



Étude fonctionnelle de la fonction de pollinisation entomophile en prairie permanente sous l'effet d'un gradient d'intensification agricole

Jérémie Goulnik

► To cite this version:

Jérémie Goulnik. Étude fonctionnelle de la fonction de pollinisation entomophile en prairie permanente sous l'effet d'un gradient d'intensification agricole. Agronomie. Université de Lorraine, 2019. Français. NNT : 2019LORR0297 . tel-02559535

HAL Id: tel-02559535

<https://hal.univ-lorraine.fr/tel-02559535>

Submitted on 30 Apr 2020

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

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



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

THÈSE

Présentée pour l'obtention du titre de

Docteur de l'Université de Lorraine

en sciences agronomiques

par

Jérémie GOULNIK

**Étude fonctionnelle de la fonction de pollinisation entomophile en
prairie permanente sous l'effet d'un gradient d'intensification agricole**

Thèse soutenue publiquement le 19/12/2019, devant un jury composé de :

Mme Anne-Laure Jacquemart , Professeur (UCLouvain)	Rapporteuse
M. Pascal Carrere , Ingénieur de recherche (INRA)	Rapporteur
M. François Massol , Chargé de recherche (CNRS)	Examineur
Mme Emmanuelle Porcher , Professeur (MNHN)	Examinatrice
M. Thomas Lecocq , Maître de conférences (Université de Lorraine)	Invité
Mme Servane Lemauiel-Lavenant , Maître de conférences (Université de Caen)	Invitée
M. Sylvain Plantureux , Professeur (Université de Lorraine)	Directeur de thèse
Mme Alice Michelot-Antalik , Maître de conférences (Université de Lorraine)	Co-directrice de thèse

THÈSE

Présentée pour l'obtention du titre de

Docteur de l'Université de Lorraine

en sciences agronomiques

par

Jérémie GOULNIK

**Étude fonctionnelle de la fonction de pollinisation entomophile en
prairie permanente sous l'effet d'un gradient d'intensification agricole**

Thèse soutenue publiquement le 19/12/2019, devant un jury composé de :

Mme Anne-Laure Jacquemart , Professeur (UCLouvain)	Rapporteuse
M. Pascal Carrere , Ingénieur de recherche (INRA)	Rapporteur
M. François Massol , Chargé de recherche (CNRS)	Examineur
Mme Emmanuelle Porcher , Professeur (MNHN)	Examinatrice
M. Thomas Lecocq , Maître de conférences (Université de Lorraine)	Invité
Mme Servane Lemauiel-Lavenant , Maître de conférences (Université de Caen)	Invitée
M. Sylvain Plantureux , Professeur (Université de Lorraine)	Directeur de thèse
Mme Alice Michelot-Antalik , Maître de conférences (Université de Lorraine)	Co-directrice de thèse

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier mes encadrants qui m'ont permis de réaliser cette thèse : Alice Michelot-Antalik pour son écoute et son accompagnement au quotidien, Sylvain Plantureux pour son regard plus général sur mon travail. Cette combinaison aura été gagnante et j'ai pris beaucoup de plaisir à travailler avec vous pendant ces trois années.

Je souhaiterais également remercier les membres du jury qui ont accepté d'évaluer ce travail : Anne-Laure Jacquemart, Pascal Carrere, François Massol, Emmanuelle Porcher, Thomas Lecocq, Servane Lemauiel-Lavenant.

Un travail de thèse se faisant dans le cadre d'un laboratoire, je remercie également tous les membres du LAE pour leur accueil.

Je tiens également à remercier toutes les personnes qui m'ont aidé à acquérir les données utilisées au cours de cette thèse. Pour commencer, je remercie sincèrement tous les étudiants stagiaires qui ont sacrifié de leur personne pour la beauté de la science. Sans vous, ce travail aurait été impossible. Par ordre chronologique : Marie-Claire, Lucie, Catherine, Juliette, Clara, Alexis, Clémence, Julien, Emilie et Rémi. Je tiens également à remercier Claude, Jodie et Aude pour leur aide qui fut également précieuse. Je remercie Ophélie qui, malgré une thématique de recherche assez éloignée (mais les ptéropodes ne sont-ils pas des papillons de mer?), m'aura accompagné tant de fois sur le terrain. Je remercie également les experts taxonomistes qui ont identifié les insectes collectés au cours de cette thèse : Anne Vallet, Phil Whitters, Colin van Reeth, David Genoud, André Claude, Jodie Thénard et Christophe Hanot.

Je souhaiterais également exprimer ma gratitude envers les différents collaborateurs scientifiques qui m'ont permis d'aller plus loin dans mon travail et ma réflexion, et qui ont tous apporté leur touche à ce projet de thèse : Mathilde Baude, Isabelle Dajoz, Maud Delattre, Marc Théry, et enfin Colin van Reeth avec qui les discussions de ma première année de thèse auront été essentielles dans la suite de son déroulé. Par la même occasion, je remercie les membres de mon comité de suivi de thèse dont le regard critique mais bienveillant aura été fort constructif : Emmanuelle Porcher, Philippe Jeanneret et Mickaël Henry.

Je remercie également toutes les personnes qui ont contribué à un moment ou à un autre à ce

travail : Jean Villerd, Christian Bockstaller, Anne Farrugia, Frédérique Louault pour le développement de l'indice d'intensité agricole, Sakina-Dorothee Ayata pour son aide sur les traits fonctionnels, le personnel du Parc Naturel Régional de Lorraine et du CEN de Lorraine, et évidemment les agriculteurs exploitant les prairies que nous avons suivies, et sans lesquels ce travail n'aurait pas été possible.

Je remercie également les financeurs de ma thèse : le pôle A2F, le GDR Pollineco, la région Grand-Est, l'INRA, ainsi que le ministère de la recherche et de l'enseignement supérieur.

Ces trois années auront également été celles de belles rencontres, alors un grand merci à mes potes thésards/post-doc : Caroline, Colin, Gianni, Marianna, Ryosuke et Yuka, ainsi qu'Abdelhak !

Il est désormais temps de remercier ma famille. Pour commencer, je tiens à remercier Roland et Catherine qui en m'accueillant chez eux en Normandie m'ont fait remettre littéralement les pieds sur terre. Les prairies, les pollinisateurs, cette thématique c'est aussi vous qui l'avez fait naître en moi.

Je souhaite également dire un grand merci à mes grands-parents qui nous ont tant apporté, c'est avec le recul du temps que l'on se rend compte de la chance que l'on a eu. À ma sœur et à mon frère, je dis également merci pour leur soutien. Je voudrais aussi remercier mes parents de m'avoir soutenu tout au long de ces longues années d'études, ainsi que de m'avoir donné la chance d'être sur cette Terre. Ce mélange de contemplation et de rationalisme qui me caractérise est avant tout le produit de vos personnalités respectives.

Enfin, à toi Ophélie, c'est plus qu'un merci qu'il faudrait écrire, car au-delà d'un merci pour toute l'aide que tu m'as apportée, il y a l'infini remerciement d'être celle que tu es.

« Le progrès de la pensée consiste souvent à transformer l'évidence en problématique »

Stéphane Schmitt

Sommaire

CHAPITRE 1 : Introduction.....	1
1. Généralités et enjeux.....	1
2. Facteurs influençant la biodiversité végétale des prairies permanentes.....	7
2.1. Mécanismes de l'assemblage des communautés végétales en prairies permanentes.....	7
2.2. Les prairies permanentes, des milieux gérés par l'Homme.....	9
3. De l'importance des interactions plante-pollinisateurs au sein des prairies permanentes.....	13
3.1. La fonction de pollinisation : définition et mesures.....	13
3.2. Les traits d'interaction plantes-pollinisateurs.....	15
4. Impacts de l'intensification agricole sur les traits d'interaction plantes-pollinisateurs.....	16
4.1. Signaux.....	17
4.1.1. Couleur florale.....	17
4.1.2. Odeurs florales.....	17
4.2. Barrières à l'exploitation : profondeur du tube à nectar.....	18
4.3. Récompenses.....	21
4.3.1. Productivité en nectar.....	21
4.3.2. Production de pollen.....	22
4.3.3. Qualité du pollen.....	24
5. Conséquences sur la fonction de pollinisation.....	25
5.1. Conséquences sur la fréquence des interactions plantes-pollinisateurs.....	25
5.1.1. Diminution de l'attractivité pour les pollinisateurs.....	25
5.1.2. Diminution de la complémentarité fonctionnelle.....	27
5.2. Conséquences sur la stabilité de la fonction de pollinisation.....	31
5.3. Conséquences sur l'efficacité par interaction.....	33
6. Facteurs pouvant limiter les relations proposées.....	36
7. Contexte et objectifs de la thèse.....	37
CHAPITRE 2 : La diversité fonctionnelle des traits floraux est liée aux caractéristiques du sol et influence positivement la fonction de pollinisation dans un ensemble de prairies permanentes....	49
Résumé du chapitre 2.....	49
Abstract.....	53
1. Introduction.....	54
2. Material and Methods.....	56
2.1. Study sites.....	56
2.2. Land-use intensity index.....	56
2.3. Soil characteristics.....	57
2.4. Pollinator sampling.....	57
2.5. Floral traits.....	58
2.5.1. Cues and signals.....	58
2.5.2. Exploitation barrier.....	58
2.5.3. Rewards.....	59

