
Rapport de stage individuel

4^{ème} année

Conservation des forêts de chênes dans le sud
de la Suède



Université de Linnaeus
Campus Kalmar, Universitetsplatsen,
392 31 KALMAR

Tuteur entreprise :
Romana Salis
Post-doctorante

Tuteur académique :
Francis Isselin

Judith Looten
ADAGE
2024-2025

Table des matières

I-Présentation du stage	3
A-La structure d'accueil.....	3
B-La présentation de la mission	3
C-Le contexte des missions	4
II-Travail de terrain	5
A-Pièges Malaises	5
a-La pose des pièges.....	5
b-La récolte des pièges	6
c-Le travail de préparation et suivi.....	8
d-Communication et observations	8
B-Trunk Traps	9
a-La pose des pièges.....	9
b-La récolte des pièges	10
C-Compétences acquises.....	10
III- Le travail de laboratoire	12
A-La lyse ADN	13
B-Filtration de pollen.....	16
C-Extraction ADN et PCR	17
IV-Analyse dendrochronologique.....	18
Conclusion	21
Table des illustrations.....	22
Bibliographie.....	23
Annexes	24

I-Présentation du stage

A - La structure d'accueil

J'ai été accueillie par l'Université de Linnaeus, située dans le sud de la Suède, dans la province du Småland. L'université possède deux campus : l'un à Växjö et l'autre à Kalmar, ce dernier étant plus spécialisé dans les sciences de la vie. Il est d'ailleurs situé sur le port de la ville. L'Université de Linnaeus propose près de 200 formations de licences et plus de 1500 cours, accueillant environ 40 000 étudiants.

Plus précisément, j'ai intégré une partie de l'équipe du Oak Project, un projet pour lequel j'avais envoyé une candidature spontanée à Markus Franzén, qui dirige une partie des travaux. Il m'a ensuite mise en contact avec Romana Salis, post-doctorante en écologie et biodiversité, qui est devenue ma tutrice de stage.

Le Oak Project étudie l'avenir des forêts de chênes dans le sud de la Suède face aux effets du changement climatique. Ces forêts, essentielles à la biodiversité, sont menacées par la hausse des températures, les changements de précipitations et l'augmentation des maladies et parasites. En utilisant des méthodes comme le séquençage ADN et la dendrochronologie, le projet vise à mieux comprendre la dynamique des chênaies et à développer des pratiques de gestion durable.

J'ai choisi de postuler à ce projet car, en me renseignant sur son site internet, je l'ai trouvé très complet. Il abordait de nombreux aspects : l'analyse de la croissance des arbres, l'identification des champignons, l'étude des insectes... et tout cela à l'aide de techniques que je ne connaissais pas encore, comme le métabarcoding ou la dendrochronologie. Le fonctionnement des écosystèmes forestiers est un sujet qui m'avait déjà interpellée lors d'un projet mené au semestre précédent, au cours duquel nous avons évalué l'état de conservation et de fonctionnalité d'une forêt urbaine. La compréhension et la conservation des forêts sont des thématiques qui m'intéressent beaucoup, et que j'aimerais approfondir dans une perspective professionnelle. En postulant, j'espérais pouvoir participer à plusieurs sous-projets et ainsi découvrir ou approfondir des notions vues en cours, tout en me familiarisant avec des approches totalement nouvelles.

B- La présentation de la mission

Au cours du premier entretien en visioconférence avec Markus Franzen, la possibilité de faire du travail de terrain a été tout de suite évoquée. En effet, il travaille dans plusieurs universités et a des projets sur plusieurs sites, tous centrés sur l'étude de la biodiversité. Il m'a proposé des localisations différentes avec différents sujets. J'ai choisi l'université de Linnaeus, pour participer à l'étude de biodiversité entre différents habitats et j'ai été mise en contact avec ma tutrice.

Lors de notre entretien, nous étions en décembre et il était trop tôt pour parler précisément des tâches que j'allais accomplir. L'essentiel était de voir si le courant passait bien et d'envisager un éventail de possibilités à explorer, une fois arrivée sur place. La seule certitude concernait une partie du travail de terrain, l'intitulé de ma mission fut alors volontairement assez large :

«Investigate the impacts of climate change on oak forests in southern Sweden, focusing on biodiversity, growth patterns, and ecosystems resilience. The main Objectives are : to explore the links between forest management, biodiversity and carbon storage, assess how climatic and environmental changes influence oak Forest biodiversity and ecosystems services. Apply advanced molecular and ecological techniques such as DNA sequencing and tree growth analyses to analyse Forest dynamics

and contribute to the development of sustainable forest management practices to mitigate threats diseases, pests and extreme weather events. »

J'ai eu une grande liberté pour choisir mes axes de travail, qui se sont profilés en fonction des opportunités que j'ai eues au fur et à mesure des personnes que j'ai rencontrées.

Le stage s'est structuré en trois axes :

1-Travail de terrain

J'ai participé à plusieurs missions, notamment :

- la pose de pièges Malaises
- L'installation de Trunk Traps

2-Travail de laboratoire

J'ai contribué à plusieurs étapes de l'analyse ADN des pièges Malaises

- Lyse ADN
- Extraction ADN
- PCR

3- Analyses de données dendrochronologiques

C- Contexte des missions

La pose de pièges Malaise et le travail de laboratoire réalisés se sont inscrits dans le cadre de la préparation d'un article s'intitulant « Evaluating the efficacy and reliability of Malaise traps for characterizing insect communities ».

Cet article est en cours de rédaction par l'équipe de chercheurs dans laquelle j'ai été intégrée. Ce stage m'a permis de découvrir concrètement le monde de la recherche, tout en suivant certaines étapes préliminaires à la publication d'une étude : conception, organisation, récolte de données, analyses en laboratoire, discussions méthodologiques, ...

L'étude est née grâce à de récents résultats qui ont montré que de nombreuses espèces capturées par les pièges Malaises, ne sont présentes que dans un faible nombre d'échantillons. Ce qui soulève plusieurs hypothèses, comme la rareté des espèces, une répartition spatiale très localisée, une sélectivité des pièges, ou une limite de la méthode de metabarcoding.

L'un des objectifs majeurs de l'étude est donc de démêler le vrai du faux en évaluant l'efficacité des pièges Malaise, et celle du metabarcoding pour restituer fidèlement la diversité capturée.

Le deuxième objectif de l'étude est de comparer la biodiversité des insectes et arthropodes parmi quatre types d'habitats différents. Cette analyse permettra de mieux comprendre l'impact de la gestion des milieux sur les communautés d'insectes.

Au final, l'étude vise à produire deux contributions distinctes : l'une centrée sur l'évaluation méthodologique, l'autre sur les différences écologiques entre habitats.

Pour alléger les pages suivantes, je précise que toutes photos ont été prises par moi.

II-Travail de terrain

A- Pièges Malaises

a- La pose des pièges

Le début de mon stage a marqué le début du travail de terrain avec une phase d'apprentissage consacrée à la pose des pièges Malaises.

Fonctionnement d'un piège Malaise

Ce dispositif a été inventé par René Malaise, un entomologiste suédois. Il s'agit d'un dispositif non sélectif, conçu pour capturer plusieurs groupes d'insectes volants. Le piège prend la forme d'une tente, les insectes qui se retrouvent à l'intérieur, se cognent contre les parois et ont tendance à monter. Ils se retrouvent dans une forme d'entonnoir, le point le plus haut de la tente où une ouverture les emmène dans la bouteille haute, située au sommet de la structure. Ils tombent alors dans la bouteille du bas, contenant une solution d'éthanol qui les préservent jusqu'à ce que les bouteilles soient récoltées (Société Entomologique Antilles Guyane, Piège Malaise et SLAM).

Organisation et objectifs de la campagne de pose

Comme dit précédemment, dans deux buts, des pièges Malaises sont placés dans des habitats différents. Ce sont 108 pièges qui ont été installés sur 5 sites différents dans le sud de la Suède. Chaque site devant théoriquement comporter 5 habitats différents : zone humide, coupe rase, forêt de feuillus, forêt de conifères, et prairie.

Chaque habitat doit comprendre 3 pièges, espacés de 25 mètres et placés à l'écart des chemins pour éviter les interactions humaines. De plus, il doit être dirigé vers le sud afin d'optimiser la capture.

La pose d'un piège prend entre 15 et 30 minutes en fonction de la nature du sol (sableux, rocheux, ...). Voici les principales étapes de l'installation :



Figure 1 : Piège Malaise dans une coupe rase

- 1-Creuser un trou pour insérer la tige principale (à l'avant)
- 2-Déployer et fixer la toile
- 3-Fixer le support métallique de la bouteille de collecte
- 4-Attacher la toile à ce support à l'aide d'un anneau métallique avec un tournevis
- 5-Planter un second piquet à l'arrière de la structure pour la tendre
- 6-Arrimer le piège avec des sardines et des cordelettes
- 7-Poser un scotch opaque sur la bouteille inférieure pour éviter l'évaporation de l'éthanol
- 8-Remplir cette bouteille d'éthanol
- 9-Référencer le piège (numéroter le piège et le référencer sur une application avec une photo)

Certaines étapes ont posé des difficultés techniques, notamment le creusement de trous dans certaines coupes rases ou il y avait très peu de substrat et beaucoup de roches, et également certaines prairies sableuses. La fixation de l'anneau métallique prenait aussi beaucoup de temps et était impossible à

réaliser sans être deux. Avec l'expérience, nous avons réfléchi et pensé à utiliser un tournevis électrique pour gagner du temps.

Logistique et travail en équipe

La pose de l'ensemble des pièges s'est étalée sur plusieurs semaines. L'équipe était composée de 6 personnes réparties sur 3 sites, en binôme ou trinôme selon les zones géographiques : le « nord », le « sud » et l'île Gotland, comme le montre la figure 2.



Figure 2 : extrait de la Figure « Répartition des pièges Malaises », Réalisation : Judith Looten

J'ai pu découvrir les coulisses d'un projet de recherche dans ses premières phases. Notamment, le choix des sites à étudier, fait par Romana et Markus, souvent à l'aide d'images satellites. Cependant, des vérifications sur le terrain étaient indispensables. En parallèle de la pose, il fallait aller explorer certains sites afin de s'assurer que l'habitat correspondait bien à ce qui était attendu. Par exemple, certaines coupes rases peuvent avoir fortement évoluées entre la prise de l'image satellite et ne plus correspondre au critère requis. Vérifier que le site était accessible à pied, en transportant du matériel lourd, pour la pose et les futures collectes. Ils devaient être exempts de la présence d'animaux d'élevages. Parfois, des compromis devaient être faits et des sites avec des accès compliqués (traverser une rivière, forêt très dense) étaient gardés.

Un outil découvert

L'application Field Maps a été indispensable au travail de terrain. Elle a permis de géolocaliser chaque piège en créant un point GPS, d'enregistrer des données et des commentaires relatifs à chaque piège (référencement mais aussi problèmes spécifiques). Il est possible de créer une carte pour partager ces données avec les autres membres du projet et de suivre l'avancement global des opérations.

b-La récolte des pièges

Dans le cadre de l'étude, les pièges ont été récoltés toutes les deux semaines. Une fois, tous les pièges installés, ils ont été vidés une première fois. Il était crucial qu'ils soient tous renouvelés en une journée afin d'avoir une homogénéité temporelle pour garantir la fiabilité des comparaisons entre les sites. Il en a été de même pour les deux dates de collectes suivantes.

Etant donné le nombre important de pièges (108), nous étions 6 répartis en binômes entre les sites, chacun responsable d'une zone. Une fois les deux dates de collecte pour l'étude passée, les collectes continuaient mais pouvaient s'étaler sur plusieurs jours, car les échantillons allaient simplement servir à faire de l'identification. Pour la suite des collectes, je me suis occupée avec mon binôme de la récolte de tous les sites, excepté ceux sur Gotland. Cette mission, assez physique, nous prenait environ une

semaine, de part le nombre de piège mais surtout des sites assez éloignés qui pouvaient nécessiter plus de deux heures de voiture pour y accéder.

La collecte des pièges suit un protocole précis : transvaser le contenu de la bouteille de collecte dans une autre bouteille, étiquetée avec le nouvel ID, généré par l'enregistrement du piège comme « vidé », son habitat et son site. La remise d'éthanol neuf et si besoin la remise en état du piège (replanter les sardines, renforcement des piquets, ou remplacer les cordelettes, réparer les trous dans la toile ...). Il est arrivé que les pièges soient complètement détruits par des sangliers ou tombés à cause du vent et du sol pas assez meuble.

Constats sur la biodiversité

Lors des récoltes, les observations visuelles du contenu des bouteilles nous ont permis de constater quelques tendances parmi les habitats :

Les zones humides et les prairies semblent être les habitats les plus riches en biodiversité. Il y avait toujours beaucoup d'insectes, et plus de papillons et de libellules (figure 3) ...

La richesse des zones humides n'est pas étonnante, ce sont en effet parmi les écosystèmes les plus riches en biodiversité (RAMSAR, 27/08/2018).

A l'inverse, les forêts de conifères se sont révélées assez pauvres, en diversité, comme le montre la figure 4.

En effet, les essences présentes ont un rôle déterminant sur la composition du cortège d'insectes, de par leur diversité et leurs caractéristiques. Certaines essences accueillent une diversité d'espèces plus importante que d'autres. C'est le cas de la richesse spécifique des feuillus, qui est plus élevée que celle associée aux résineux (Céline Emberger et al., 31/12/2016). Dans les forêts de feuillus, il semblait effectivement que plus d'essences étaient présentes que chez les conifères. La présence de plus d'essences pourrait signifier plus d'insectes spécifiques à chaque essence et donc une richesse spécifique de la forêt plus élevée. La gestion des forêts est donc essentielle pour promouvoir et stabiliser une diversité des insectes, surtout en Suède où la sylviculture est très présente.

