela. La première est de rester individus-centrés et de comprendre comment nos abeilles choisissent leur patch, ce qui est une autre question du principe d'optimisation. A partir de cela, il est possible de savoir à quel point chaque patch et chaque type de patch est visité, en fonction du nombre de pollinisateurs (qui est une nouvelle variable

à implémenter). La deuxième façon est de regarder dans la littérature la distribution des pollinisateurs dans un paysage. Beaucoup trouvent qu'ils se répartissent en suivant une distribution libre idéale (Dreisig, 1995 ; Ohashi & Yahara, 2002), mais cette donnée reste cependant discutée. Le modèle de la distribution idéale libre prédit que les pollinisateurs s'arrangeraient entre les patches de telle sorte que le taux d'accumulation des ressources soit le même partout, indépendamment du patch. On comprend vite que cela aura pour effet de changer nos résultats, surtout ceux sur le nombre de fleurs par patch.

De plus, puisque nous n'avons trouvé aucune étude portant réellement sur l'impact de la variation de la distance entre les patches, il serait intéressant de se pencher sur ce sujet et de l'étudier plus en profondeur.

Au final, rappelons quand même qu'une simulation a toujours un but, et que chaque prédiction doit, pour être acceptée, être validée empiriquement.

Bibliographie

- Andrieu, E., Dornier, A., Rouifed, S., Schatz, B., & Cheptou, P. O. (2009). The town Crepis and the country Crepis: How does fragmentation affect a plant–pollinator interaction?. *acta oecologica*, 35(1), 1-7.
- Benhamou, S. (1993). L'optimisation du comportement dans un environnement stochastique. In *Revue d'écologie, 1993, N° 2, Symposium "Ecologie, comportement et évolution", Société française d'écologie et Société française pour l'étude du comportement animal. Réunion commune, Chizé, France, 17-19 Mars 1992*. Société nationale de protection de la nature et d'acclimatation de France, Paris (FRA).
- Charnov, E. L. (1976). Optimal foraging, the marginal value theorem. *Theoretical population biology*, 9(2), 129-136.
- Collevatti, R. G., Campos, L. A. O., & Schoereder, J. H. (1997). Foraging behaviour of bee pollinators on the tropical weed *Triumfetta semitriloba*: departure rules from flower patches. *Insectes Sociaux*, 44(4), 345-352.
- Cresswell, J. E., & Osborne, J. L. (2004). The effect of patch size and separation on bumblebee foraging in oilseed rape: implications for gene flow. *Journal of Applied Ecology*, 41(3), 539-546.
- De Jong, T.J., Waser, N.M. & Klinkhamer, P.G.L. (1993) Geitonogamy: the neglected side of selfing. *Trends in Ecology and Evolution* 8, 321–325.
- Dötterl, S., & Vereecken, N. J. (2010). The chemical ecology and evolution of bee–flower interactions: a review and perspectives The present review is one in the special series of reviews on animal–plant interactions. *Canadian Journal of Zoology*, 88(7), 668-697.
- Dreisig, H. (1995) Ideal free distributions of nectar foraging bumblebees. *Oikos*, 72, 161–172.
- Gathmann, A., & Tscharrntke, T. (2002). Foraging ranges of solitary bees. *Journal of animal ecology*, 71(5), 757-764.
- Gerber, M. A. (1985). The relationship of plant size to self-pollination in *Mertensia ciliata*. *Ecology*, 66(3), 762-772.
- Geslin, B., Gauzens, B., Thébault, E., & Dajoz, I. (2013). Plant pollinator networks along a gradient of urbanisation. *PloS one*, 8(5), e63421.
- Geslin, B., Le Féon, V., Folschweiller, M., Flacher, F., Carmignac, D., Motard, E., ... & Dajoz, I. (2016). The proportion of impervious surfaces at the landscape scale structures wild bee assemblages in a densely populated region. *Ecology and evolution*, 6(18), 6599-6615.
- Goulson, D. (1999). Foraging strategies of insects for gathering nectar and pollen, and implications for plant ecology and evolution. *Perspectives in plant ecology, evolution and systematics*, 2(2), 185-209.
- Goulson, D., Nicholls, E., Botías, C., & Rotheray, E. L. (2015). Bee declines driven by combined stress from parasites, pesticides, and lack of flowers. *Science*, 347(6229), 1255957.
- Harder, L. D., & Barrett, S. C. (1995). Mating cost of large floral displays in hermaphrodite plants. *Nature*, 373(6514), 512.
- Harrison, J. F., & Fewell, J. H. (2002). Environmental and genetic influences on flight metabolic rate in the honey bee, *Apis mellifera*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 133(2), 323-333.
- Hodges, C. M. (1981). Optimal foraging in bumblebees: hunting by expectation. *Animal Behaviour*, 29(4), 1166-1171.
- Kadmon, R., & Shmida, A. (1992). Departure rules used by bees foraging for nectar: a field test. *Evolutionary Ecology*, 6(2), 142-151.
- Kipp, L. R., Knight, W., & Kipp, E. R. (1989). Influence of resource topography on pollinator flight directionality of two species of bees. *Journal of insect behavior*, 2(4), 453-472.