2.6. Floral trait indices.....	60
2.6.1. Floral trait community-structure indices.....	60
2.6.2. Null models.....	61
2.7. Statistical modelling.....	62
3. Results.....	63
3.1. General description of plant and pollinator communities.....	63
3.2. Influences of land-use intensification and soil characteristics on floral trait FD and CWM	65
3.3. Influences of floral trait FD, CWM and flower cover on pollination function.....	68
4. Discussion.....	70
4.1. Influences of local environmental variables on floral trait FD and CWMs.....	70
4.2. Influences of floral trait FD and CWMs on the pollination function.....	72
4.3. Relations between total flower cover and the pollination function.....	73
5. Conclusion.....	74
Acknowledgements.....	75
Authors' contributions.....	75

CHAPITRE 3 : La masse des pollinisateurs et leur diversité taxonomique sont positivement influencées par la production de sucre par le nectar.....77

Résumé du chapitre 3.....	77
Abstract.....	79
1. Introduction.....	80
2. Materials and methods.....	82
2.1. Study sites.....	82
2.2. Pollinator sampling.....	83
2.3. Floral traits.....	83
2.4. Pollinator dry body mass.....	84
2.5. Composition, functional diversity and network indices.....	84
2.5.1. Species trait matching.....	84
2.5.2. Functional diversity indices.....	85
2.5.3. Null models.....	86
2.5.4. CWM and total biomass.....	86
2.5.5. Network index: modularity.....	87
2.6. Statistical modelling.....	87
2.6.1. Modelling of trait matching at the pollinator species level.....	88
2.6.2. Modelling of FD and CWM relations.....	88
2.6.3. Modelling of pollinator taxonomic richness.....	88
2.6.4. Modelling of network modularity.....	89
3. Results.....	89
3.1. General description of pollinators.....	89
3.2. Relation between floral traits and dry body mass at the species level.....	90
3.3. Functional diversity and CWM of pollinators.....	93
3.4. Pollinator taxonomic richness.....	95

3.5. Network modularity.....	95
4. Discussion.....	96
4.1. Trait matching at the pollinator species level.....	96
4.2. Functional diversity, CWM of pollinators and pollinator taxonomic richness.....	97
4.3. Modularity.....	98
5. Conclusion.....	99
Acknowledgements.....	99
Authors' contributions.....	100
CHAPITRE 4 : La surface et la pilosité de la face des pollinisateurs influencent positivement la quantité de pollen présente sur cette zone corporelle.....	101
Résumé du chapitre 4.....	101
Abstract.....	103
1. Introduction.....	104
2. Material and Methods.....	106
2.1. Study sites.....	106
2.2. Pollinator sampling and preparation.....	107
2.3. Pollinator face hairiness and surface.....	107
2.4. Pollen load of pollinator face.....	109
2.5. Pollen production per floral unit.....	109
2.6. Statistical analysis.....	110
2.6.1. Relations between face surface of pollinators and their dry body mass.....	110
2.6.2. Differences between Diptera and bees for face surface, hairiness and pollen load.....	110
2.6.3. Effects of pollinator hairiness and surface of the face on total face pollen load.....	111
2.6.4. Relations with pollen production per floral unit.....	112
2.6.5. Model selection and validation.....	113
3. Results.....	114
3.1. Relations between face surface of pollinators and their dry body mass.....	114
3.2. Differences between Diptera and bees for face surface, hairiness and pollen load.....	114
3.3. Effects of pollinator surface and hairiness of the face on total face pollen load.....	117
3.4. Relations with pollen production per floral unit.....	118
4. Discussion.....	118
5. Conclusion.....	122
Acknowledgments.....	122
Contributions of authors.....	122
CHAPITRE 5 : Discussion générale.....	125
1. Discussion des matériels et des méthodes.....	126
1.1. Choix des parcelles.....	126
1.2. Estimation des recouvrements par espèce de plantes en fleurs.....	127
1.3. Échantillonnage des pollinisateurs.....	127
1.4. Traits d'interaction mesurés.....	127
1.5. Traits d'effet mesurés et pollen transporté.....	128
2. Discussion des résultats.....	130

2.1. Des facteurs locaux aux traits floraux.....	130
2.2. Des traits floraux à la fréquence des interactions.....	131
2.3. De la diversité des plantes à la diversité des pollinisateurs.....	132
2.4. Traits d'effet des pollinisateurs.....	134
CHAPITRE 6 : Perspectives générales.....	137
1. Perspectives scientifiques.....	137
2. Perspectives méthodologiques.....	143
2.1. Effort d'échantillonnage des interactions plantes-pollinisateurs.....	143
2.1.1. Échantillonnage des plantes en fleurs.....	144
2.1.2. Échantillonnage des pollinisateurs :de l'approche fleur-robot à la bio-acoustique...144	
2.2. Quantification des traits des pollinisateurs : plateforme de phénotypage.....	146
CONCLUSION GÉNÉRALE.....	147
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	149
ANNEXES.....	171
Annexe A. Grassland description.....	173
Annexe B. Land-use intensity index.....	174
Annexe C. Principal component analysis of soil variables.....	177
Annexe D. Floral reflectance.....	178
Annexe E. Relation between CWM of floral traits and local environment variables.....	180
Annexe F. Validation of model quality using simulations.....	182
Annexe G. Heteroscedasticity of linear mixed models.....	184
Annexe H. Competition-Stress-Ruderal classification as a function of phosphorus content in the soil.....	185
Annexe I: Plots of bipartite networks by sampling session.....	186
Annexe J: List of pollinator species for which body mass has been measured.....	193
Annexe K: List of pollinator species for which for face pollen load, hairiness and surface have been measured.....	198

Liste des figures

CHAPITRE 1 : Introduction.....	1
Figure 1 : Schéma général de l'introduction de la thèse.....	6
Figure 2 : Représentation des trois filtres opérant sur l'assemblage des communautés de plantes prairiales le long d'un gradient environnemental à partir d'un pool d'espèce régional.....	9
Figure 3 : Principales composantes de l'intensification agricole en prairie permanente (à l'échelle Paléarctique) en termes d'effets sur l'assemblage des communautés végétales.....	10
Figure 4 : Prédiction du Dynamic Equilibrium Model (DEM).....	11
Figure 5 : Relations entre fréquence des interactions plantes-pollinisateurs et A) nombre d'espèces de plantes en fleur et B) pourcentage de recouvrement total de plantes en fleurs.....	15
Figure 6 : Relation entre le logarithme en base 10 du taux d'extraction de sucre contenu dans le nectar et le degré de non-interaction entre la longueur de langue des pollinisateurs et la profondeur des tubes à nectar (mm)....	20
Figure 7 : Masse des insectes pollinisateurs au sein d'une partie des prairies du BEP.....	22
Figure 8 : A) Comparaison de l'aire florale (m ²) des plantes en fleurs selon le niveau d'intensité agricole et B) comparaison du nombre d'individus capturés de différents groupes d'insectes.....	23
Figure 9 : Effets en cascade présumés de l'intensification agricole sur la fonction de pollinisation.....	26
Figure 10 : Simulation de la vue d'un ensemble de fleurs (cercles jaunes et violets) par une <i>Apis mellifera</i>	27
Figure 11 : Schéma de différentes composantes de la diversité fonctionnelle.....	29
Figure 12 : Exemples de mesures de pilosité obtenues avec la méthodologie utilisée par Stavert et al. (2016).....	34
Figure 13 : Diversité et composition des pollinisateurs en fonction de l'intensité agricole.....	35
Figure 14 : Synthèse des axes de la thèse et des matériels et des méthodes utilisés au cours des différents chapitres. Les blocs oranges sont ceux se rapportant directement à la fonction de pollinisation.....	44
Figure 15 : Carte de la localisation des 16 parcelles suivies au cours de cette thèse.....	45
Figure 16: Analyse factorielle des correspondances sur les données d'abondance des communautés de plantes en fleur détectées lors de l'estimation du recouvrement fleuri des espèces de chaque communauté.....	46
CHAPITRE 2 : La diversité fonctionnelle des traits floraux est liée aux caractéristiques du sol et influence positivement la fonction de pollinisation dans un ensemble de prairies permanentes....	49
Figure 1: Abundance of the four main pollinator orders sampled in communities, by sampling session.....	64
Figure 2: Predicted fit of linear mixed-effects models of the relation between floral trait functional diversity (FD) and local environment variables (soil characteristics and land-use intensification index).....	66
Figure 3: Predicted fit of general linear mixed-effects models of the relation between interaction frequencies and A) FD _{total} , B) FD _{sugar} , C) Total flower cover and D) Flowering plant species richness.....	68
CHAPITRE 3 : La masse des pollinisateurs et leur diversité taxonomique sont positivement influencées par la production de sucre par le nectar.....	77
Figure 1: Number of families and species of the four main order of pollinators sampled.....	90
Figure 2: Linear regression models with mean dry body mass as dependent variable.....	92
Figure 3: linear mixed-effects models with CWM of pollinator dry body mass as dependent variable.....	93
Figure 4: General linear mixed-effects models with pollinator taxonomic richness as dependent variable.....	95
Figure 5: Linear mixed-effects models with plant-pollinator interaction network modularity as dependent variable.	96
CHAPITRE 4 : La surface et la pilosité de la face des pollinisateurs influencent positivement la quantité de pollen présente sur cette zone corporelle.....	101
Figure 1: Linear mixed effects model predicted fit of the relationship between pollinator face surface (pxl) and pollinator dry mass (mg).....	116
Figure 2: Probability density plots of the pollinator face surface, hairiness and pollen load.....	116
Figure 3: General linear mixed effects model predicted fit of the relation between total face pollen load and A) pollinator face surface (pxl) B) and pollinator face hairiness.....	117