Il est également à noter que les pièges qui étaient à l'ombre, près de rochers étaient considérablement moins remplis. Avec du recul, ces pièges auraient dû être déplacés, l'effet de l'ombre n'étant pas analysé comme facteur, des données ont été perdues. Ce type de situation peut rapidement créer un biais dans l'analyse, c'est dommage et cela renforce l'importance de protocoles bien définis et d'une bonne communication entre les équipes.



Figure 3 : Bouteille collectée dans une zone humide



Figure 4 : Bouteille collectée dans une forêt de feuillus

c-Le travail de préparation et suivi

En parallèle du travail de terrain, j'ai été impliquée dans la logistique de préparation. Lorsque je n'étais pas sur le terrain, je préparais le matériel en amont.

Avant chaque sortie, pour gagner du temps, il fallait fabriquer la tige support du piège en assemblant trois tiges de bambous avec du scotch. Il fallait préparer les étiquettes à coller sur les bouteilles avec le type d'habitat, le numéro de piège et la date. Ces étiquettes sont essentielles pour assurer la traçabilité des bouteilles tout au long de l'étude.

La collecte nécessitait un grand nombre de bouteilles propres, et le nettoyage suivait un protocole rigoureux pour éviter toute contamination ADN : un savonnage, un bain de chlore de 5 minutes pour enlever les traces éventuelles d'ADN, et un rinçage abondant à l'eau distillée pour éliminer les traces de chlore. Cette étape est importante pour garantir, plus tard, la fiabilité des analyses en laboratoire. Enfin, avons dû faire appel à des ressources extérieures pour compléter notre équipement, en empruntant des pièges à la station Linné, un centre de recherches sur l'île d'Oland.

Afin d'assurer le suivi des collectes, j'ai créé un document Excel partagé qui allait également nous aider pour le travail de laboratoire. Il référençait tous les pièges avec leur numéro, leur ID de site, leur habitat, la date de pose, la date de pose de la bouteille, les coordonnées et les ID pour les deux dates importantes pour l'étude (Annexe 1). Les données ont été extraites de l'applications Field Maps.

d- Communication et observations

Une fois les phases de poses et de collectes terminées, le projet a commencé tout doucement sa phase d'analyse, notamment pour identifier les sites les plus pertinents à conserver pour l'étude. Il fallait conserver un site (parmi les 7) qui ait : 5 habitats différents, des pièges ayant été fonctionnels pendant la période de collecte, et qui ait des sites intéressant en termes de biodiversité.

Ma tutrice n'ayant fait des collectes que dans la zone Sud, m'avait confié la tâche de faire un retour structuré sur les sites dont je m'étais occupée. J'ai pu lui fournir, une description des sites détaillée, les problèmes rencontrés (pièges détruits, ...), les écarts entre les habitats théoriques et leur réalité sur le terrain et les observations relatives à la richesse de chaque site. Ces observations ont permis d'exclure certains sites de l'analyse et d'en mettre en lumière d'autres. Nous nous sommes alors rendues compte que tous les sites n'abritaient pas les 5 types d'habitats. Ce fut problématique car cela rétrécissait le choix des sites que nous avions pour l'étude. J'ai trouvé regrettable de s'en être rendu compte si tard, à la fin des dates clés de collecte. Il aurait été possible, en amont de créer un document partagé avec le type d'habitat dans chaque site entre les différents « décideurs » des sites.

Chaque lundi, une réunion d'équipe avait lieu avec le membre du Oak Project. Ces temps d'échanges étaient l'occasion de s'informer sur l'avancée du travail des autres, de partager des difficultés...

Ces réunions m'ont permis de développer mes compétences de communication scientifiques, notamment dans ce type de contexte où tous ne connaissaient pas la méthodologie du projet par exemple. S'exprimer dans ce contexte linguistique n'a au début, pas été évident, malgré l'obtention récente du TOEIC.

Il m'a fallu apprendre à savoir exprimer clairement ce que je faisais et à adapter mon discours en fonction de l'interlocuteur. Pour faire un retour des pièges dont je m'étais occupée à ma tutrice, j'avais par exemple pu réaliser une carte, très simple, avec le nom des sites, mais qui permettaient de visualiser clairement mon propos, quand les informations étaient nombreuses. Penser à ce type de

représentation très simple me semble être utile pour plus tard, exprimer mon propos et ne pas perdre mon auditoire parmi trop d'informations.

A la demande de ma tutrice, j'ai pu réaliser une carte pour visualiser la répartition des pièges Malaises, et une autre pour celle des Trunk Traps sur ArcgisPro (Annexes 2 et 3).

Les compétences acquises sur le terrain et en communication m'ont ensuite été utiles pour la prochaine mission : les Trunk Traps.

B- Trunk Traps

a-La pose des pièges

En parallèle des pièges Malaises, j'ai participé à une autre mission de terrain : la pose des Trunk Traps (figure 5).

J'ai été responsable, avec mon binôme de terrain de la pose et de la collecte d'une cinquantaine de pièges sur plusieurs sites forestiers dans le sud de la Suède. Cette mission a été réalisée en grande autonomie sous la supervision à distance de Markus Franzen.

Contrairement aux pièges Malaise, cette mission ne n'inscrivait pas dans la réalisation d'une étude, mais relevé simplement de la volonté de Markus Franzen de collecter des données à long terme sur la biodiversité associée à différentes essences sur différents sites.

Fonctionnement d'un Trunk Trap

Les Trunk Traps sont des pièges fixés sur des troncs d'arbres qui vont empêcher les insectes de monter à l'aide d'une toile entourant l'arbre et qui les forcent à tomber dans un bocal rempli de glycol, qui permet leur conservation.



Figure 5 : Trunk Trap

Le temps de pose d'un piège varie en fonction de l'essence et du diamètre de l'arbre, mais est généralement de l'ordre de 30 minutes. Nous avions des sites désignés avec la consigne d'en poser un certain nombre, et également un certain nombre d'essences à respecter mais nous étions libres de choisir précisément les arbres.

Pour choisir un arbre : il y a une taille minimale d'environ 20 cm de diamètre à respecter et il est intéressant d'avoir des tailles différentes en prenant aussi de vieux arbres. Pour la facilité de pose, le tronc doit être plutôt droit.

La première étape est la pose du support du bocal (le triangle noir), orienté vers le sud, il est fixé au moyen d'agrafes. Si le tronc est lisse, la pose est directe, sinon, comme c'est le cas pour l'écorce des conifères (figure 6), il faut lisser le tronc à l'aide d'une hache sur toute la circonférence où l'on souhaiteagrafer. En effet, les agrafes tiennent difficilement sur cette écorce assez aérienne qui offre de plus de

nombreuses échappatoires pour les insectes. Il est aussi parfois nécessaire de brosser l'écorce avec une brosse en fer pour enlever le lichen.

Il faut ensuite agraffer la toile, en veillant à faire des « vagues », pour laisser un jour suffisant entre le tronc et la toile et empêcher les insectes de monter dessus. Cette toile est composée d'un joint en mousse que nous collons sur la toile. On commence de chaque côté du piège, en induisant un mouvement vers le bas, puis on rejoint les extrémités à l'aide de autres morceaux de toiles qu'on fixe aux premiers avec des agrafes et du scotch (figure 7).

La troisième étape est le « calfeutrage », à l'aide d'un pistolet à silicone, on vient boucher tous les trous visibles entre le joint et l'écorce et on colle le bas du filet à l'écorce.

La quatrième étape consiste à entourer le bocal de scotch, comme pour les Malaise, afin d'éviter l'évaporation, puis à remplir de Glycol, et enfin de poser une étiquette avec le numéro du piège. Il est également nécessaire de référencer le piège dans Field Maps (avec le numéro et le nom de l'essence en suédois)



La cinquième étape est la pose d'une étiquette à titre informative, agrafée sur les arbres susceptibles d'être vus par des randonneurs, avec l'explication du dispositif et les coordonnées du superviseur.

D'anciens Trunk Traps avaient déjà été posés sur nos sites, et nous avons passés quelques jours à les remettre en état afin de pouvoir les ajouter aux pièges fonctionnels. Cela a permis d'augmenter les données disponibles pour une future étude.

Figure 6 : Trunk Trap de face Figure 7: Trunk Trap de dos

b- La récolte des pièges



Figure 8 : Etiquetage d'une bouteille de collecte

En parallèle de la collecte des pièges Malaise, s'est orchestrée celle des Trunk Trap. Pour cela, une bouteille de collecte par piège est nécessaire, en plus de bidons de glycol et d'étiquettes. Le contenu de chaque piège est vidé dans une bouteille, le bocal est rempli avec du nouveau glycol, le piège est référencé comme « vidé » sur Field Maps et la bouteille est étiquetée avec l'ID généré par la modification de l'état du piège (figure 8).

C- Compétences acquises

Grâce à ces deux missions de terrain, j'ai acquis des compétences concrètes en gestion de projet scientifique. En binôme avec un autre étudiant, nous étions autonomes dans l'organisation et la

réalisation de notre travail. Nous disposions d'un véhicule pour nous rendre sur les différents sites et nous assurons la gestion des stocks de matériel (réapprovisionnement à l'université, rachat d'agrafes ou de glycol, ...)

Nous d'abord appris à travailler en équipe, à confronter nos opinions et être force de propositions pour nous organiser au mieux lors de la pose et des collectes. Nous avons aussi appris à gérer nos stocks, planifier nos journées efficacement en tenant compte des distances, de la météo et du nombre de pièges à traiter. Nous faisons de plus des rapports réguliers pour tenir au courant de notre avancée et des éventuels problèmes que nous ne pouvions gérer.

Cette mission m'a permis d'améliorer mes compétences floristiques. De mes connaissances antérieures et grâce au module du TechBio, je savais déjà reconnaître les essences telles que les différentes sortes de pins, les bouleaux, ormes, peupliers, chênes, cerisiers, ... Mais ces semaines passées au cœur des forêts, m'ont permis de gagner en rapidité d'identification. J'ai appris à reconnaître certaines espèces à distance avec certaines caractéristiques telles qu'avec leur port, la disposition du feuillage. L'environnement suédois m'a amené à devoir apprendre le nom des essences en suédois, en devant renseigner Field Maps.

Par ailleurs, être en pleine nature a attisé ma curiosité pour les mousses présentes. J'ai commencé à observer différents groupes et je pense continuer de m'y intéresser.

L'observation régulière du contenu des pièges Malaise et des Trunk Traps a également éveillé en moi un véritable intérêt pour les insectes. Mon binôme passionné d'entomologie partageait volontiers ses connaissances, parfois aussi sur l'état larvaire des insectes. En effet, quand nous travaillions longtemps autour d'un arbre, nous abimions le sol et trouvions des larves de coléoptères. Il m'a aussi sensibilisée aux exuvies en m'expliquant où les trouver quand nous étions près de cours d'eau.

Comme présenté sur les figures 9 à 14 ci-dessous, j'ai appris à reconnaître les cétoines, les impressionnantes lucanes mâles et femelles, les frelons, les sphinx roses, ...



Figure 9 : Lucane cerf-volant, *Lucanus cervus*, mâle



Figure 10 : Cétoine dorée, *Cetonia aurata*

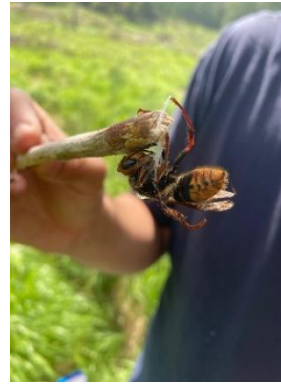


Figure 11 : Probablement un frelon européen, *Vespa crabro*



Figure 12 : Lucanes dans un Trunk Trap



Figure 13 : Probablement un Grand capricorne, *Cerambyx cerdo*



Figure 14 : Sphinx du laurier-rose, *Daphnis nerii*

Ces nouvelles connaissances sont évidemment précieuses pour la suite de mon parcours. Elles enrichissent ma palette d'analyse et d'identification qui peuvent être utiles dans le cas par exemple d'un chargé d'études faune flore.

Une fois les échantillons des pièges Malais récoltés sur le terrain, vient l'étape de leur analyse en laboratoire

III- Le travail de laboratoire

Dans le cadre de l'étude, portant sur l'efficacité des pièges Malais et l'analyse inter habitats de biodiversité, deux dates de collectes ont été sélectionnées : le 27 mai et le 11 juin. Ces deux journées sont celles où tous les pièges de tous les sites ont été collectés le même jour et ce sont ceux dont je me suis occupée.

L'objectif du travail de laboratoire a été de préparer les échantillons à un séquençage ADN, avec la méthode de métabarcoding. Cette technique permet d'inventorier les organismes présents dans un échantillon sans avoir à les identifier au préalable, que ce soit des échantillons de tissus, d'eau ou d'air.

Il fut possible d'établir un lien entre cette technologie et le cours sur les espèces exotiques envahissantes (EEE) eu ce semestre. Les cadres juridiques et les différentes réglementations pour limiter leur propagation reconnaissent l'importance de l'identification précise et rapide de l'espèce à tous les stades de développement et à faible concentration. Les outils ADN présentent ces avantages d'identification. Le métabarcoding ou métabarcodage repose sur le même principe que le codage-barre ADN, apparu au début des années 2000 qui recherche l'ADN d'une espèce précise. Le métabarcodage peut lui analyser des communautés entières en comparant les codes-barres inconnus à des codes-barres déjà référencés dans une base de données (Comtet, T., Sandionigi, A., Viard, F. et *al.*, 2015).

Avant le séquençage, plusieurs étapes sont nécessaires : la lyse ADN, l'extraction ADN et les PCR (Amplification en Chaîne par Polymérisation).

Pour de réaliser ces étapes, il est essentiel de connaître quelques règles pour travailler en laboratoire sans nuire aux autres et à la qualité des résultats.