- McKinney, M. L. (2008). Effects of urbanization on species richness: a review of plants and animals. *Urban ecosystems*, 11(2), 161-176.
- Neil, K., & Wu, J. (2006). Effects of urbanization on plant flowering phenology: A review. *Urban Ecosystems*, 9(3), 243-257.
- Ohashi, K., & Yahara, T. (2002). Visit larger displays but probe proportionally fewer flowers: counterintuitive behaviour of nectar-collecting bumble bees achieves an ideal free distribution. *Functional Ecology*, 16(4), 492-503.
- Pyke, G. H., Pulliam, H. R., & Charnov, E. L. (1977). Optimal foraging: a selective review of theory and tests. *The quarterly review of biology*, 52(2), 137-154.
- Pyke, G. H. (1978). Optimal foraging in hummingbirds: testing the marginal value theorem. *American zoologist*, 18(4), 739-752.
- Pyke, G.H. (1981) Honeyeater foraging: a test of optimal foraging theory. *Animal Behaviour*, 29, 878-888.
- Pyke, G. H. (1984). Optimal foraging theory: a critical review. *Annual review of ecology and systematics*, 15(1), 523-575.
- Schmid-Hempel, P., Kacelnik, A., & Houston, A. I. (1985). Honeybees maximize efficiency by not filling their crop. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 17(1), 61-66.
- Schmitt, J. (1983). Flowering plant density and pollinator visitation in Senecio. *Oecologia*, 60(1), 97-102.
- Sih, A., & Baltus, M. S. (1987). Patch size, pollinator behavior, and pollinator limitation in catnip. *Ecology*, 68(6), 1679-1690.
- Tinbergen, N. (1951). *The study of instinct*. Clarendon Press, Oxford.
- Tscharntke, T., Klein, A. M., Kruess, A., Steffan-Dewenter, I., & Thies, C. (2005). Landscape perspectives on agricultural intensification and biodiversity–ecosystem service management. *Ecology letters*, 8(8), 857-874.
- Williams, N. M., & Thomson, J. D. (1998). Trapline foraging by bumble bees: III. Temporal patterns of visitation and foraging success at single plants. *Behavioral Ecology*, 9(6), 612-621.
- Xiao, Y., Li, X., Cao, Y., & Dong, M. (2016). The diverse effects of habitat fragmentation on plant–pollinator interactions. *Plant Ecology*, 217(7), 857-868.
- Zimmerman, M.L. (1981c) Optimal foraging, plant density and the marginal value theorem. *Oecologia*, 49, 148–153.
- Zurbuchen, A., Cheesman, S., Klaiber, J., Müller, A., Hein, S., & Dorn, S. (2010). Long foraging distances impose high costs on offspring production in solitary bees. *Journal of Animal Ecology*, 79(3), 674-681.