Figure 4: General linear mixed effects models predicted fit of the relation between total face pollen load and A) Diptera face surface (pxl) B) and Bees face area (pxl).....	118
CHAPITRE 5 : Discussion générale.....	125
Figure 1 : Schéma général des résultats de cette thèse.....	125
CHAPITRE 6 : Perspectives générales.....	137
CONCLUSION GÉNÉRALE.....	147
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	149
ANNEXES.....	171

Liste des tables

CHAPITRE 1 : Introduction.....	1
Tableau 1 : Récapitulatif des effets connus et théoriques de l'intensification agricole sur les traits d'interactions plantes-pollinisateurs.....	28
CHAPITRE 2 : La diversité fonctionnelle des traits floraux est liée aux caractéristiques du sol et influence positivement la fonction de pollinisation dans un ensemble de prairies permanentes....	49
Table 1: Results of linear mixed-effects models with floral trait indices explained by environmental variables.....	67
Table 2: Results of generalised linear mixed-effects models, with interaction frequency explained by total floral trait functional diversity (FD) (<i>FDtotal</i>), total flower cover, flowering plant species richness and FD of sugar production per floral unit (<i>FDsugar</i>).....	69
CHAPITRE 3 : La masse des pollinisateurs et leur diversité taxonomique sont positivement influencées par la production de sucre par le nectar.....	77
Table 1: Results of linear mixed models (CWM mass and Modularity as dependent variables) and generalised mixed model (pollinator taxonomic richness as dependent variable).....	94
CHAPITRE 4 : La surface et la pilosité de la face des pollinisateurs influencent positivement la quantité de pollen présente sur cette zone corporelle.....	101
Table 1: Results from the main linear mixed models (LMM) and generalised linear mixed models (GLMM).....	115
CHAPITRE 5 : Discussion générale.....	125
CHAPITRE 6 : Perspectives générales.....	137
CONCLUSION GÉNÉRALE.....	147
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	149
ANNEXES.....	171

Liste des sigles et des abréviations

COV : Composé organique volatil

CWM : Community Weighted Mean

DEM : Dynamic Equilibrium Model

EFESE : Evaluation Française des Ecosystèmes et des Services Ecosystémiques

FD : Functional Diversity

FDiv : Functional Divergence

FDis : Functional Dispersion

FDQ : Functional entropy

FEve : Functional Evenness

FRic : Functional Richness

FU : Floral Unit

GLM : Generalised Linear Model

GLMM : Generalised Linear Mixed Model

IDH : Intermediate Disturbance Hypothesis

IPH : Intermediate Productivity Hypothesis

LMM : Linear Mixed Model

LUI : Land-Use intensity Index

SAU : Surface Agricole Utile

SVD : Single Visit Deposition

SES.FD : Standardised Effect Size of Functional Diversity

UGB : Unité de Gros Bétail

UN : Unité d'Azote

CHAPITRE 1 : Introduction

1. Généralités et enjeux

Enrayer le déclin de la biodiversité, lié notamment aux activités humaines, et son impact sur le fonctionnement des écosystèmes sont des enjeux majeurs du XXI^e siècle (Díaz et al., 2006; Hooper et al., 2012). En Europe, le déclin de la biodiversité est notamment dû à la destruction ou à la modification des habitats semi-naturels. En parallèle de la diminution de surface des habitats semi-naturels, le déclin des insectes et des pollinisateurs en termes de biomasse comme de diversité a été constaté depuis plusieurs années, et semble être une réalité à toutes les échelles spatiales (globale, régionale et locale ; Ollerton, 2017). La perte d'habitats, de sites de nidification et de ressources alimentaires ; l'introduction d'espèces invasives et la transmission de nouveaux pathogènes ; les changements climatiques ; ainsi que l'utilisation de pesticides pourraient fortement expliquer ce déclin (Goulson, 2019; Hallmann et al., 2017; Ollerton, 2017; Potts et al., 2010; Roulston and Goodell, 2011). Cependant, la diminution des pollinisateurs a été essentiellement étudiée pour quelques groupes taxonomiques. En particulier, elle a été observée chez les abeilles (Goulson, 2019), alors que d'autres groupes taxonomiques de pollinisateurs comme les Diptères pourraient y être moins sensibles (ex : Kühnel and Blüthgen, 2015 pour l'intensification agricole).

L'agriculture intensive, fondée notamment sur l'utilisation de grandes quantités d'intrants (pesticides, fertilisants), l'irrigation et le développement de la mécanisation agricole, a permis une augmentation importante des rendements agricoles au cours de la seconde moitié du XX^e siècle. Cependant, les inquiétudes environnementales que l'agriculture intensive suscite et son rôle dans le déclin de la biodiversité se sont traduits par une volonté sociétale forte pour un changement de paradigme autour de l'agriculture (Pretty, 2008). En outre, de nombreux débats au sein de la société civile comme de la communauté scientifique remettent en question l'usage des pesticides. Ainsi, l'intérêt de l'agriculture biologique pour la préservation de la faune pollinisatrice est régulièrement mis en avant par la société civile (ex : mouvement Nous voulons des Coquelicots). Cet intérêt est conforté scientifiquement avec par exemple un effet positif de l'agriculture biologique à l'échelle locale pour le développement des ouvrières chez *Apis mellifera* (Wintermantel et al., 2019), bien que les bénéfices de cette agriculture sur l'ensemble des taxons (i.e. plantes, invertébrés, oiseaux, Chiroptères) soient plus nuancés (Fuller et al., 2005). Outre

l'utilisation de pesticides, il existe actuellement une volonté sociétale forte pour réduire l'impact de l'Homme sur l'environnement de manière générale, et sur le climat en particulier. Ainsi, l'élevage est régulièrement mis en exergue comme une importante source de gaz à effet de serre au travers notamment des rejets de méthane par les bovins (IPCC, 2019).

Dans cette optique, scientifiques et pouvoirs publics soutiennent la nécessité d'une transition vers une approche agroécologique de l'agriculture. L'agroécologie vise à étudier, développer et gérer des agroécosystèmes sur la base de principes écologiques (Wezel et al., 2014). Ces agrosystèmes ont pour objectifs d'être à la fois durables via une économie en ressources naturelles, tout en étant productifs. Ils visent également à être justes socialement et viables économiquement. Ainsi, l'agroécologie a comme objectif d'être respectueuse de l'environnement, notamment en limitant les intrants et en s'appuyant sur la connaissance des processus et fonctions écologiques (Schneider, 2015).

Les prairies permanentes, qui représentent 28 % de la surface agricole utile (SAU) au sein de l'Union Européenne en 2013 (Eurostat, 2007), sont au cœur de ces enjeux. Les prairies permanentes sont des terres utilisées pour la croissance de plantes herbacées destinées au fourrage et poussant naturellement ou par semis et qui n'ont pas été complètement renouvelées après destruction (ex : labour, herbicide) depuis au moins dix ans (Huyghe et al., 2014). Elles occupent une place centrale dans les habitats semi-naturels en Europe, et sont menacées à la fois par leur retournement, mais également par l'intensification agricole et leur enrichissement (Dengler et al., 2014). En France et en Europe, les prairies permanentes sont pour la plupart issues de la déforestation, commencée depuis le Néolithique, des forêts datant de l'Holocène à des fins de culture ou de pastoralisme (Dengler et al., 2014). Il s'agit de milieux essentiels pour l'alimentation du bétail mais non ou peu concernés par l'utilisation de pesticides, tout en fournissant de nombreux services écosystémiques incluant la séquestration du carbone dans les sols, la régulation de la qualité de l'eau, la pollinisation des espèces cultivées à pollinisation entomophile, ou encore le potentiel récréatif des milieux naturels. Enfin, les prairies permanentes ont une place centrale pour la préservation de la biodiversité. En effet, elles peuvent abriter un grand nombre d'espèces tant animales que végétales (Huyghe et al., 2014). Ainsi, la moitié de la flore Européenne est inféodée aux habitats prairiaux (Veen et al., 2009), et le maximum de diversité taxonomique de plantes au m² répertorié à l'échelle du globe est atteint au sein des prairies permanentes en milieu tempéré (89 espèces/m² ; Wilson et al., 2012). Cependant, afin de développer une agriculture

durable, il est nécessaire d'intégrer les fonctions écologiques dans la production des biens agricoles (Pretty, 2008), et ces fonctions au sein des prairies permanentes ne sont que partiellement connues.