Avant de commencer les manipulations j'ai bénéficié de quelques jours pour en apprendre plus sur ce sujet et me mettre à niveau. Ce temps m'a aussi permis de me familiariser avec les locaux techniques : j'ai eu droit à une visite des différents laboratoires selon leur usage (PCR, extraction, salles « DNA free », ...), ainsi que des zones de stockage des produits chimiques, des frigos, incubateurs, congélateurs, ... Des consignes précises m'ont été données sur les règles à appliquer lors de l'utilisation d'un produit pour assurer sa traçabilité, sur le port des équipements, sur l'utilisation de quelques machines, ainsi que sur les gestes d'urgence en cas par exemple de contact avec les yeux. J'ai dû signer une charte de bonne conduite avec des règles de sécurité et d'hygiène avant de commencer à travailler.

La priorité lors des premières manipulations a été l'apprentissage des réflexes pour éviter les contaminations des échantillons et entre les échantillons. Parmi eux, changer ses gants régulièrement, nettoyer rigoureusement son espace de travail avec des produits adaptés, éviter toute dispersion de liquide, utiliser des zones « propres » et « sales », ... Cette exigence est fondamentale car une contamination dans les premières étapes peut invalider toute la suite de l'analyse de l'échantillon.

A-La lyse ADN

Pour arriver au séquençage, la première étape est la lyse ADN. Un processus qui permet de dissoudre la membrane cellulaire pour libérer l'ADN en vue de son extraction ultérieure.

Ma tutrice a élaboré un protocole pour ce projet, que j'ai contribué à tester et améliorer la première semaine. Nous avons notamment dû trouver un système de filtration efficace pour séparer les insectes de l'éthanol qui les conservait. Plusieurs matériaux ont été testés et évoqués (filtre à café, passoire, tissu de rideau, ...), avant de s'accorder sur une toile plastifiée très fine, maintenue avec un élastique.

Une fois le protocole stabilisé, j'ai été formée à la méthode. J'ai fait environ 1 semaine de lyse avec un autre étudiant puis j'ai été responsable de la finalisation de la lyse pour les échantillons de l'étude (90 échantillons).

Voici un récapitulatif simplifié du protocole :

Le protocole se déroule sur une journée en deux grandes étapes, séparées par une incubation de 4 heures.



Figure 15 : Bouteilles de lyses dans le four

Le matin, la première étape est d'allumer le four à 60 degrés et mettre la bouteille de lyse à l'intérieure (figure 15). Il faut ensuite préparer le matériel pour chaque échantillon (pinces, entonnoir, élastique, filtre, bouteilles vides étiquetées) sur une paille soigneusement désinfectée au chlore puis à l'éthanol. Les bouteilles de collectes sont ramenées de la chambre froide et désinfectées avant d'être posées à leur place.

Chaque bouteille est ensuite filtrée (pendant 30 minutes) grâce au dispositif pour séparer l'éthanol des insectes qui sera utilisé pour analyser son pollen (figure 16).

Entre chaque manipulation entre les bouteilles, une désinfection des gants (chlore puis éthanol) est nécessaire.

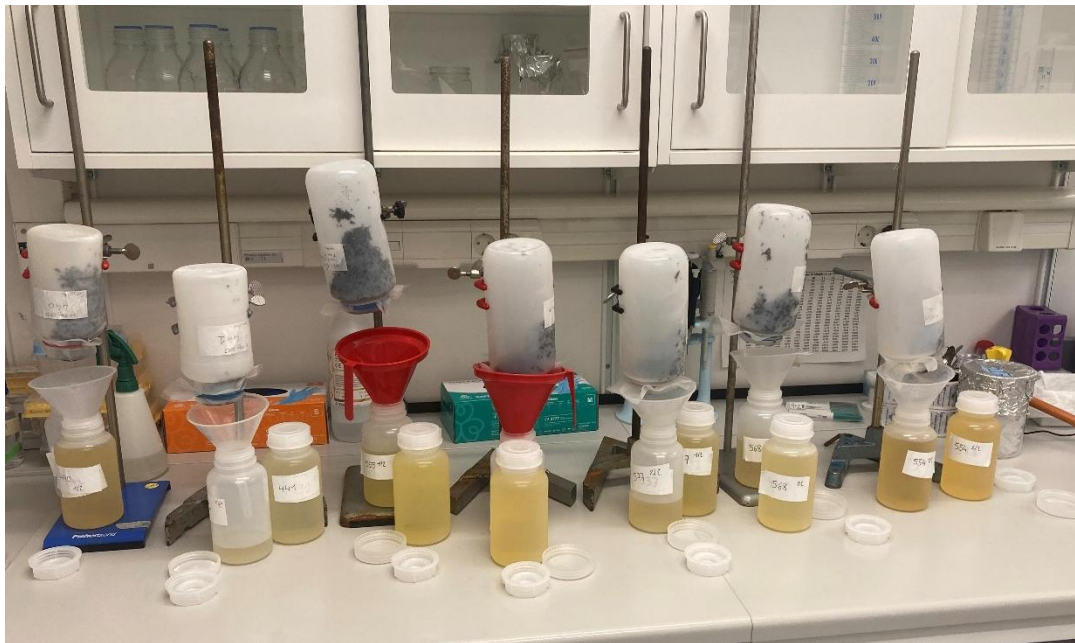


Figure 16 : Filtration des échantillons

Durant la filtration, il faut renseigner les données inscrites sur les bouteilles (ID, habitat, site, commentaire) sur un fichier Excel. Ce fichier suit l'avancement de l'analyse des bouteilles.

Pour les ajouts futurs de lyses et de protéine K (utilisé pour la destruction des protéines dans les lysats cellulaire), il est nécessaire de renseigner le type de bouteilles. En effet, de nombreuses bouteilles ont été utilisées pour la collecte des insectes, avec des formes différentes, chaque type a été référencé avec une lettre qui est liée à un poids. De même, chaque filtre a été pesé et numéroté.

Une fois que les 30 minutes se sont écoulées, les bouteilles d'éthanol sont rangées au frigo et les bouteilles d'insectes sont pesées pour obtenir leur masse.

Une fois tous les échantillons pesés, le banc est nettoyé avec du chlore et de l'éthanol.

La feuille de calcul donne automatiquement la quantité de lyse qu'il faut ajouter et la quantité de Protéine K (proportionnel au poids d'insectes), les quantités sont reportés sur les étiquettes de chaque bouteille pour simplifier les manipulations. Une fois la lyse et la protéine K ajoutées, les bouteilles sont placées dans le four pendant 4 heures (figure 17). Chaque heure, il faut aller les secouer afin de bien mélanger les actifs. Les gants sont désinfectés entre chaque bouteille et les embouts de pipette aussi.

Pour l'ajout de lyse, des béchers étaient utilisées mais pour la protéine K, j'ai eu l'occasion d'apprendre à utiliser des pipettes de type Eppendorf, comme présentée sur la figure 18. Les pipettes sont choisies en fonction du volume, puis sont ajustées manuellement, les embouts sont choisis en fonction de la pipette et sont changés entre chaque échantillon.



Figure 17 : Bouteilles avec la lyse et la protéine K dans l'incubateur



Figure 18 : pipette Eppendorf

Pendant ce temps, le banc et tout le matériel est nettoyé dans un bain de chlore (5 minutes), puis rincé à l'eau distillée. La préparation de la deuxième étape peut commencer (figure 19).

Après l'incubation, les bouteilles sont de nouveau filtrées et la lyse est répartie dans deux Falcon Tube numérotés de 50mL par échantillon (sauf quand le volume de lyse ajouté était inférieur à 50). Le reste du liquide est recueilli dans un bidon pour les déchets de lyse. Une petite quantité d'éthanol est ajoutée aux insectes pour les conserver pour une identification éventuelle ultérieure.

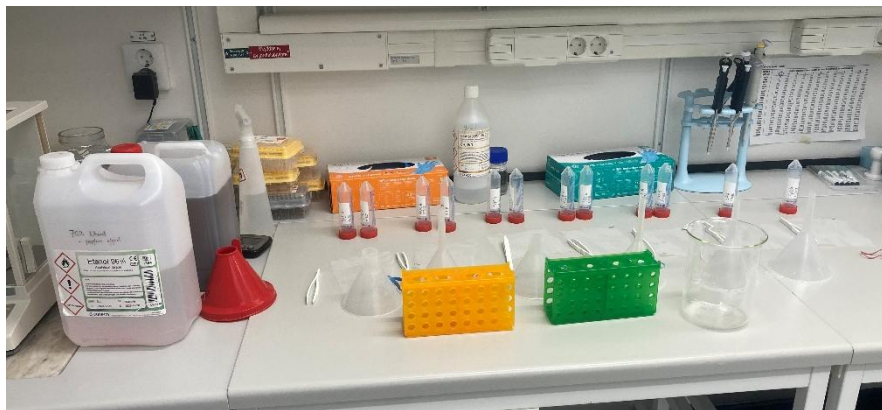


Figure 19 : Installation du matériel pour la filtration après la lyse ADN

Enfin, la dernière étape consiste à prélever deux fois 500 μ L de chaque Falcon Tube à l'aide d'une pipette et à les transférer dans des microtubes de 1,5 mL, étiquetés avec soin (figure 20). Pour toute l'installation du matériel, des règles pour éviter les contaminations sont suivies comme ne pas

mettre la main dans un sachet de contenants mais plutôt les faire glisser au bord du sachet, éviter de toucher l'intérieur des tubes, changer de gants entre chaque étape, ...

Les microtubes vont ensuite dans une boîte dédiée, dans le frigo du labo où ils constituent la base de travail de l'extraction ADN. Les Falcon tubes sont stockés au frigo et les bouteilles d'insectes sont marquées d'une croix, d'un « DONE », et sont stockées dans des cartons numérotés dans une pièce au congélateur.



Figure 20: Microtubes contenant la lyse ADN

Toute cette organisation logistique est cruciale pour le suivi des échantillons, elle se traduit notamment par l'étiquetage des différents tubes, le référencement dans le fichier Excel, ainsi que l'organisation des échantillons dans des boîtes au congélateur.

B-Filtration de pollen

Les échantillons d'éthanol récupérés lors de la phase de lyse sont également destinés à être analysés par métabarcodage, pour leur pollen. L'objectif est ici, grâce aux insectes qui ont transporté une charge pollinique, de détecter les essences d'arbres dans les différents habitats, J'ai été en charge de la filtration de la majorité de ces échantillons, ce qui m'a permis de bien maîtriser le protocole et d'en optimiser certaines étapes.

Le processus repose sur l'utilisation d'une pompe de filtration, qui fait passer l'éthanol à travers un filtre (figure 21). C'est ce filtre qui sera analysé avec un séquençage ADN, après avoir subi, comme pour les insectes, une extraction ADN et des PCR.

Voici brièvement le protocole :

Avant chaque session de filtration, le banc est nettoyé au chlore puis à l'éthanol pour minimiser les risques de contamination. Tout le matériel « propre » est installé, dans un certain ordre : un Falcon tube, un microtube, un filtre qu'on relie directement au tuyau, un bécher en dessous du filtre pour recueillir le liquide, ainsi qu'un tissu propre pour poser deux pinces.

Chaque échantillon est ensuite sorti du frigo, identifié grâce à son ID, les tubes sont alors étiquetés avec celui-ci et avec la mention « pollen » (figure 22). Il faut veiller à prendre toutes les bouteilles correspondant à un ID. Pour faciliter cette étape, j'ai proposé dès la phase de lyse d'ajouter un étiquetage clair sur les bouteilles (par exemple : 1/1 ou 2/2), afin de les identifier plus facilement.

Cette modification a été adoptée et a permis de gagner en efficacité tout en évitant les erreurs de correspondance entre les échantillons.



Figure 21: Filtration de pollen

Ensuite, 10% du volume de l'échantillon est prélevé dans le Falcon tube afin d'en garder une trace, et le reste passe dans la machine. Une fois la filtration terminée, le filtre est délicatement récupéré à l'aide de deux pinces et on le glisse dans le microtube (figure 23). Celui-ci part dans un sac référencé dans le congélateur du laboratoire. Les Falcon tubes vont également dans un sac identifié dans le frigo du laboratoire.



Figure 22: Falcon tube étiqueté



Figure 23 : Filtre après la filtration

C-Extraction ADN et PCR

Après la lyse ADN, j'ai pu apprendre à réaliser les extractions d'ADN. Bien que je n'aie pas effectué cette étape aussi fréquemment que la lyse, j'ai eu l'opportunité de l'apprendre aux côtés d'une post-doctorante. Apprendre et manipuler à ses côtés en pouvant lui poser des questions, m'a permis de mieux comprendre le fonctionnement de l'extraction, notamment le rôle spécifique de chaque buffer utilisé durant le processus.

J'ai également appris à manipuler plusieurs équipements et instruments nouveaux pour moi, comme les filtres à pipettes, les centrifugeuses (figures 24 et 25), le vortex, ainsi que le Qubit (figure 26), un appareil utilisé pour quantifier précisément l'ADN extrait.

Concernant les PCR, par manque de temps, j'ai seulement assisté aux manipulations, ce qui m'a permis de me familiariser avec les différentes étapes de cette technique.

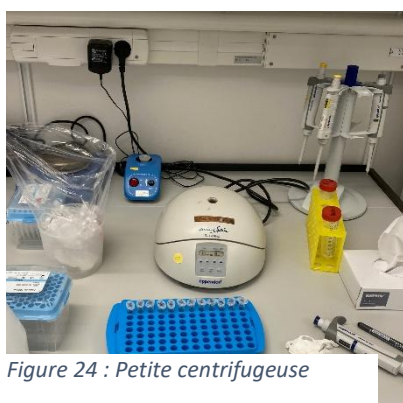


Figure 24 : Petite centrifugeuse



Figure 25 : Grande centrifugeuse



Figure 26 : Qubit

Le temps consacré à réaliser les lyses ADN ainsi qu'à la filtration de pollen m'ont permis de pouvoir enseigner les protocoles à deux personnes qui en avait besoin, un étudiant qui allait se charger de la filtration de tous les échantillons de pollen issu des bouteilles Malaise qui n'ont pas servi à l'étude, et à une post doctorante.