Webographie

[1] Site de Tela Botanica, eFlore - fiche plante, *Cymbalaria muralis* <http://www.tela-botanica.org/bdtfx-nn-75081-synthese#> Consulté le 25/05/2017

Titre : Effets de l'urbanisation sur la morphologie florale et les relations plantes-pollinisateurs

Mots clés : Pollinisation, Urbanisation, traits floraux, Science participative, *Cymbalaria muralis*

Résumé : L'expansion des surfaces urbaines a de fortes conséquences sur la composition des communautés de plantes et de pollinisateurs. Néanmoins, les effets de l'urbanisation sur l'interdépendance entre ces deux communautés et leurs conséquences évolutives restent peu étudiés. Premièrement, nous avons cherché à identifier le long d'un gradient d'urbanisation les facteurs affectant les communautés de plantes et de pollinisateurs. Deuxièmement, nous avons testé l'existence de divergences évolutives intra-spécifiques pour les caractéristiques reproductives de plantes d'origine urbaine et rurale. Dans ce but, nous avons combiné l'analyse de données issues de programmes de sciences participatives en région de l'Île-de-France et nous avons également mis en place une expérience de transplantation réciproque impliquant quatre espèces végétales fréquentes dans cette région. Nos résultats révèlent que la morphologie florale est le facteur le plus souvent impliqué dans l'observation des familles d'insectes sur les fleurs le long du gradient. Les familles d'insectes ayant une affinité positive aux surfaces imperméables préfèrent les corolles tubulaires, tandis que les familles ayant une affinité négative préfèrent les corolles évasées. L'urbanisation modifie la composition des communautés végétales, en sélectionnant notamment des espèces autogames et non-entomophiles. Nos résultats indiquent une perte fonctionnelle de pollinisateurs en milieu urbain. Une analyse détaillée de l'espèce *Cymbalaria muralis* suggère que les plantes auraient un plus grand bénéfice reproductif à allouer plus de ressources à la production de fleurs sur les sites de plantation urbain. En conséquence, les plantes d'origine urbaine ont tendance à produire plus de fleurs que celles d'origine rurale, au détriment de la production d'ovules par fleur et de la coloration des corolles. Cette divergence évolutive pourrait s'expliquer par des changements dans le comportement des pollinisateurs induits par une fragmentation accrue de l'habitat dans les zones urbaines. Cette thèse révèle que les changements induits par l'urbanisation dans l'abondance, le comportement ou les affinités florales fonctionnelles des pollinisateurs peuvent servir d'agents de sélection sur les espèces végétales spontanées.

Title : Urbanization effects on floral morphology and plant-pollinator relationships

Keywords : Pollination, Urbanization, Floral traits, Citizen science, *Cymbalaria muralis*

Abstract : The expansion of urban areas is known to impact the composition of plant and pollinator communities. However, the effects of urbanization on the interdependency between both communities, and the subsequent evolutionary consequences, are still poorly studied. First, we tried to identify along an urbanization gradient which factors shape plant and pollinator communities. Second, we tested the existence of intra-specific evolutionary divergences of plant reproductive characteristics between populations from urban and rural origins. For these purposes, we combined the analysis of data collected in the Île-de-France region originating from citizen science projects, and we set up a reciprocal transplantation experiment involving four plant species commonly found in this region. We found that floral morphology was the most frequently implicated factor in the observation of insect families along the gradient. Insect families with positive affinity to impervious areas prefer tubular corollas, while families with negative affinity prefer non-tubular (open) corollas. Urbanization modifies the composition of plant communities, by selecting in particular autogamous and non-entomophilous species. Altogether, our results point towards a functional loss of pollinators along with urbanization. A detailed analysis of the species *Cymbalaria muralis* suggests a greater reproductive benefit in allocating more resources to flower production in urban plantation sites. As a consequence, plants from urban origin tend to produce more flowers compared to plants from rural origin, at the expense of ovule production per flower and flower coloration. This evolutionary divergence could be explained by shifts in pollinator behaviour induced by higher habitat fragmentation in urban areas. This thesis reveals that shifts in the abundance, in the behaviour or in the functional floral affinities of pollinators, induced by urbanization, could act as selection agents on spontaneous plant species.