En effet, dans un contexte d'intégration des processus écologiques, une hypothèse souvent mise en avant est la relation positive entre biodiversité (taxonomique, fonctionnelle ou phylogénique) et fonctionnement des écosystèmes (Díaz et al., 2006). Cependant, ces relations ne font pas encore consensus dans la littérature. Dans le cas des prairies permanentes, la fonction de productivité (vitesse à laquelle se forme par unité de temps, une quantité donnée de matière organique) est certainement l'une des mieux étudiée. Les connaissances relatives à la productivité reposent sur des années de publications portant sur l'assemblage des communautés de plantes prairiales et à ses conséquences sur cette fonction écologique (ex : Grime, 1998; Huston, 2014; Lavorel and Garnier, 2002; Tilman et al., 2006). Cependant, certains résultats montrent une augmentation de la productivité avec la biodiversité taxonomique et fonctionnelle (ex : Hector, 1999) , alors qu'en Europe, les prairies les plus productives sont généralement les moins diverses (Chalmandrier et al., 2017). La relation entre la biodiversité des plantes et des pollinisateurs et la fonction de pollinisation dans les prairies permanentes est quant à elle beaucoup moins étudiée, malgré le rôle probable de la fonction de pollinisation dans l'assemblage des communautés végétales. Ainsi, Lundgren et al. (2016) ont montré que l'exclusion de pollinisateurs avait un effet sur la richesse et l'abondance de plantes prairiales, bien qu'à notre connaissance il s'agisse de la seule étude de ce type. Cependant, dans un objectif d'agriculture durable, s'il existe une relation positive entre biodiversité et fonction de pollinisation, cette dernière serait intéressante à maximiser dans les systèmes agricoles car elle permettrait de maximiser le fonctionnement de l'écosystème tout en participant à la conservation de la biodiversité, tant des plantes que des pollinisateurs. De plus, au-delà des seules prairies, maximiser la biodiversité des pollinisateurs au sein de ces milieux pourrait permettre de garantir des sources de pollinisateurs pour les milieux adjacents telles que les grandes cultures à pollinisation entomophile ou les vergers (Shackelford et al., 2013), comme les vergers de mirabelliers en Lorraine.

L'étude des relations entre biodiversité et fonction de pollinisation nécessite de prendre en compte les facteurs affectant la biodiversité des plantes d'une part et la biodiversité des pollinisateurs d'autre part, les deux étant intimement liés par leurs interactions. Ces interactions reposent notamment sur le niveau de correspondance entre les caractéristiques des plantes et des

pollinisateurs. Ces caractéristiques, ou traits d'interactions, sont des traits fonctionnels (i.e. caractéristiques morphologiques, physiologiques ou phénologiques, mesurées à l'échelle des individus et qui impactent indirectement leur valeur sélective de par leurs effets sur leur croissance, leur reproduction ou leur survie; Violle et al., 2007) régissant les relations entre deux niveaux trophiques (Le Provost et al., 2017). Ici nous étudierons les traits d'interaction des plantes et des pollinisateurs, qui seront nommés respectivement traits floraux et traits d'interaction des pollinisateurs par la suite. Ainsi, au-delà des réponses à l'environnement physique (i.e. pertes d'habitats, disparition des ressources, pesticides...), les pollinisateurs pourraient être affectés par le changement des espèces florales en prairie avec l'intensification de la gestion des prairies. En effet, l'intensification de la gestion des prairies pourrait modifier de manière importante les valeurs des traits floraux à l'échelle des communautés ainsi que leur biodiversité fonctionnelle (ex : Binkenstein et al., 2013). Il pourrait en résulter une filtration des pollinisateurs sur cette base car les pollinisateurs ayant les valeurs de traits d'interaction correspondant seraient sélectionnés. En outre, une diminution de la biodiversité tant des plantes que des pollinisateurs pourrait engendrer une diminution de la complémentarité entre plantes et entre pollinisateurs avec comme conséquence une diminution de la fonction de pollinisation.

La modification de la composition des communautés de pollinisateurs pourrait impacter leur efficacité de pollinisation. Ces différences en termes d'efficacité ont été rattachées notamment à la taxonomie, les abeilles étant considérées comme les pollinisateurs les plus efficaces (ex : Ballantyne et al., 2017). Cependant, les données restent lacunaires concernant l'efficacité des autres taxons de pollinisateurs dont l'intérêt pour la pollinisation est pourtant reconnu (ex : Diptères ; Inouye et al., 2015). Une approche par les traits fonctionnels permettrait de dépasser la seule approche taxonomique, notamment en employant le concept de trait d'effet qui détermine l'effet d'un individu sur une fonction écosystémique (Lavorel and Garnier, 2002). Cependant, les traits d'effet de la pollinisation sont encore mal établis dans la littérature (Bartomeus et al., 2018; Staver et al., 2016). De manière plus générale, très peu d'études permettent de valider les différents liens proposés au cours de ces deux derniers paragraphes.

Les objectifs de cette introduction sont multiples et sont résumés dans la **figure 1**. En premier lieu, il s'agira de fournir les éléments de base sur les facteurs régissant l'assemblage des communautés de plantes prairiales, et plus spécifiquement ceux régissant leur composition et leur biodiversité. En particulier, nous nous focaliserons sur les effets attribuables à l'intensification agricole locale en

prairie (**partie 2**). Dans un second temps, nous présenterons le fonctionnement des interactions plantes-pollinisateurs (**partie 3**) et nous proposerons une synthèse bibliographique des liens évoqués au précédent paragraphe et relatifs aux effets en cascade de l'intensification agricole jusqu'à la fonction de pollinisation en prairie permanente. Pour cela, nous aborderons les effets de l'intensification agricole sur les traits floraux des plantes puis sur les traits des pollinisateurs (**partie 4**), et présenterons les conséquences probables de ces effets en cascade sur la fonction de pollinisation au sein des prairies permanentes (**partie 5**). Cependant, nous soulignerons ensuite que certains processus pouvant contrebalancer les mécanismes que nous proposons (**partie 6**). Enfin, nous présenterons les questions et hypothèses scientifiques qui seront traitées au cours de cette thèse (**partie 7**). Les **parties 6 et 7** ne sont pas présentées sur la **figure 1**. Cette introduction, tout comme cette thèse en général, ne traitera pas des conséquences de la fonction de pollinisation sur l'assemblage des communautés végétales, notre démarche étant volontairement de type « top-down ».

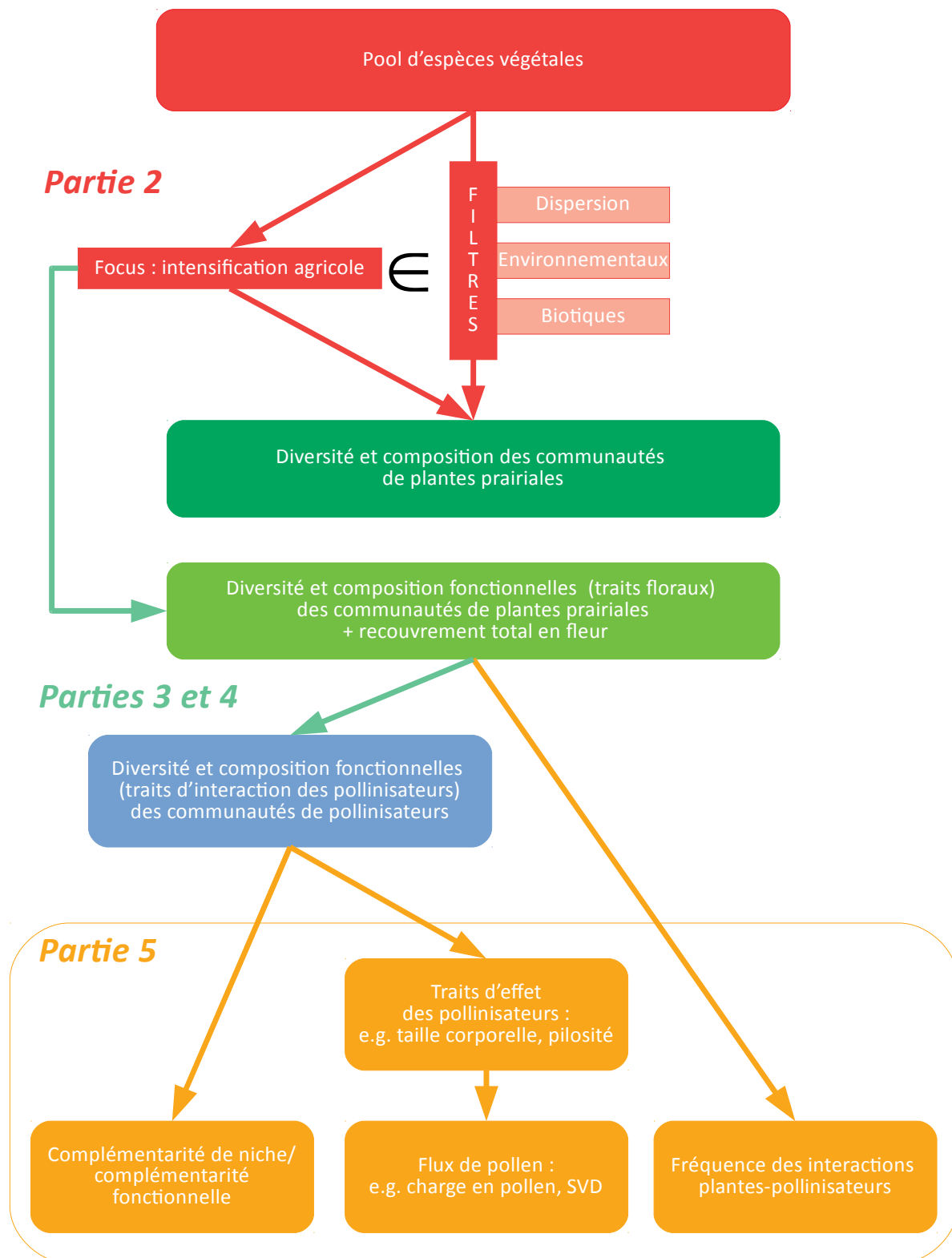


Figure 1 : Schéma général de l'introduction de la thèse.