Cette expérience d'enseignement, que l'on peut qualifier de « soft skill », m'a conduit à développer un sens plus aigu de la rigueur et des responsabilités, car il était essentiel que ces manipulations soient réalisées correctement, dans le respect de l'ordre et des règles de contamination pour le bon déroulé des prochaines étapes.

Le travail de laboratoire a représenté pour moi une véritable opportunité d'apprentissage. Bien que je ne sois pas issue d'un parcours biologique, cette expérience m'a permis de découvrir plusieurs méthodes d'analyse et d'en apprendre beaucoup sur ce domaine.

Cette immersion m'a surtout permis de développer une vision concrète et réaliste du déroulement d'un projet de recherche en laboratoire : les temps nécessaires, les marges d'erreur possibles, les ajustements de protocoles, l'importance de la traçabilité...

En tant que future ingénieure, cette expérience me donne des outils précieux pour dialoguer efficacement avec des équipes de recherche, anticiper leurs besoins, comprendre les contraintes techniques et organiser les différentes phases d'un projet. Elle construit ma future capacité à encadrer

des projets, en ayant conscience des réalités de terrain et des exigences de rigueur propres au travail en laboratoire.

IV-Analyse dendrochronologique

Par la suite, j'ai souhaité me consacrer à de l'analyse de données. Cela fut court car il ne me restait que deux semaines. Les résultats issus de mon travail de laboratoire n'étaient pas encore exploitables, car le processus est long, l'extraction venait juste de commencer et le séquençage devant se passer au Canada, les résultats ne sont pas attendus avant septembre ou octobre.

J'ai alors eu l'opportunité de travailler sur un jeu de données transmis par un membre de l'équipe, portant sur des relevés dendrochronologiques effectués sur plusieurs sites en Suède. Le jeu comprenait 280 arbres appartenant à quatre espèces de chêne (*Quercus robur*, *Quercus petraea*, *Quercus rubra* et un hybride putatif), pour lesquels étaient renseignés : les largeurs de cernes depuis la naissance, l'espèce, un identifiant individuel, un identifiant de site et les coordonnées géographiques. Un second jeu de données apportait des informations complémentaires, comme le diamètre et la hauteur des arbres au moment de l'échantillonnage.

Face à ce jeu de données, quatre questions semblaient intéressantes à traiter :

- Il y a-t-il des différences de stockage carbone entre ces espèces de chênes ?
- Ce stockage dépend-il de la position géographique de l'arbre ?
- Les 4 espèces ont-elles le même modèle de croissance ?
- Ce modèle est-il influencé par la position géographique ?

Pour le stockage carbone, j'avais l'intention de tester une autre méthode que celle vue en cours, en utilisant des équations allométriques. Faute de temps et rencontrant des difficultés à trouver, je me suis concentrée sur l'analyse des modèles de croissance.

Pour cette étude, le BAI, la surface basale incrémentée de l'arbre, a été utilisé. Il s'agit d'un indice utilisé en dendrochronologie, permettant de quantifier la croissance des arbres en comparant avec l'année précédente.

Sa formule est :
$$BAI = \frac{\{DBH_{fin}^2 - DBH_{début}^2\}}{4 \pi \times \{nombre\ d'années\}}$$

Le DBH, est lui le diamètre pris à hauteur de poitrine, c'est-à-dire 1,3 m. Les mesures de cernes étant prises à cette hauteur, le DBH est obtenu en incrémentant la taille des cernes. Ici, c'est l'évolution du BAI d'une année à l'autre qui nous intéresse, nous divisons donc par 1.

Dans un premier temps, les données ont été explorées à l'aide de graphiques Excel, en étudiant l'évolution du BAI par espèce et sous forme de moyennes globales. Mais certains arbres, peu visibles ou avec des données incomplètes, biaisaient les résultats. Sur les conseils de ma tutrice, j'ai alors migré l'analyse sur R, ce qui permettait une meilleure gestion des jeux de données complexes, et l'utilisation de modèles linéaires mixtes. Ce type de modèle comprend des effets fixes (dont on veut généraliser les propriétés) et aléatoires (dont on ne veut pas généraliser les propriétés).

La prise en main du logiciel a été assez longue, ma tutrice étant absente, et j'ai perdu du temps à comprendre que les erreurs rencontrées venaient des versions différentes des packages dont j'avais besoin.

Deux modèles ont d'abord été réalisés, testant l'impact de l'âge, de l'espèce et de la latitude sur le BAI. En incluant également des interactions : l'effet de l'âge sur l'évolution du BAI entre les espèces et l'effet de l'âge sur l'évolution du BAI par rapport à la latitude. Je voulais voir si les espèces croissent en même temps et connaître leurs variations. Il était de plus intéressant de voir si un arbre à un âge donné avait la même évolution de son BAI à une latitude différente.

Pour analyser les résultats, un test ANOVA de type III était utilisé, et la p-value des différents facteurs indiquait si il y avait un effet significatif ou non.

Voici par exemple, un modèle testant notamment l'interaction « Age / espèce » à la figure 27, et le graphique obtenu en figure 28. La figure 29 montre quant à elle l'impact de la latitude sur le BAI. Les autres graphiques et modèles sont disponibles en annexe.

```
{r}
library(lme4)
library(lmerTest)
library(ggplot2)
library(sjPlot)
mod_growth <- lmer(BAI ~ scale(Age) * Tree_species + latitude + (1 | Site_tree_id),
data = Data_Carbon)

summary(mod_growth)
anova(mod_growth)
tab_model(mod_growth)

library(ggeffects)
plot_model(mod_growth, type = "pred", terms = c("Age", "Tree_species"))

> anova(mod_growth)
Type III Analysis of Variance Table with Satterthwaite's method

```

	Sum Sq	Mean Sq	NumDF	DenDF	F value	Pr(>F)
scale(Age)	96321	96321	1	23102.5	2546.3710	<2e-16 ***
Tree_species	6843	2281	3	269.7	60.2970	<2e-16 ***
latitude	38	38	1	259.4	0.9918	0.3202
scale(Age):Tree_species	44900	14967	3	23089.3	395.6598	<2e-16 ***

```
---
```

Figure 27: Modèle linéaire mixte de croissance et test ANOVA

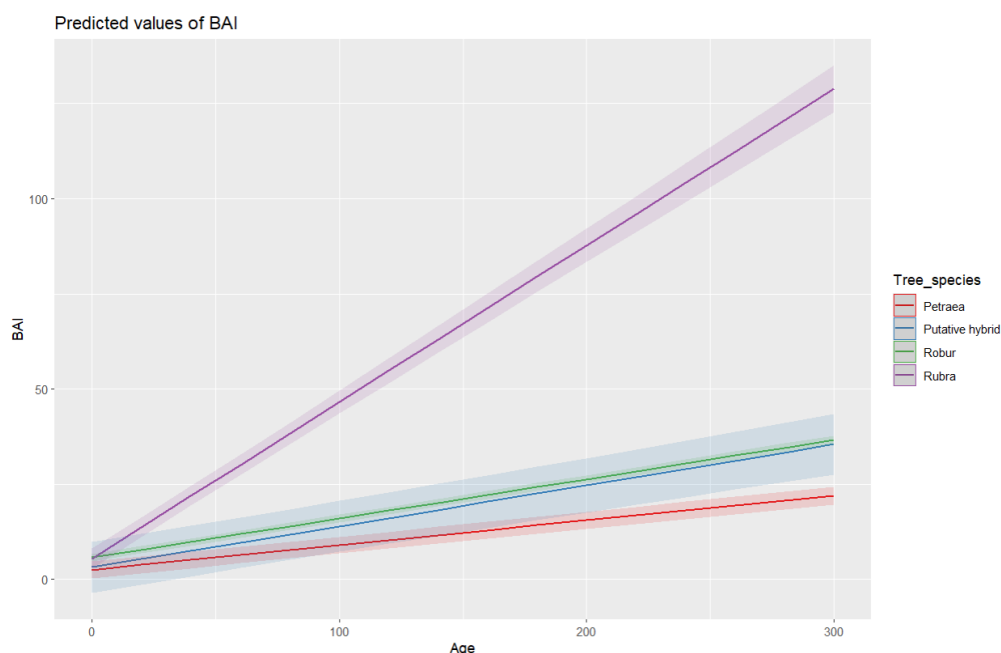
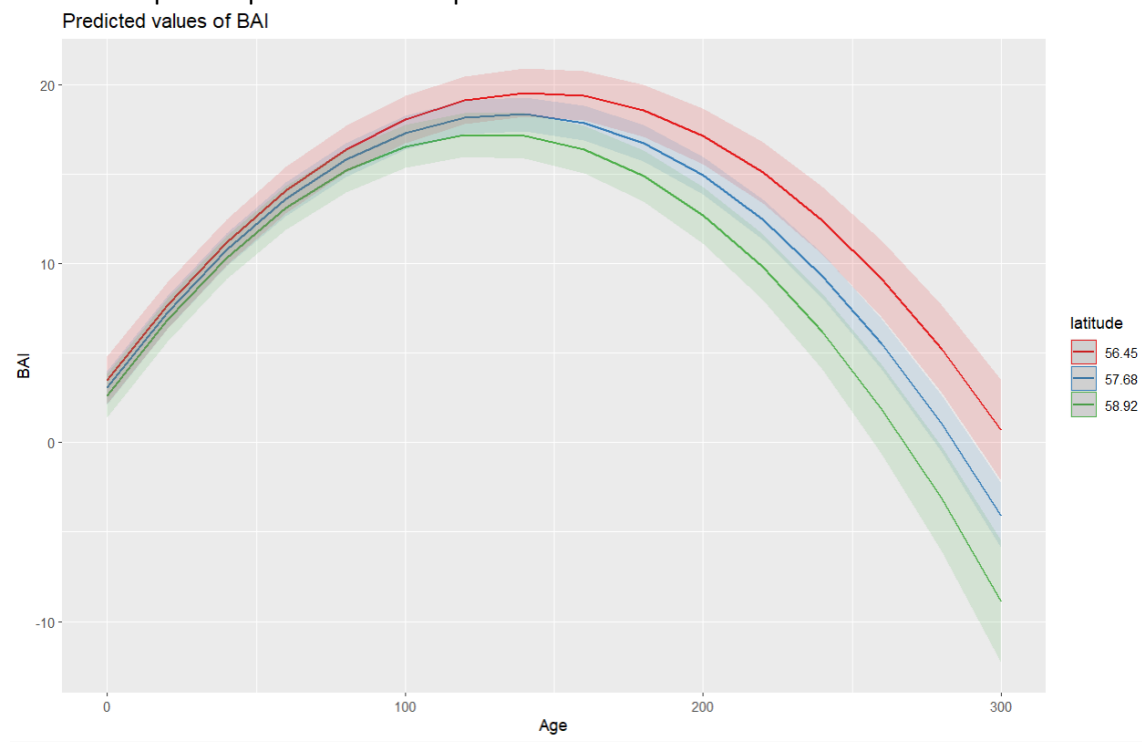


Figure 28 : Valeurs prédites de BAI en fonction de l'âge et de l'espèce

Sur conseils de ma tutrice j'ai ensuite préféré des graphiques individuels, par espèces, qui testaient ces paramètres. J'ai de plus essayé d'inclure des équations quadratiques.

En raison des vacances d'été de chacun, j'ai eu peu de temps pour avoir des retours. Deux jours avant la fin de mon stage, j'ai pu faire une réunion avec ma tutrice et un chercheur qui a été très enrichissante et bénéfique. Ils m'ont permis de me rendre compte des limites méthodologiques de mon approche. Les modèles réalisés ne sont pas faux, mais ne sont pas non plus justes. En effet, il y a beaucoup de paramètres que je n'ai pas pris en compte et qui pourraient influencer les modèles. Par exemple, sur le graphique ci-dessus, l'espèce *Quercus Rubra* semble effectivement avoir une croissance beaucoup plus forte que les autres. Néanmoins, cela peut s'expliquer par un biais d'échantillonnage. Effectivement, j'aurais pu regarder la date de naissance des échantillons : si la majorité des individus sont nés dans un contexte climatique favorable, avec plus de dioxyde de carbone disponible, alors l'effet n'est pas uniquement dû à l'espèce.



```
Type III Analysis of Variance Table with Satterthwaite's method
```

	Sum Sq	Mean Sq	NumDF	DenDF	F value	Pr(>F)
poly(Age, 2)	53700	26849.8	2	23005.3	800.1408	< 2.2e-16 ***
Tree_species	824	274.6	3	357.7	8.1841	2.778e-05 ***
latitude	46	46.2	1	259.2	1.3770	0.2417
poly(Age, 2):Tree_species	39740	6623.4	6	23023.2	197.3815	< 2.2e-16 ***

 Sianif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Figure 29 : Impact de la latitude sur l'évolution du BAI

De plus, je n'ai pas regardé la répartition des espèces sur les différents sites, ni leur âge. On peut imaginer qu'il n'y ait que de jeunes arbres dans le nord, et que l'augmentation de carbone dans l'atmosphère ai influencé leur croissance.

Cet échange m'a permis m'apprendre énormément de choses, grâce à la pédagogie et la bienveillance de mes encadrants, et de me faire réaliser que sans être compliquée, l'analyse était complexe et il y a beaucoup de choses à prendre en compte. Pour ce stage, je n'ai pas eu le temps d'aller plus loin et d'essayer d'inclure ces nouveaux paramètres. Je suis néanmoins satisfaite d'avoir avancé sur ma maîtrise d'Excel, en mettant en œuvre certaines astuces du module de SGBD, et en découvrant d'autres, parfois plus simples ! De même, la découverte de R, bien que laborieuse s'est révélée enrichissante et a ouvert un nombre de méthodes d'analyses insoupçonnées qui me semblent très utiles pour la suite de mon parcours.

Le thème des différences de croissances entre les espèces de chênes les a intéressés et ils m'ont proposé d'écrire un article, si je voulais continuer à approfondir ces analyses.

Conclusion

Ce stage de quatre mois en Suède a été une opportunité particulièrement riche, tant sur le plan technique que personnel.