Le symbole ∈ signifie « appartient à ». Les différentes parties de l'introduction sont représentées par des flèches appartenant à un code couleur. **Rouge (partie 2)** : filtres régissant l'assemblage des communautés de plantes prairiales, et plus spécifiquement ceux régissant leur composition et leur biodiversité, avec un focus sur les effets attribuables à l'intensification agricole locale en prairie ; **Vert clair (parties 3 et 4)** : effets de l'intensification agricole sur les caractéristiques florales des plantes puis sur les caractéristiques des pollinisateurs ; **Orange (partie 5)** : conséquences probables de ces effets en cascade sur la fonction de pollinisation au sein des prairies permanentes.

2. Facteurs influençant la biodiversité végétale des prairies permanentes

Les plantes herbacées occupent le premier niveau trophique des prairies. A l'échelle locale (i.e. de la prairie elle-même), la composition des communautés de plantes prairiales ainsi que leur diversité sont régies par différents processus d'assemblage des communautés que l'on peut découper artificiellement suivant un ordre séquentiel (Kraft et al., 2015). Une approche fonctionnelle, c'est-à-dire fondée sur les traits fonctionnels des plantes peut être utile pour mieux appréhender ces processus.

2.1. Mécanismes de l'assemblage des communautés végétales en prairies permanentes

Une communauté de plantes est constituée à partir d'un ensemble d'espèces disponibles à l'échelle régionale (ou pool régional) reflétant notamment le climat régional actuel ainsi que les processus paléoclimatiques (Dengler et al., 2014). Trois filtres ont été proposés pour expliquer la composition et la structure des communautés observées (Cadotte and Tucker, 2017 ; **figure 2**). Ils filtrent les espèces sur la base de leurs traits fonctionnels reflétant leurs réponses à ces différents filtres (traits de réponse ; Lavorel and Garnier, 2002). Cependant, les effets de ces différents filtres sur la composition et la structure des communautés sont difficilement quantifiables, et peuvent engendrer les mêmes structures observées au sein des communautés (Cadotte and Tucker, 2017). Premièrement, sur un ensemble d'espèces disponibles, une **filtration liée à la dispersion** des individus opère. En plus des traits fonctionnels des plantes associées à la dispersion (ex : taille des graines) et les vecteurs de dispersion disponible (par exemple présence d'oiseaux capables de transporter les graines ; Schleuning et al., 2015), la qualité de la matrice paysagère environnant les prairies joue un rôle prépondérant dans la composition des plantes des communautés prairiales (Dengler et al., 2014).

Cependant, dans un contexte de changements des systèmes agricoles et d'urbanisation, cette matrice paysagère a connu de grands bouleversements au cours des dernières décennies. En effet, les prairies permanentes ont connu un déclin en Europe. Ainsi, entre 1967 et 2007, 7.1 millions d'ha de prairies permanentes ont été perdues au sein de l'Europe des six (i.e. Allemagne, Belgique, France, Italie, Luxembourg et Pays-Bas), soit 30 % du niveau de 1967 (33 % pour la France uniquement ; Huyghe et al., 2014). De plus, sur cette même période temps, elles ont connu un déclin plus rapide que les autres surfaces agricoles alors que même des prairies peu diversifiées ont un effet plus favorable sur la préservation de la biodiversité que les grandes cultures (Huyghe

et al., 2014). Si l'on se place sur un temps plus long, ce déclin fait suite à une augmentation (au moins en France) de la SAU occupée par les prairies permanentes du XIX^e siècle jusqu'au milieu du XX^e siècle (Huyghe et al., 2014). Cette réduction de la proportion de prairies permanentes au sein de la matrice paysagère, couplée à son uniformisation par l'augmentation en proportion de la couverture de grandes cultures ainsi que par l'urbanisation, réduit les chances de dispersion entre les zones restantes de prairies permanentes (Zulka, 2014).

A partir des espèces capables physiquement de coloniser le milieu, un second filtre opère au travers d'un **filtre environnemental**. Au sein des prairies permanentes, plusieurs filtres environnementaux ont été proposés comme les conditions microclimatiques, la topographie ainsi que les caractéristiques du sol (ex : pH du sol, Laliberte et al., 2014). Enfin, le dernier filtre proposé est un **filtre biotique**. Ainsi, la compétition entre espèces adaptées aux conditions locales régit également l'assemblage des communautés, une espèce capable de se maintenir dans le milieu en l'absence d'autres espèces pouvant être exclue par compétition avec d'autres espèces déjà implantées (Kraft et al., 2015). Cependant, la filtration biotique n'est pas distinguable de la filtration environnementale dans le cadre d'études d'observation (Kraft et al., 2015), car elles peuvent toutes deux mener à une sous-dispersion phylogénétique ou fonctionnelle (i.e. sur la base des traits de réponse des plantes) (Cadotte and Tucker, 2017).

L'hétérogénéité des conditions abiotiques à l'échelle intra-site contribue également à la coexistence des espèces au sein d'une même prairie (Kraft et al., 2015 ; **figure 2**). Il en va de même de l'effet de masse, où des espèces produisant des propagules en quantité suffisamment importante et avec un niveau de dispersion suffisant peuvent maintenir localement des individus malgré une faible adaptation au milieu ou une faible capacité compétitive (Mason et al., 2013). Un cas particulier d'effet de masse au sein des prairies permanentes tient à certaines pratiques agricoles comme le sursemis qui consiste à semer sur une prairie déjà en place des espèces de plantes ayant un intérêt agronomique, ou la conséquence de pratiques agricoles comme le transfert massif de graines par la machinerie utilisée par l'Homme dans le cadre de la gestion des prairies (Gaujour et al., 2012).

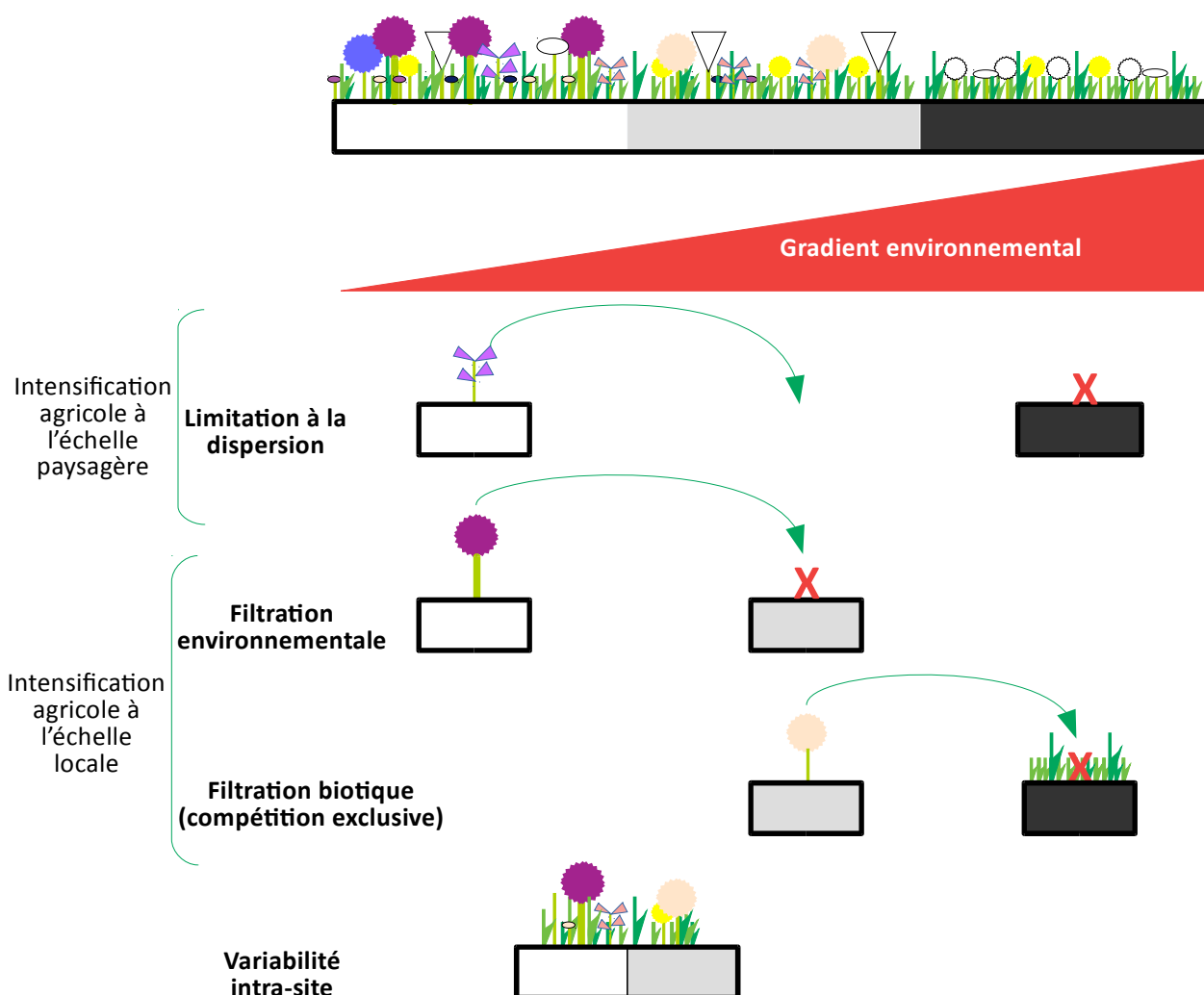


Figure 2 : Représentation des trois filtres opérant sur l'assemblage des communautés de plantes prairiales le long d'un gradient environnemental à partir d'un pool d'espèce régional.

La limite à la dispersion implique qu'une espèce, bien que potentiellement adaptée aux conditions abiotiques et biotiques d'un milieu ne peut pas l'atteindre ni le coloniser, par exemple à cause d'une distance de dispersion trop faible, à cause de l'absence d'un vecteur de dispersion, ou encore à cause d'une barrière géographique. Dans ce schéma, la fleur violette de la communauté au sol blanc ne peut pas atteindre la communauté au sol noir car sa distance de dispersion ne lui permet d'atteindre que la communauté au sol gris. La filtration environnementale implique que le long du gradient environnemental, une espèce capable d'atteindre un milieu ne peut pas coloniser le milieu même en l'absence d'autres espèces. La compétition exclusive implique qu'une espèce est capable d'atteindre un milieu, qu'elle est adaptée à ses conditions abiotiques, mais qu'elle ne peut pas l'occuper car elle est exclue compétitivement par les autres espèces en présence. La variabilité intra-site implique qu'au sein d'une même communauté, les conditions abiotiques peuvent varier. Un cortège de plantes peut être adapté par milieu, et donc la diversité totale de la communauté sera plus importante. Modifié d'après Kraft et al. (2015).

2.2. Les prairies permanentes, des milieux gérés par l'Homme

Les prairies permanentes sont des milieux gérés par l'Homme selon ses objectifs d'exploitation. Ces objectifs dépendent à la fois directement des agriculteurs, mais aussi des incitations issues des politiques gouvernementales (Huyghe et al., 2014). Les agriculteurs pilotent la gestion des prairies

selon différentes pratiques agricoles qui varient en termes d'intensité. Ces pratiques agricoles incluent la fauche qui varie en termes de précocité et de fréquence, le pâturage qui varie en terme de précocité, de chargement, de durée et d'espèces animales, ainsi que la fertilisation dont le type (ex : organique ou minérale), la composition (ex : azote, phosphore, potassium), la fréquence (ex : annuelle, biannuelle...) et la quantité dépendent aussi des objectifs d'exploitation de l'agriculteur (**figure 3**). D'autres pratiques peuvent être impliquées dans l'itinéraire technique de l'agriculteur et incluent par exemple le hersage ou le chaulage. Enfin, outre le bétail, la faune sauvage (ex : sangliers, cervidés, campagnols) peut également exercer une forte pression sur les communautés végétales (ex : retournement de surfaces prairiales par les sangliers).

Le niveau d'intensité de l'ensemble de ces pratiques permet de définir le niveau d'intensification agricole d'une prairie. Plusieurs indices ont été proposés afin d'agréger ensemble ces différentes composantes, par exemple le land-use intensification index (LUI) de Blüthgen et al. (2012) qui incorpore des informations sur la fréquence des fauches, le chargement et la fertilisation azotée. L'intensification agricole a particulièrement augmenté au cours du XX^e siècle. Par exemple, au Royaume-Uni, la fertilisation azotée annuelle moyenne des prairies est passée de moins de 5 kgN/ha à 135 kgN/ha au cours de la seconde moitié du XX^e siècle (Huyghe et al., 2014). Aujourd'hui encore, l'intensification agricole locale est considérée comme la principale menace de la biodiversité prairiale (Dengler et al., 2014). Cependant, l'abandon des prairies liée à la déprise agricole et menant à leur enfrichement (essentiellement dans les milieux méditerranéens et montagnards ; Huyghe et al., 2014) est également une menace importante (Dengler et al., 2014).

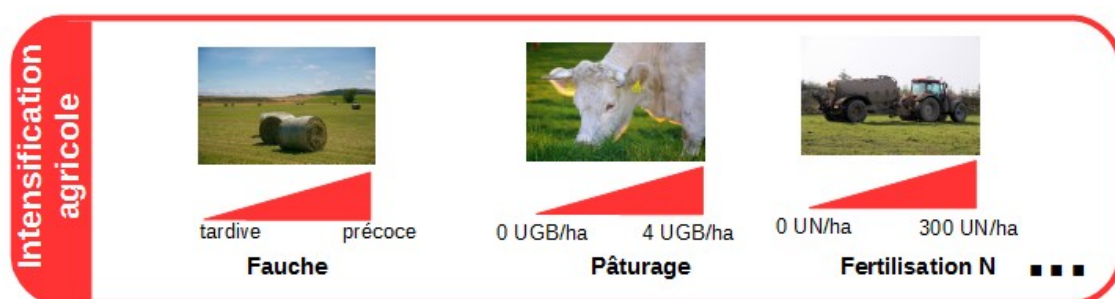


Figure 3 : Principales composantes de l'intensification agricole en prairie permanente (à l'échelle Paléarctique) en termes d'effets sur l'assemblage des communautés végétales.

En effet, l'ensemble des pratiques agricoles et leur niveau d'intensité impactent les conditions abiotiques (ex : fertilité et texture du sol) et biotiques (ex : compétition pour la lumière) des milieux prairiaux avec des conséquences sur la diversité des plantes au sein des communautés

(Gaujour et al., 2012). L'intensification agricole, en maximisant la production au travers de la maximisation de la productivité (i.e. taux de croissance) par la fertilisation azotée, est considérée comme ayant un effet négatif sur la diversité spécifique des plantes prairiales (Chalmandrier et al., 2017). Une première manière d'expliquer cet effet négatif repose sur le modèle d'équilibre dynamique (Dynamic Equilibrium Model ou DEM, Huston, 2014).

En effet, selon le DEM, les effets de l'intensité des pratiques agricoles sur la diversité des plantes prairiales peuvent se compenser entre eux (**figure 4**). La diversité du milieu dépend alors à la fois du niveau de productivité du milieu (ex : liée à la fertilisation agricole, bien que des effets négatifs de la fertilité azotée sur la productivité aient été répertoriés dans la bibliographie ; (Dengler et al., 2014) et du niveau de mortalité (i.e. la défoliation par la fauche ou par le pâturage dans le cas des prairies permanentes). Par exemple, une augmentation de la productivité du milieu peut engendrer soit une diminution de la diversité locale à cause de l'exclusion compétitive si le niveau de mortalité est faible, soit une augmentation de la diversité si le niveau de mortalité est élevé. Le DEM souligne aussi les relations non-linéaires possibles entre diversité des plantes prairiales et productivité et mortalité au travers de l'hypothèse de productivité intermédiaire (Intermediate Productivity Hypothesis ou IPH) et de l'hypothèse des perturbations intermédiaires (Intermediate Disturbance Hypothesis ou IDH).

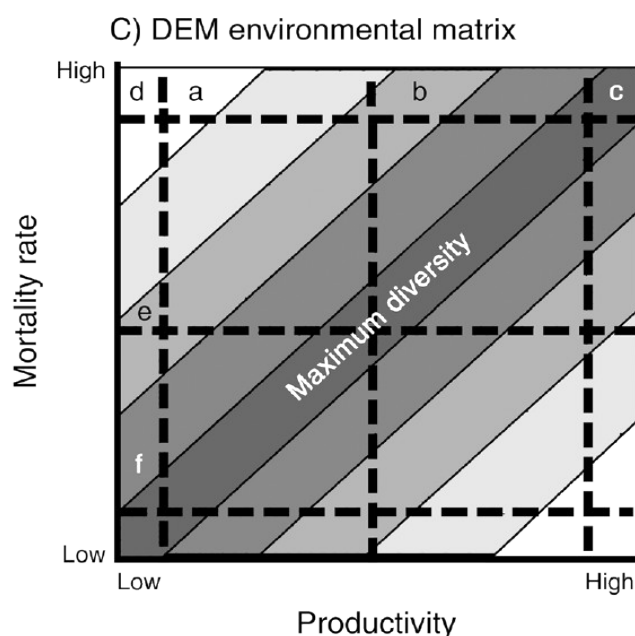


Figure 4 : Prédications du Dynamic Equilibrium Model (DEM).