Il m'a permis d'explorer l'ensemble du cycle d'un projet de recherche en écologie : de la mise en place de protocoles de terrain à la collecte de données, jusqu'à leur traitement en laboratoire. De plus, il m'a confronté à un projet de recherche en commençant à analyser un jeu de données dendrochronologique.

J'y ai développé des compétences concrètes en autonomie, en organisation logistique, en rigueur scientifique et en communication au sein d'une équipe pluridisciplinaire.

Le fait d'avoir eu des responsabilités à différents niveaux – que ce soit sur le terrain, en laboratoire ou lors des premières phases d'analyse – m'a permis de mieux comprendre les exigences liées à la conduite et au pilotage d'un projet scientifique.

Ce stage m'a également ouvert à de nouveaux domaines, comme l'entomologie, la dendrochronologie ou encore la biologie moléculaire, que je ne connaissais que peu, voire pas du tout. Il a amélioré mes compétences sur ArcgisPro, Excel, et m'a fait découvrir R. Même si certains aspects ne seront pas au cœur de mon futur métier, les avoir pratiqués m'a donné une meilleure vision d'ensemble du fonctionnement d'un projet de recherche, des délais, contraintes et choix techniques qu'il implique.

Il m'a permis d'améliorer significativement mon anglais, a renforcé mon intérêt pour les sciences de l'écologie, m'a donné de nouvelles clés pour comprendre les dynamiques de terrain et de données. Enfin, il m'a offert une première expérience significative dans un contexte international de recherche en me permettant même d'approfondir mes débuts de recherches sur les modèles de croissances des chênes en publiant un article si je le souhaite.

Table des illustrations

Figure 1 : Piège Malaise dans une coupe rase.....	5
Figure 2 : Extrait de la carte « Répartition des pièges Malaise ».....	6
Figure 3 : Bouteille collectée dans une zone humide.....	7
Figure 4 : Bouteille collectée dans une forêt de conifères.....	7
Figure 5: Trunk Trap.....	9
Figure 6 : Trunk Trap de face.....	10
Figure 7 : Trunk Trap de dos.....	10
Figure 8 : Etiquetage d'une bouteille de collecte.....	10
Figure 9 : Lucane cerf-volant, <i>Lucanus cervus</i> , mâle.....	11
Figure 10 : Cétoine dorée, <i>Cetonia aurata</i>	11
Figure 11 : Probablement un frelon européen, <i>Vespa crabo</i>	11
Figure 12 : Lucanes dans un Trunk Trap.....	11
Figure 13 : Probablement un Grand capricorne, <i>Cerambyx cerdo</i>	12
Figure 14 : Sphynx du laurier-rose, <i>Daphnis nerii</i>	12
Figure 15 : Bouteilles de lyse dans le four.....	13
Figure 16 : Filtration des échantillons.....	14
Figure 17 : Bouteilles avec la lyse et la protéine K dans le four.....	15
Figure 18 : Pipette Eppendorf.....	15
Figure 19 : Installation du matériel pour la filtration après la lyse ADN.....	15
Figure 20 : Microtubes contenant la lyse ADN.....	15
Figure 21 : Filtration de pollen.....	16
Figure 22 : Falcon tube étiqueté.....	16
Figure 23 : Filtre après la filtration.....	16
Figure 24 : Petite centrifugeuse.....	17
Figure 25 : Grande centrifugeuse.....	17
Figure 26 : Qubit.....	17
Figure 27 : Modèle linéaire mixte de croissance et test ANOVA.....	19
Figure 28 : Valeurs perdues de BAI en fonction de l'âge et de l'espèce.....	20
Figure 29 : Impact de la latitude sur l'évolution du BAI.....	21

Bibliographie

Société Entomologique Antilles Guyane, Piège Malaise et SLAM. Visité le 6 mai 2025

<https://insectafgseag.myspecies.info/en/content/pi%C3%A8ges-malaise-et-slam>

Les Zones humides-l'écosystème le plus précieux du monde-disparaissent trois fois plus vite que les forêts, selon un nouveau rapport. RAMSAR. 27/09/2018

<https://www.ramsar.org/fr/news/les-zones-humides-lecosysteme-le-plus-precieux-du-monde-disparaissent-trois-fois-plus-vite-que>

EMBERGER, Céline, LARRIEU, Laurent, GONIN, Pierre. Dix facteurs clés pour la diversité des espèces en forêt. CNPF-IDF. 31 décembre 2016. Page 6

https://books.google.fr/books?hl=fr&lr=&id=Hz8vEAAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA6&dq=faible+diversit%C3%A9+insecte+foret+conif%C3%A8re&ots=P_hj4pgnDG&sig=1_TpyeOutynaO2C0pyX3pVLpvkM&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false

Comtet, T., Sandionigi, A., Viard, F. *et al.* (Méta)barcoding ADN des invasions biologiques : un outil puissant pour élucider les processus d'invasion et faciliter la gestion des espèces exotiques. *Biol Invasions* **17**, 905–922 (2015).

<https://doi.org/10.1007/s10530-015-0854-y>

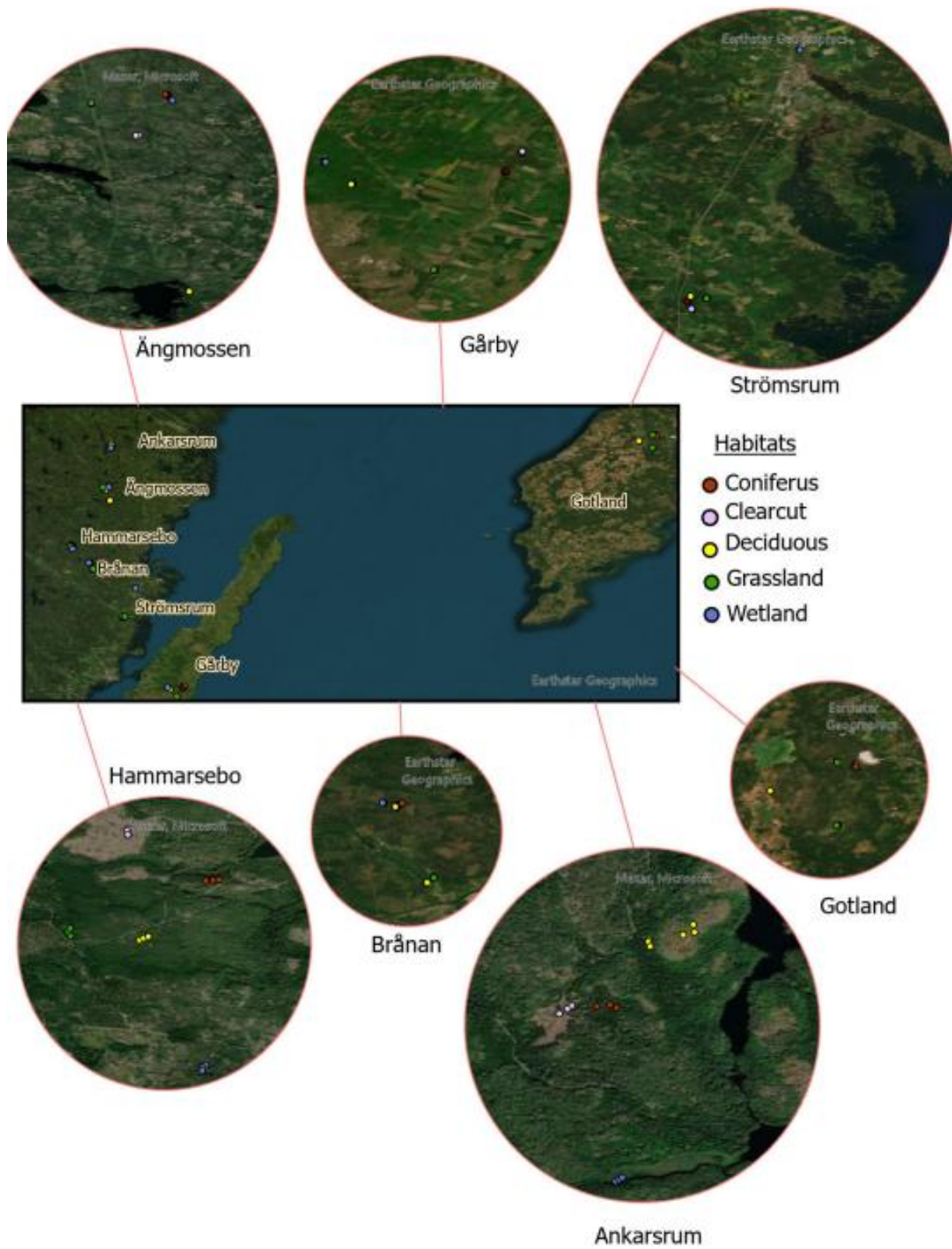
ANNEXES

Annexe 1 : Extrait du tableau Excel référençant les pièges Malaise

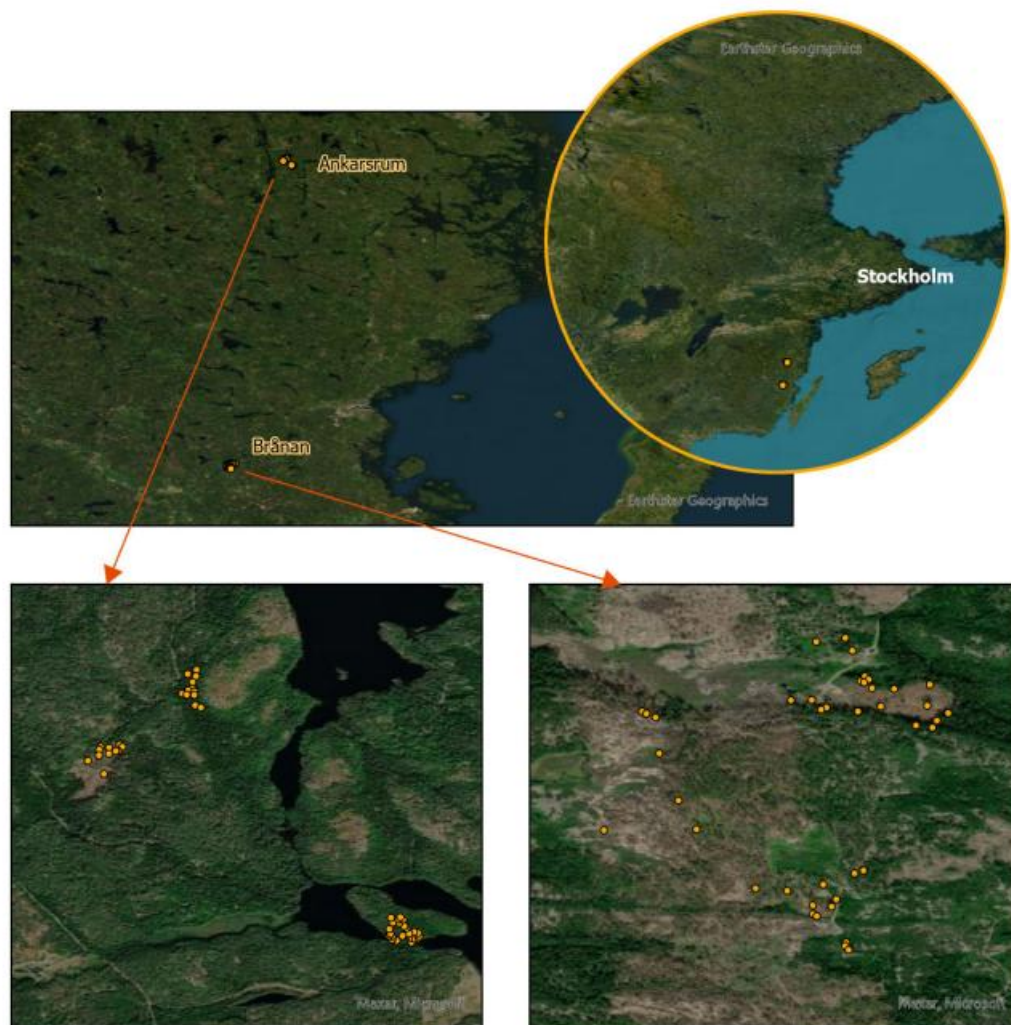
Object_ID (placed out)	Trap_ID	Site	Trap #	Coordinates	Habitat	Date place out	Date collection bottle added	New/old trap	OBJECTID 12 may emptied
72	Strömsrum_1	Strömsrum	1	59, 933030° 16,391953°E	Deciduous	22/04/25		New trap	228
73	Strömsrum_2	Strömsrum	2	56,933105°N 16,390799°E	Deciduous	22/04/25		New trap	230
74	Strömsrum_3	Strömsrum	3	56,933364°N 16,390866°E	Deciduous	22/04/25		New trap	233
90	Strömsrum_4	Strömsrum	4	56,930763°N 16,389447°E	Coniferous	22/04/25		New trap	235
95	Strömsrum_5	Strömsrum	5	56,930910°N 16,388905°E	Coniferous	22/04/25		New trap	236
102	Strömsrum_6	Strömsrum	6	59,930900°N 16,388403°E	Coniferous	22/04/25		New trap	237
110	Strömsrum_7	Strömsrum	7	56,932239°N 16,398256°E	Grassland	22/04/25		New trap	241
131	Strömsrum_8	Strömsrum	8	56,932386°N 16,399112°E	Grassland	23/04/25		New trap	245
132	Strömsrum_9	Strömsrum	9	56,932341°N 16,398665°E	Grassland	23/04/25		New trap	242
128	Strömsrum_10	Strömsrum	10	56,926732°N 16,391665°E	Clearcut	23/04/25		New trap	244
129	Strömsrum_11	Strömsrum	11	56,927072°N 16,391732°E	Clearcut	23/04/25		New trap	246
130	Strömsrum_12	Strömsrum	12	56,927148°N 16,391271°E	Clearcut	23/04/25		New trap	243
303	Strömsrum_13	Strömsrum	13	57,055018°N 16,444744°E	Wetland	15/05/25		New trap	-
305	Strömsrum_14	Strömsrum	14	57,054988°N 16,444279°E	Wetland	15/05/25		New trap	-
306	Strömsrum_15	Strömsrum	15	57,054855°N 16,444728°E	Wetland	15/05/25		New trap	-
133	Gårby_1	Gårby	1	56,616714°N 16,594405°E	Deciduous	23/04/25		New trap	218
134	Gårby_2	Gårby	2	56,616682°N 16,594034°E	Deciduous	23/04/25		New trap	219
135	Gårby_3	Gårby	3	56,616420°N 16,593688°E	Deciduous	23/04/25		New trap	220

Annexe 2 : Répartition des pièges Malaises

Locations of Malaise traps



Annexe 3 : Répartition des Trunk Traps



Annexe 4 : Evaluation dans R pour chaque espèce de chêne.

Pour chaque espèce, les mêmes codes sont répétés en changeant les paramètres relatifs à l'espèce. D'abord sont présentés les impacts de l'âge puis de la latitude.

Quercus Robur

```
library(lme4)
library(lmerTest)
library(ggplot2)
library(sjPlot)

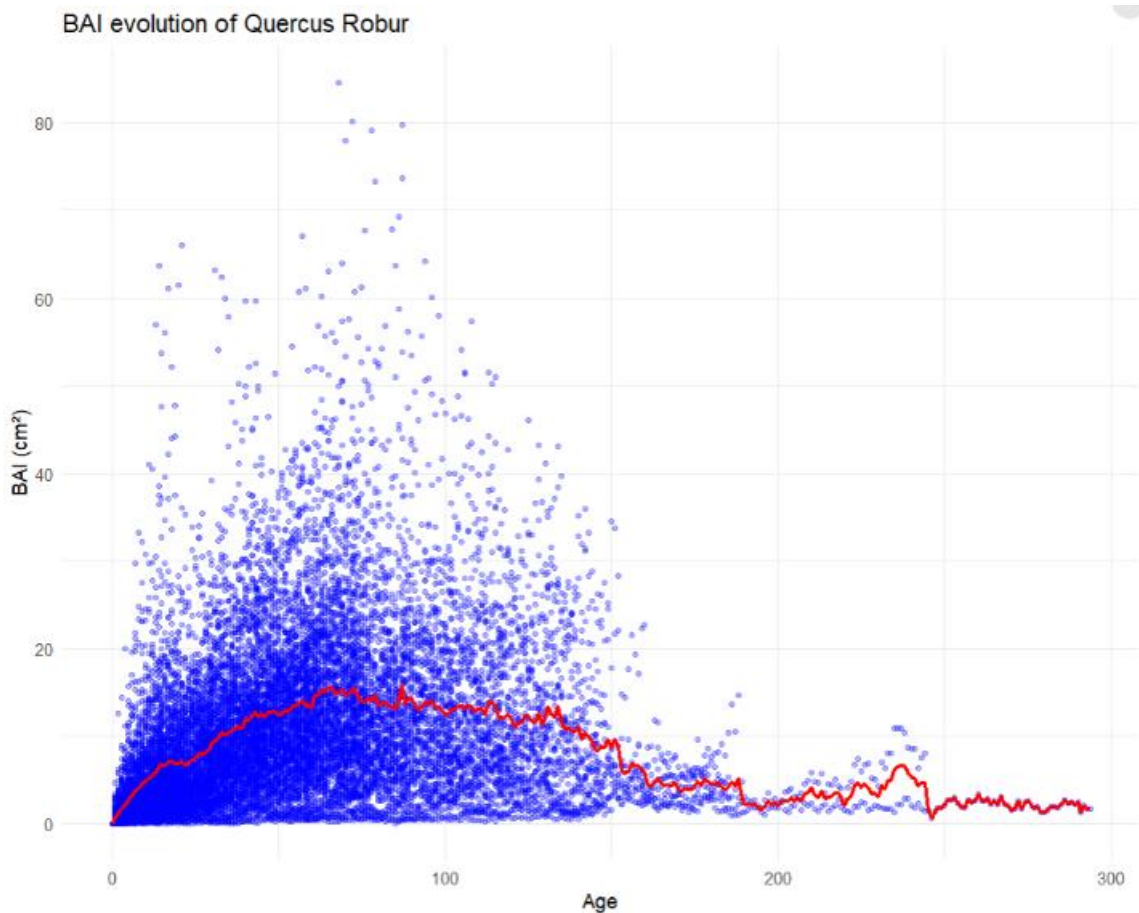
mod_growth <- lmer(BAI ~ poly(Age, 2) + (1 | Site_tree_id), data = robur)
plot_model(mod_growth, type = "pred", terms = c("Age"))

summary(mod_growth)
anova(mod_growth)
tab_model(mod_growth)
```

```
Type III Analysis of Variance Table with Satterthwaite's method
              Sum Sq Mean Sq NumDF DenDF F value    Pr(>F)
poly(Age, 2) 312673  156337      2 17069  4471.5 < 2.2e-16 ***
---
```

```
{r}
library(lme4)
library(lmerTest)
library(ggplot2)
library(sjPlot)

ggplot(robur, aes(x = Age, y = BAI)) +
  geom_point(alpha = 0.3, color = "blue", size = 1) +
  labs(
    title = "BAI evolution of Quercus Robur",
    x = "age",
    y = "BAI (cm2)"
  ) +
  theme_minimal()
```



```
{r}

library(lme4)
library(lmerTest)
library(ggplot2)
library(sjPlot)

data_clean <- na.omit(robur[, c("BAI", "latitude",
"Site_tree_id")])

mod_growth <- lmer(BAI ~ poly(latitude, 2) + (1 | Site_tree_id),
data = data_clean)

summary(mod_growth)
anova(mod_growth)
tab_model(mod_growth)

plot_model(mod_growth, type = "pred", terms = c("latitude"))
```

```
> anova(mod_growth)
Type III Analysis of Variance Table with Satterthwaite's method
              Sum Sq Mean Sq NumDF  DenDF F value Pr(>F)
poly(latitude, 2)  2.3653   1.1827     2  189.32  0.0222  0.978
> tab_model(mod_growth)
```

```
{r}
library(lme4)
library(lmerTest)
library(ggplot2)
library(sjPlot)

mod_growth <- lmer(BAI ~ scale(Age) * latitude + (1 |
Site_tree_id), data = robur)

summary(mod_growth)
anova(mod_growth)
tab_model(mod_growth)

plot_model(mod_growth, type = "pred", terms = c("Age", "latitude"
))
```

```
> anova(mod_growth)
Type III Analysis of Variance Table with Satterthwaite's method
```

	Sum Sq	Mean Sq	NumDF	DenDF	F value	Pr(>F)
scale(Age)	49.787	49.787	1	16754.8	1.2334	0.2668
latitude	13.066	13.066	1	193.5	0.3237	0.5701
scale(Age):latitude	10.986	10.986	1	16754.2	0.2722	0.6019

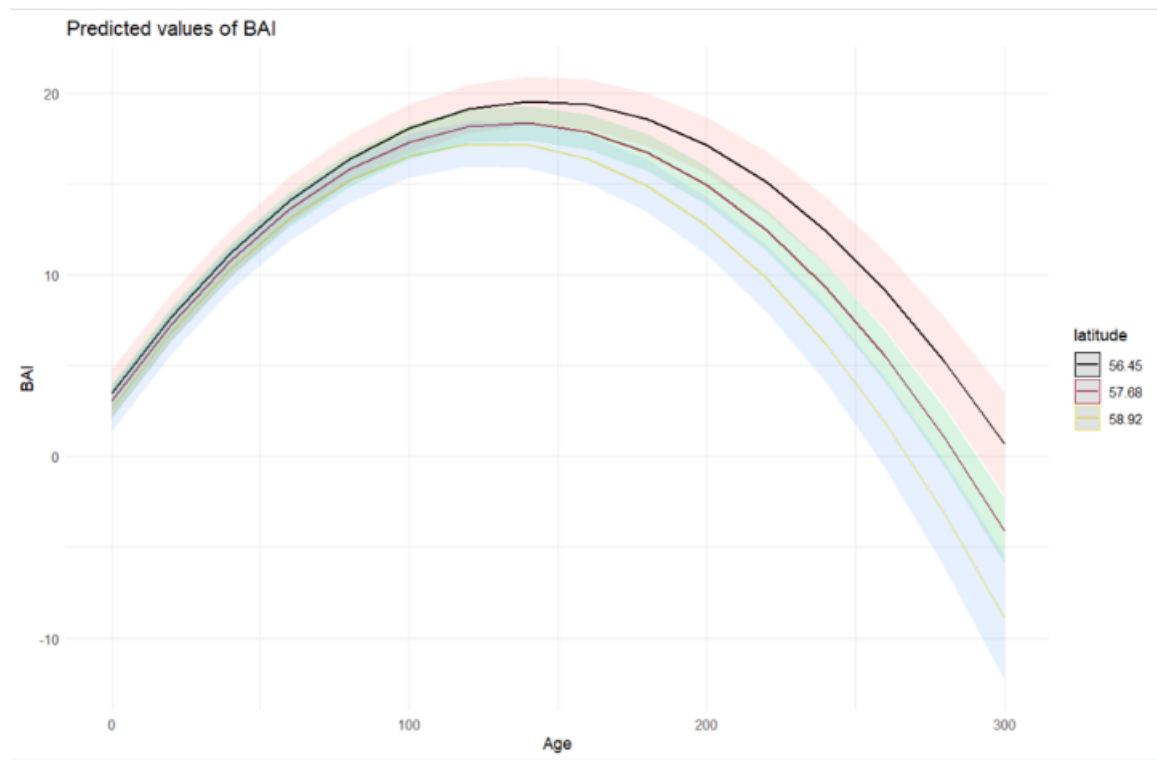
```
{r}

library(lme4)
library(lmerTest)
library(ggplot2)
library(sjPlot)

mod_growth <- lmer(BAI ~ poly(Age, 2)*latitude + Tree_species +
(1 | Site_tree_id), data = robur)

summary(mod_growth)
anova(mod_growth)
tab_model(mod_growth)

library(viridis)
plot_model(mod_growth, type = "pred", terms = c("Age",
"latitude")) +
  scale_color_viridis_d(option = "B", end = 0.95) +
  theme_minimal()
```