Cette figure montre les effets de l'interaction entre la productivité et la mortalité (ex : liée à la défoliation) sur la diversité spécifique (en l'absence d'hétérogénéité spatiale issue de l'interaction entre productivité et mortalité). Le niveau de diversité spécifique maximal est indiqué en gris sombre, le niveau le plus faible en bas. Source : Huston (2014).

Une autre manière d'expliquer cette relation négative entre productivité et diversité taxonomique est qu'il pourrait exister un biais au sein des pools d'espèces prairiales à l'échelle Européenne, avec plus d'espèces adaptées aux sols oligotrophes (Chalmandrier et al., 2017). Par conséquent, les communautés prairiales des prairies intensives et donc avec un fort niveau de fertilité des sols, ne pourraient être constituées que par ce faible nombre initial d'espèces adaptées à des milieux fertiles. Il en résulterait une sous-dispersion des plantes sur la base de leurs traits de réponse à la fertilité des sols, notamment si les plantes ayant des combinaisons de traits proches ont également une productivité élevée (Cadotte and Tucker, 2017). C'est probablement une combinaison de l'ensemble des mécanismes présentés ici qui peuvent expliquer les observations de sous-dispersion des traits de réponse des plantes avec l'intensification agricole.

En effet, différentes études ont montré l'effet négatif de l'intensification agricole sur la diversité fonctionnelle des communautés végétales sur la base de leurs traits de réponse, caractérisant ainsi leur sous-dispersion. Cependant, l'intensification agricole impacte également la valeur moyenne des traits pondérée par l'abondance de chaque espèce au sein des communautés (Community Weighted Mean, CWM). Par exemple, (Garnier et al. (2007) ont montré un effet positif de l'enrichissement sur le CWM de différents traits végétatifs dont la hauteur des plantes au stade végétatif et de manière générale sur les traits de réponse se rapportant à l'économie de ressources des feuilles, la phénologie des plantes et les formes de vie (Busch et al., 2017; Garnier and Navas, 2012). Bien qu'il s'agisse ici d'un effet de la désintensification, il est probable que l'intensification ait un effet opposé, et qu'elle favorise donc des espèces à croissance et acquisition de ressources rapides (Garnier and Navas, 2012). Cependant, ces impacts sont le résultat d'interactions complexes entre l'intensification agricole et les facteurs abiotiques précédemment mentionnés, notamment la fertilité du sol (Busch et al., 2017).

De plus, ces impacts peuvent être liés aux pratiques actuelles, mais aussi passées dont le facteur explicatif pourrait être plus important pour comprendre la diversité observée au sein des prairies (Dengler et al., 2014). C'est le cas par exemple de la fertilité phosphorée qui peut impacter négativement la diversité taxonomique des plantes ainsi que la diversité fonctionnelle et le CWM de différents traits des plantes prairiales (forme de vie et présence de mycorhize arbusculaire ; Helsen et al., 2014). Or, le niveau actuel de fertilité phosphorée d'un sol peut résulter de l'application passée de ce macro-élément sur les prairies du fait de sa grande stabilité dans les sols (Ceulemans et al., 2014).

3. De l'importance des interactions plante-pollinisateurs au sein des prairies permanentes

L'assemblage des communautés de plantes prairiales ne dépend pas uniquement des mécanismes précédemment présentés : elles sont aussi régies par la composition et la diversité des pollinisateurs (Pellissier et al., 2012). En effet, les Poaceae (i.e. essentiellement à pollinisation anémophile) représentent la plus grande partie de la biomasse dans les prairies permanentes en milieu tempéré (Dengler et al., 2014). Cependant, 78.4 % des plantes herbacées en milieu tempéré dépendent au moins partiellement des pollinisateurs pour assurer leur pollinisation (Ollerton et al., 2011), alors qu'en Europe, la moitié de la flore dépend des habitats de types prairiaux (Veen et al., 2009) et que les espèces de plantes dicotylédones (légumineuses, diverses) sont les plus importantes pour la diversité floristique. En outre, l'absence de pollinisateurs pourrait fortement impacter la composition des plantes au sein des communautés prairiales (Lundgren et al., 2016), alors que la diversité fonctionnelle des pollinisateurs au travers de leur complémentarité fonctionnelle peut impacter le succès reproducteur des plantes prairiales (Fontaine et al., 2005; Fründ et al., 2013).

Les plantes à pollinisation entomophile au sein des prairies sont d'une grande importance dans un but de conservation de la biodiversité, mais aussi potentiellement pour la qualité des fourrages (Poutaraud et al., 2017). En retour, ces plantes fournissent des ressources nutritives (pollen et nectar) ainsi que des sites de reproduction, de réchauffement ou encore des substrats essentiels pour le déroulement du cycle de vie de nombreuses espèces de pollinisateurs (Michener, 2007; Woodcock et al., 2014). Elles sont donc essentielles pour le maintien des communautés de pollinisateurs, en particulier dans un contexte de déclin de ces derniers (synthétisé par Potts et al., 2010). De plus, la complémentarité de phénologie entre plantes sauvages et plantes cultivées permet d'accroître la disponibilité en pollinisateurs pour le service écosystémique de pollinisation des plantes cultivées dont le rendement dépend de la pollinisation entomophile, bien que cela puisse être au dépend de plantes sauvages fleurissant au même moment que ces dernières.

3.1. La fonction de pollinisation : définition et mesures

La pollinisation des plantes prairiales, qui correspond au processus de transfert de grains de pollen des étamines vers les stigmates peut être considérée comme une fonction au sens de l'Evaluation française des écosystèmes et des services écosystémiques (EFESE ; Tibi and Thérond, 2017). Le cadre EFESE fournit un cadre conceptuel clair et récent pour l'utilisation du concept de service

écosystémique dans le contexte des écosystèmes agricoles et c'est la raison pour laquelle nous l'avons retenu au cours de cette thèse. D'après le cadre EFESE, le niveau de fonction de pollinisation au sein d'une communauté prairiale devrait être influencé par les déterminants biophysiques des deux entités en interaction : les plantes et les pollinisateurs. La fonction de pollinisation n'inclut pas le succès reproducteur des plantes attribuable à l'action des pollinisateurs (ex : nombre de graines par individu) ainsi que la récolte pour la consommation humaine (i.e. succès reproducteur des plantes à l'échelle de l'exploitation attribuable à l'action des pollinisateurs, cf. Bartholomée and Lavorel, 2019). De plus, dans le cadre EFESE, un service écosystémique correspond à une fonction écologique dont l'Homme dérive un avantage direct ou indirect. La fonction de pollinisation en prairie permanente pourrait générer ce type d'avantage, par exemple en influençant de manière positive pour l'agriculteur la composition des communautés de plantes prairiales. Cependant, ce type de relation n'ayant pas été démontrée explicitement dans la littérature, nous nous limiterons dans la suite de cette thèse à la seule étude de la fonction de pollinisation ou de ses déterminants biophysiques.

La fonction de pollinisation au sein d'une prairie peut être estimée en quantifiant directement ses déterminants biophysiques (Bartholomée and Lavorel, 2019). Cependant, en approximant le transfert de pollen, par exemple en quantifiant la fréquence des interactions plantes-pollinisateurs, il est possible d'approximer encore plus précisément la fonction de pollinisation (Bartholomée and Lavorel, 2019). En effet, la fréquence des interactions plantes-pollinisateurs a été positivement reliée avec le succès de reproduction des plantes (Vázquez et al., 2005), et est fréquemment employée comme approximation du transfert de pollen (Bartholomée and Lavorel, 2019). Cependant, cette mesure pourrait être peu précise car elle ne prend pas en compte l'efficacité variable des pollinisateurs, et nécessiterait d'être complétée par d'autres mesures du transfert de pollen (ex : transport de pollen par individu ou quantité de pollen déposé par interaction ; (Ballantyne et al., 2017; King et al., 2013). Cependant, la fréquence des interactions reste l'une des méthodes les plus simples à mettre en place (Bartholomée and Lavorel, 2019). Elle est liée à de nombreux paramètres, incluant de la variabilité interannuelle qui est liée notamment aux variations en termes de température et de sécheresse pouvant fortement impacter l'abondance des espèces de plantes et de pollinisateurs (Burkle and Alarcon, 2011), les propriétés de la matrice paysagère (ex : Geslin et al., 2013), mais aussi les paramètres locaux. Ainsi, la fréquence des interactions plantes-pollinisateurs est liée positivement à la diversité taxonomique et au

recouvrement total de plantes en fleur (ex : Ebeling et al., 2008, cf. **figure 5**; Hudewenz et al., 2012).