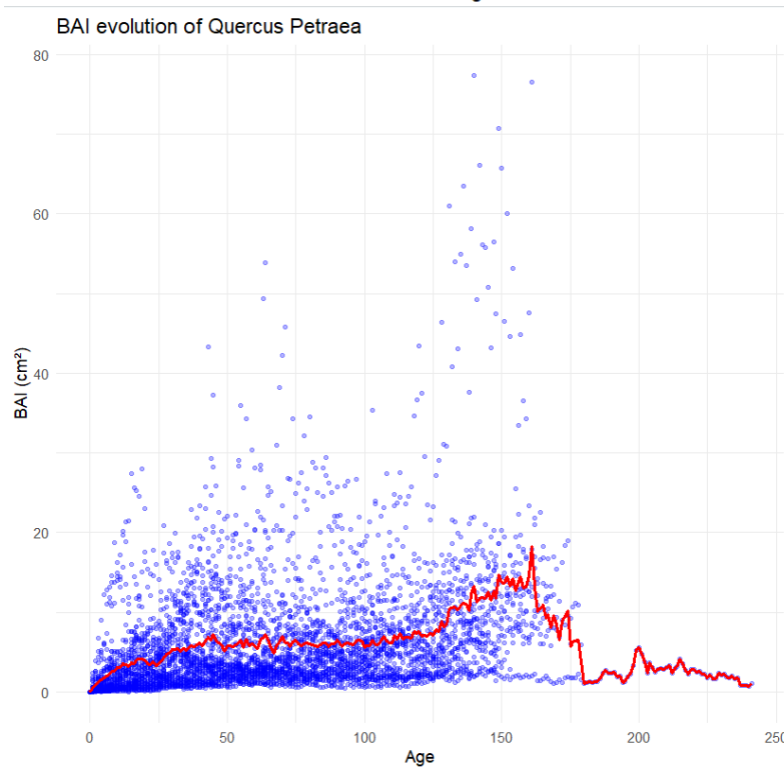
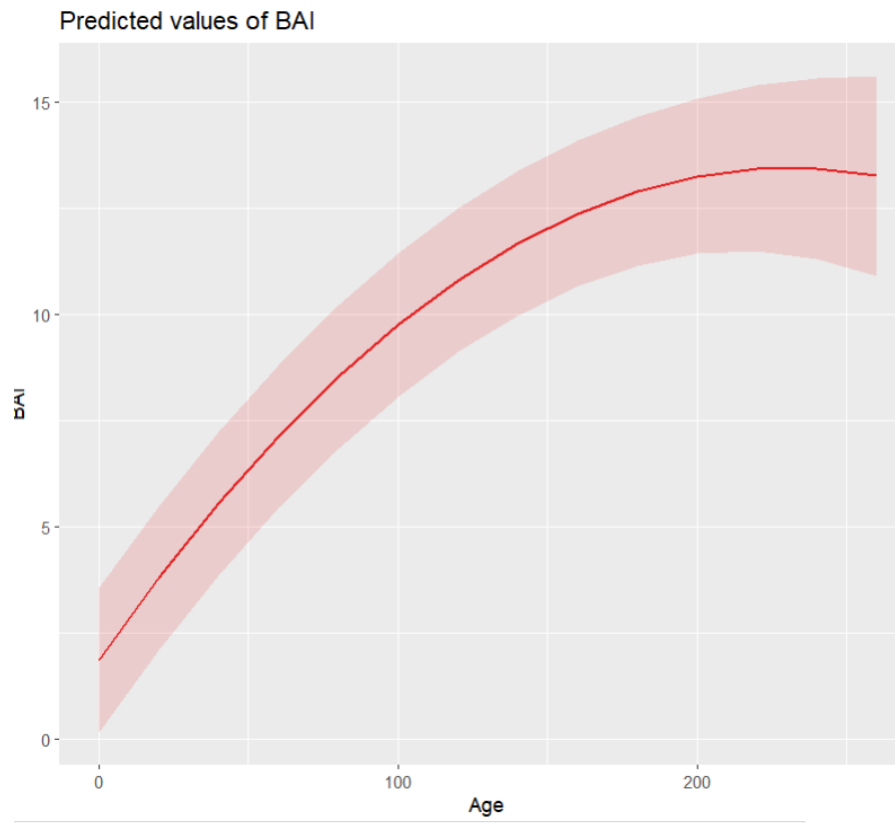
Quercus Petraea

```
library(lme4)
library(lmerTest)
library(ggplot2)
library(sjPlot)

mod_growth <- lmer(BAI ~ poly(Age, 2) + (1 | Site_tree_id), data =
= petraea)
plot_model(mod_growth, type = "pred", terms = c("Age"))

summary(mod_growth)
anova(mod_growth)
tab_model(mod_growth)
```

```
> anova(mod_growth)
Type III Analysis of Variance Table with Satterthwaite's method
              Sum Sq Mean Sq NumDF DenDF F value    Pr(>F)
poly(Age, 2)  36200   18100      2   4597  902.26 < 2.2e-16 ***
---
```



```
{r}
#age depending on latitude
library(lme4)
library(lmerTest)
library(ggplot2)
library(sjPlot)

mod_growth <- lmer(BAI ~ scale(Age) * latitude + (1 |
Site_tree_id), data = petraea)

summary(mod_growth)
anova(mod_growth)
tab_model(mod_growth)

plot_model(mod_growth, type = "pred", terms = c("Age", "latitude"
))
```

```
> anova(mod_growth)
Type III Analysis of Variance Table with Satterthwaite's method
              Sum Sq Mean Sq NumDF   DenDF F value    Pr(>F)
scale(Age)      34.537   34.537     1  4580.8   1.7009 0.19224
latitude       61.409   61.409     1    35.9   3.0242 0.09059 .
scale(Age):latitude 16.867   16.867     1  4580.7   0.8307 0.36213
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

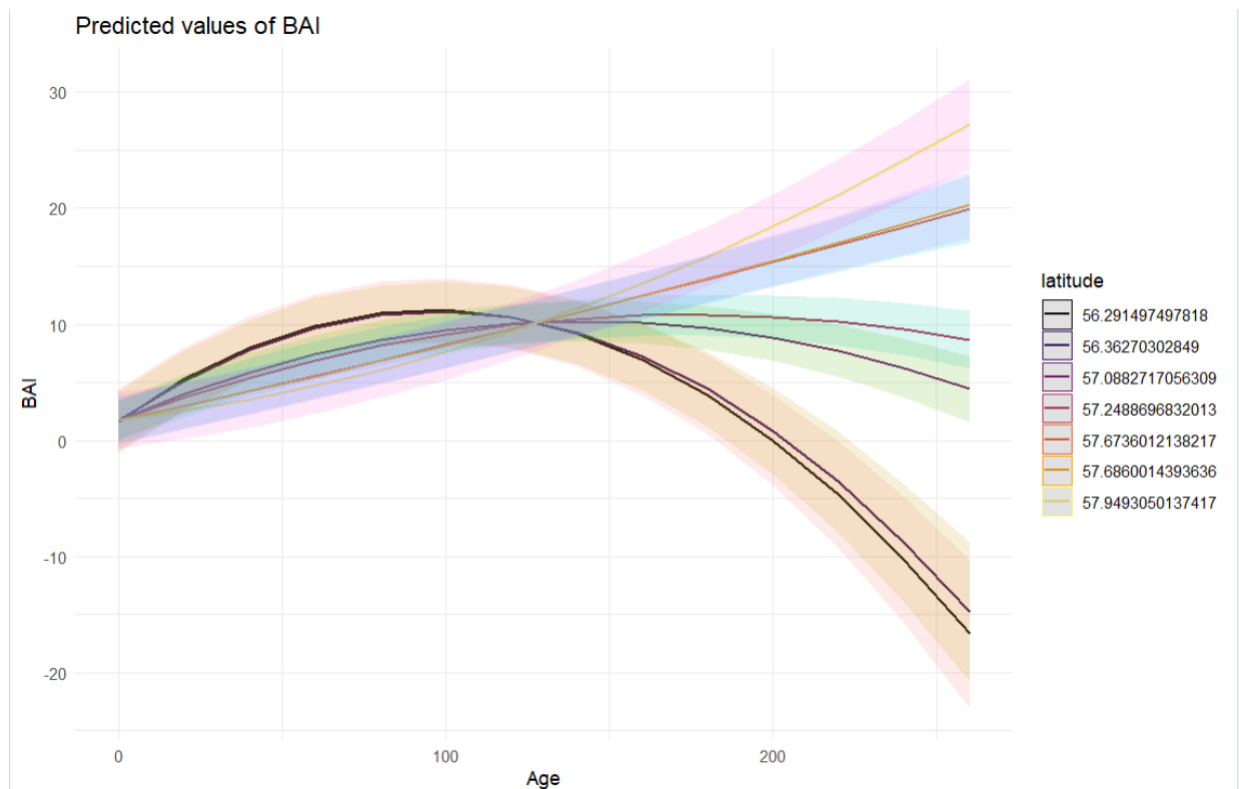
```
{r}
#test - growth depend on latitude?
library(lme4)
library(lmerTest)
library(ggplot2)
library(sjPlot)

mod_growth <- lmer(BAI ~ poly(Age, 2)*latitude + (1 |
Site_tree_id), data = petraea)

summary(mod_growth)
anova(mod_growth)
tab_model(mod_growth)

library(viridis)
plot_model(mod_growth, type = "pred", terms = c("Age",
"latitude")) +
  scale_color_viridis_d(option = "B", end = 0.95) +
  theme_minimal()
```

```
> anova(mod_growth)
Type III Analysis of Variance Table with Satterthwaite's method
              Sum Sq Mean Sq NumDF   DenDF F value    Pr(>F)
poly(Age, 2)    2693.89  1346.95     2  4574.6  69.2941 <2e-16 ***
latitude        25.69   25.69     1    36.1   1.3216 0.2579
poly(Age, 2):latitude 2666.82 1333.41     2  4574.6  68.5978 <2e-16 ***
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```



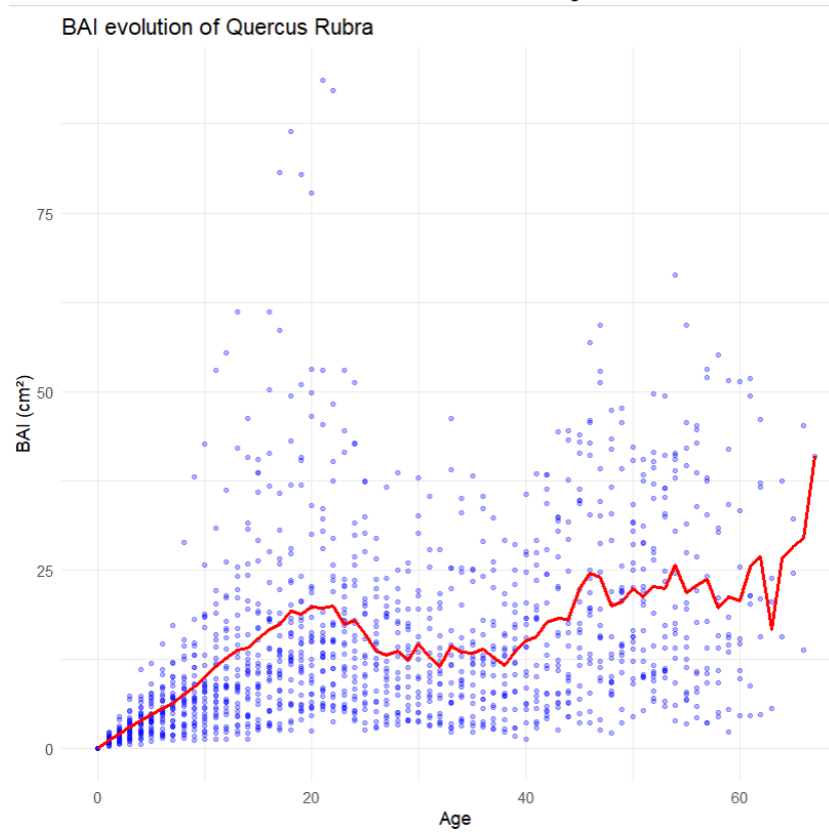
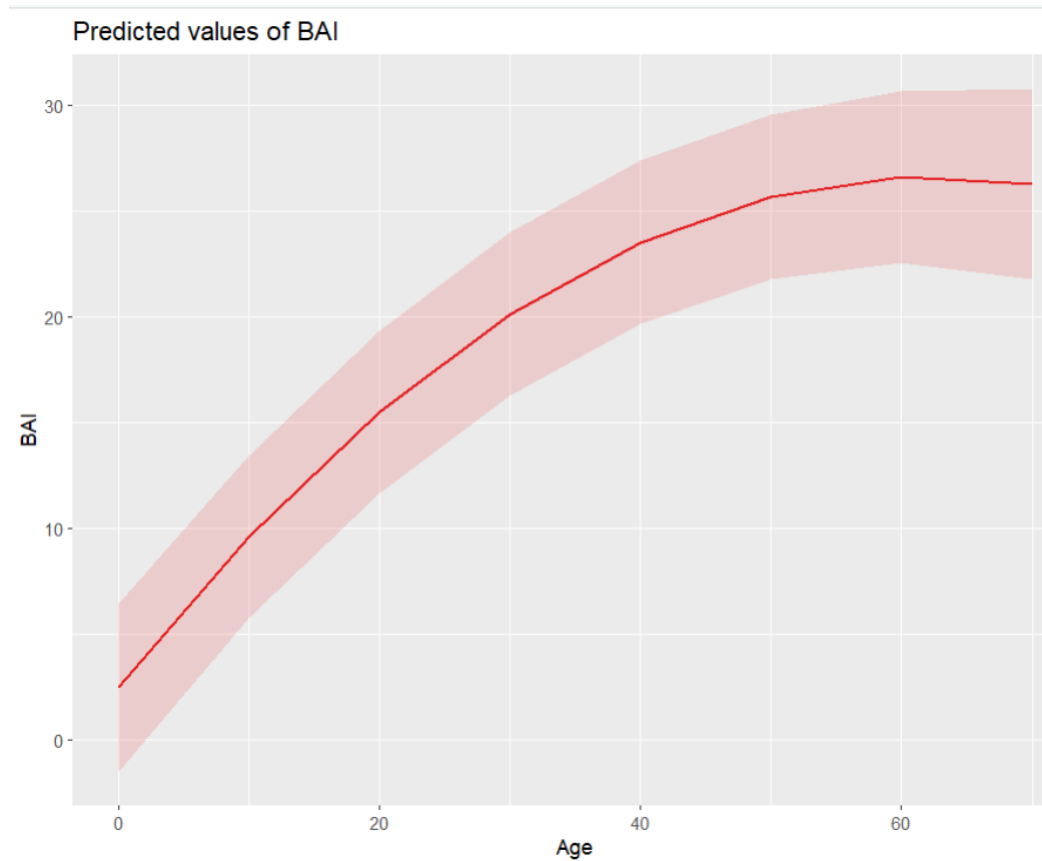
Quercus Rubra

```
{r}
library(lme4)
library(lmerTest)
library(ggplot2)
library(sjPlot)

mod_growth <- lmer(BAI ~ poly(Age, 2) + (1 | Site_tree_id), data = rubra)
plot_model(mod_growth, type = "pred", terms = c("Age"))

summary(mod_growth)
anova(mod_growth)
tab_model(mod_growth)
```

```
> anova(mod_growth)
Type III Analysis of Variance Table with Satterthwaite's method
              Sum Sq Mean Sq NumDF  DenDF F value    Pr(>F)
poly(Age, 2)  65535   32768      2 1367.4   492.47 < 2.2e-16 ***
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```



```
{r}

#age depending on latitude
library(lme4)
library(lmerTest)
library(ggplot2)
library(sjPlot)

mod_growth <- lmer(BAI ~ scale(Age) * latitude + (1 |
Site_tree_id), data = rubra)

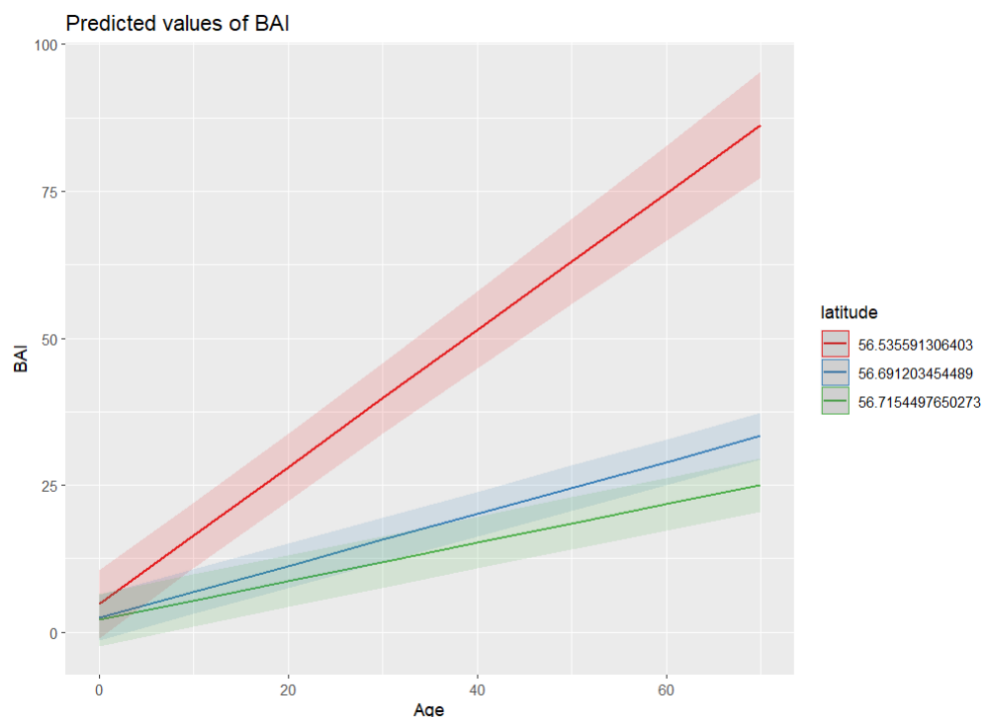
summary(mod_growth)
anova(mod_growth)
tab_model(mod_growth)

plot_model(mod_growth, type = "pred", terms = c("Age", "latitude"
))
```

Type III Analysis of Variance Table with Satterthwaite's method

	Sum Sq	Mean Sq	NumDF	DenDF	F value	Pr(>F)
scale(Age)	9397.9	9397.9	1	1367.93	150.096	< 2.2e-16 ***
latitude	2540.7	2540.7	1	30.51	40.578	4.619e-07 ***
scale(Age):latitude	9368.4	9368.4	1	1367.93	149.625	< 2.2e-16 ***

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
> tab_model(mod_growth)

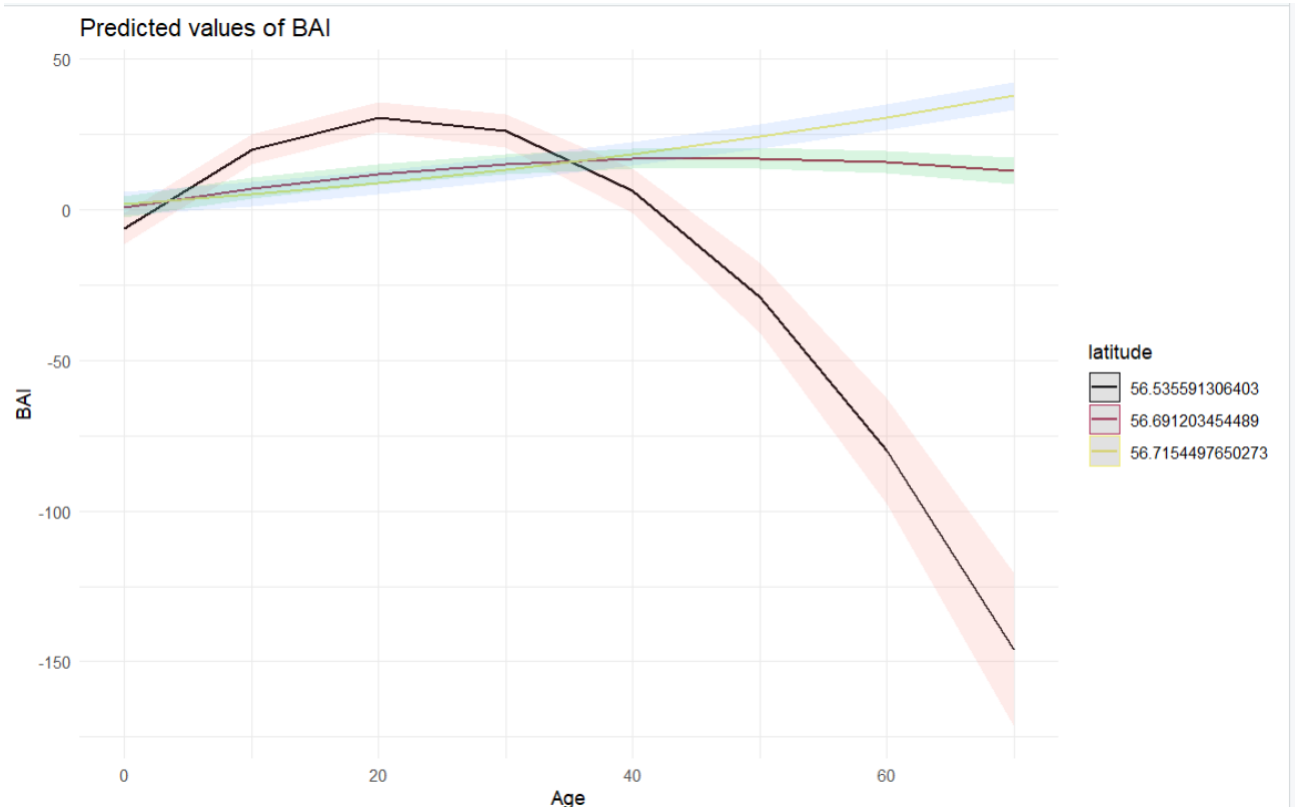


```
{r}
library(lme4)
library(lmerTest)
library(ggplot2)
library(sjPlot)

mod_growth <- lmer(BAI ~ poly(Age, 2)*latitude + (1 |
Site_tree_id), data = rubra)

summary(mod_growth)
anova(mod_growth)
tab_model(mod_growth) |

library(viridis)
plot_model(mod_growth, type = "pred", terms = c("Age",
"latitude")) +
  scale_color_viridis_d(option = "B", end = 0.95) +
  theme_minimal()
```



Putativ Hybrid

```
{r}
library(lme4)
library(lmerTest)
library(ggplot2)
library(sjPlot)

mod_growth <- lmer(BAI ~ poly(Age, 2) + (1 | Site_tree_id), data = putativ)
plot_model(mod_growth, type = "pred", terms = c("Age"))

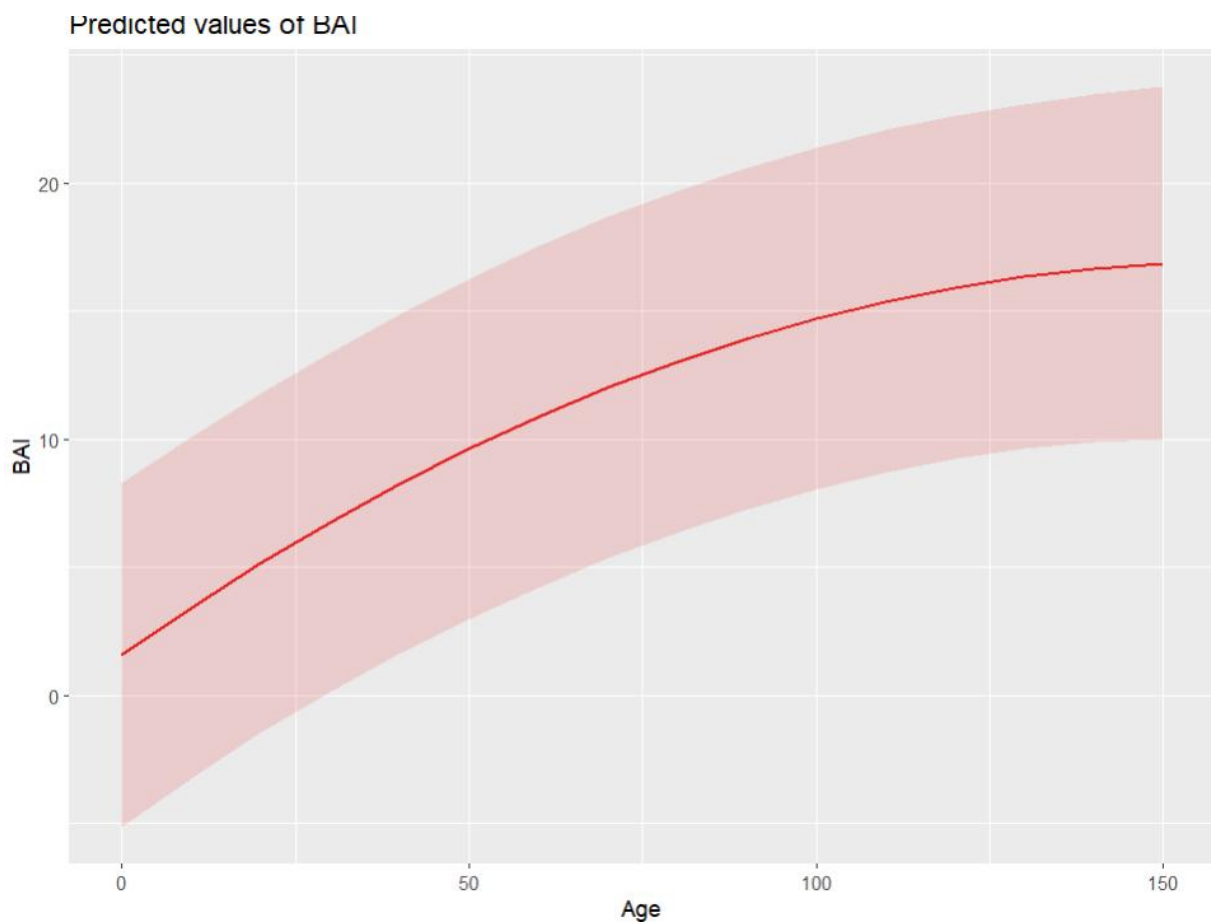
summary(mod_growth)
anova(mod_growth)
tab_model(mod_growth)
```

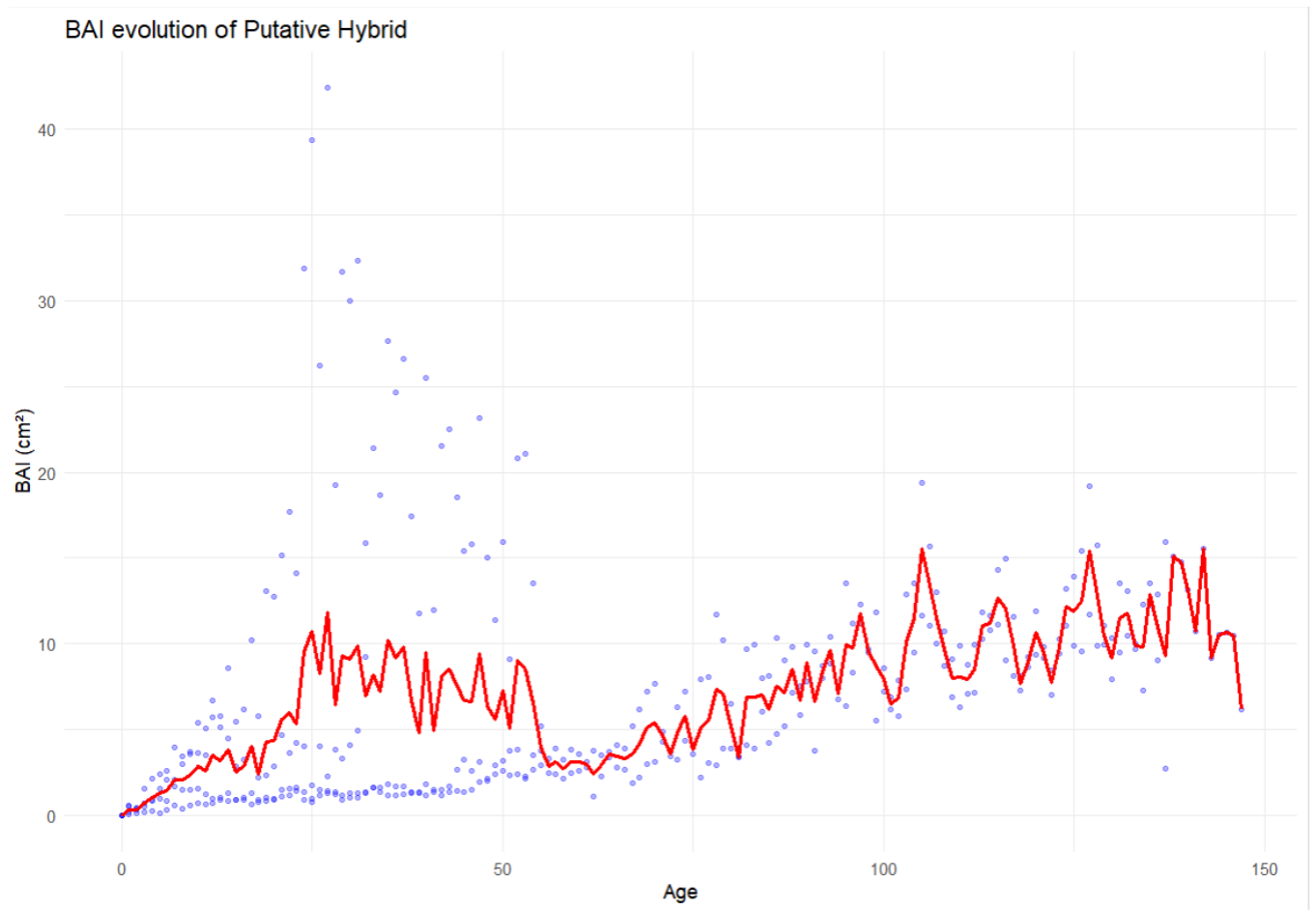
```
> anova(mod_growth)
```

Type III Analysis of Variance Table with Satterthwaite's method

	Sum Sq	Mean Sq	NumDF	DenDF	F value	Pr(>F)
poly(Age, 2)	6224.2	3112.1	2	369.92	140.02	< 2.2e-16 ***

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1







Judith LOOTEN
2024-2025

Conservation des forêts de chênes dans le sud de la Suède

Résumé : J'ai participé à un projet visant à évaluer les impacts du changement climatique sur les forêts de chênes du sud de la Suède. J'ai réalisé du travail de terrain afin de recueillir des données sur la biodiversité des insectes, préparé des échantillons pour une analyse par séquençage ADN et conduit des analyses sur la croissance des chênes

Abstract : I participated in a project to assess the impacts of climate change on oak forests in southern Sweden. I conducted fieldwork to collect data on insect biodiversity, prepared samples for DNA sequencing analysis, and conducted analyses on oak growth.

Mots Clés : forêts, biodiversité, insectes, ADN, dendrochronologie

Université de Linnaeus :
Campus Kalmar, Universitetsplatsen, 392 31 KALMAR

Tuteur entreprise :
Romana Salis
Post-doctorante

Tuteur académique :
Francis Isselin