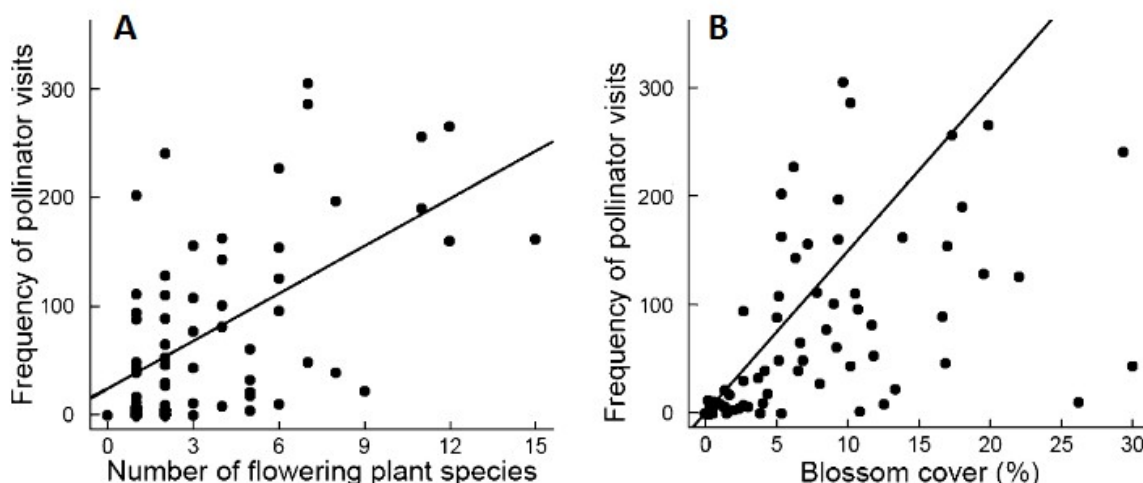


Figure 5 : Relations entre fréquence des interactions plantes-pollinisateurs et A) nombre d'espèces de plantes en fleur et B) pourcentage de recouvrement total de plantes en fleurs.

Ces données ont été obtenues sur le site expérimental de Jena (Allemagne) et comporte 82 micro-parcelles de 400 m² chacune. Chaque micro-parcelle est composée de l'un des six niveaux de richesse taxonomique de plantes possibles (1, 2, 4, 8, 16 et 60 espèces). Source : Ebeling et al. (2008).

3.2. Les traits d'interaction plantes-pollinisateurs

Cependant, toutes les fleurs ne sont pas semblables en termes d'attractivité, d'accessibilité ou de récompense pour les pollinisateurs. En effet, la fréquence des interactions peut aussi être impactée par la diversité fonctionnelle et le CWM des traits floraux et des traits des pollinisateurs composant les communautés prairiales (ex : Fornoff et al., 2017). Une vision holistique de ces traits est nécessaire pour appréhender au mieux les différents axes qui composent les niches des plantes et des pollinisateurs (Junker and Parachnowitsch, 2015).

En effet, les interactions plantes-pollinisateurs reposent sur un processus séquentiel complexe qui implique de nombreux traits d'interactions, en plus d'une phénologie commune entre la floraison de la plante et la période de vie du pollinisateur qui sont nécessaires pour que les interactions aient lieu (Vázquez et al., 2009). Les fleurs constituent des signaux qui permettent aux pollinisateurs de les détecter à plus ou moins longue portée (Hempel de Ibarra et al., 2015), bien que la raison de complexité et de la diversité de ces signaux floraux est encore sujette à débat (Leonard et al., 2011). Par exemple, l'importance de ces signaux et du type de signal utilisé (ex : visuel ou odorant) pour la détection des fleurs varie selon les espèces de pollinisateurs (ex :

pollinisateurs nocturnes pour lesquels les signaux odorants sont particulièrement importants ; Wester and Lunau, 2017), selon leur distance aux fleurs (ex : signal odorant qui pourrait être favorisé à moyenne distance et visuel à courte distance chez *A. mellifera* ; (Leonard and Masek, 2014), mais aussi selon leur niveau d'expérience (ex : apprentissage d'une nouvelle combinaison de signaux visuels lorsque le pollinisateur change d'espèce visitée ; Wester and Lunau, 2017). Une fois les fleurs détectées, les pollinisateurs doivent pouvoir atteindre la récompense qu'ils cherchent à exploiter (i.e. pollen, nectar ou les deux). Cette accessibilité à la ressource est déterminée par des traits floraux appelés barrière à l'exploitation (ex : Stang et al., 2006). Enfin, les ressources nutritives produites par les fleurs varient en termes de quantité et de qualité, alors que les besoins des pollinisateurs pour ces ressources varient également (Vaudo et al., 2015).

4. Impacts de l'intensification agricole sur les traits d'interaction plantes-pollinisateurs

L'intensification agricole, mais aussi la fertilité des sols, en impactant la composition et la diversité des plantes prairiales pourraient impacter le CWM et la diversité fonctionnelle des traits floraux, avec comme effets cascades des impacts sur le CWM et la diversité des traits des pollinisateurs (Lavorel et al., 2013). La littérature à ce sujet est peu étoffée et concerne essentiellement les travaux autour du « Biodiversity Exploratories Project », situé dans trois régions allemandes avec 50 parcelles de prairies présentant un large gradient d'intensité agricole dans chacun des trois sites (pour une description complète du projet, voir Fischer et al., 2010). Ainsi, la généralisation de ces résultats à d'autres régions (même Européennes) reste encore limitée. De plus, les traits d'interactions par niveau trophique peuvent être corrélés entre eux, et les effets de l'intensification sur l'une des trois grandes catégories de traits d'interaction présentées précédemment (i.e. signaux, barrières et récompenses) peuvent refléter les effets sur une autre catégorie. Ainsi, une compréhension mécaniste des impacts de l'intensification agricole sur les traits d'interactions demeure complexe. Cependant, en reliant la littérature existante (résumée dans le **tableau 1**) avec celle sur la biologie des pollinisateurs, il est possible de schématiser ces potentiels effets en cascade de l'intensification agricole qui sont autant de pistes devant être validées par de futurs travaux de recherche.

4.1. Signaux

4.1.1. Couleur florale

L'intensification agricole en prairie a été associée avec un changement de la couleur principale des fleurs telle que perçue par *Apis mellifera* du bleu ou jaune vers la couleur blanche, avant la fauche et dans l'une des régions Allemandes étudiées par Binkenstein et al. (2013) au sein du BEP.

Les conséquences de ce changement de couleur sur les communautés de pollinisateurs sont peu évidentes. En effet, le système visuel de la plupart des insectes s'étend aux UV. Ainsi, la couleur blanche est détectable par la plupart des pollinisateurs (Kevan et al., 1996), bien que les pollinisateurs aient des préférences innées pour certaines couleurs. Ces préférences sont partiellement expliquées par leurs photorécepteurs (Lunau and Maier, 1995). De plus, la plupart des espèces de pollinisateurs ont des capacités d'apprentissage par rapport aux couleurs des fleurs même si certaines limitations cognitives peuvent restreindre le processus d'apprentissage notamment chez les Diptères (van der Kooi et al., 2018). Cependant, les résultats de Renoult et al. (2015) suggèrent, dans ce même BEP, une diminution de l'importance du niveau d'interaction entre couleur des fleurs et systèmes visuels des pollinisateurs avec l'intensification agricole. Avec l'intensification agricole, l'utilisation des signaux colorés par les pollinisateurs pourrait donc être plus généraliste qu'à faible niveau d'intensité agricole où la couleur des fleurs pourrait correspondre aux préférences innées des pollinisateurs. Cependant, leurs résultats dépendent fortement des régions étudiées.

4.1.2. Odeurs florales

Il n'existe pas d'études portant sur les effets de l'intensification agricole sur les odeurs florales en tant que traits floraux. Cependant, une étude intègre les odeurs florales sous la forme de paysage odorant (Cornu et al., 2015). En effet, les composés organiques volatiles (COV) émis par les fleurs génèrent un paysage d'odeur à l'échelle prairiale. L'intensification, en modifiant la composition des communautés de plantes prairiales, peut donc modifier ce paysage odorant, avec des impacts possibles sur les interactions plantes-pollinisateurs (Jürgens and Bischoff, 2017). La seule expérience ayant traité cette relation n'a pas mis en évidence de relation entre composition botanique des prairies en réaction à l'intensification agricole, et les COV émis par les plantes (Cornu et al., 2015). Cependant, cette étude est seulement fondée sur deux prairies de montagne avec un niveau contrasté d'intensité agricole.

Il existe des préférences innées et acquises des pollinisateurs pour des odeurs ou des associations d'odeurs florales spécifiques (Wester and Lunau, 2017). Les odeurs florales sont des traits essentiels impliqués dans les interactions plantes-pollinisateurs comme récemment mis en évidence par Larue et al. (2016). Par conséquent, l'intensification agricole pourrait modifier la composition des communautés de pollinisateurs en milieu prairial du fait d'un changement des odeurs émises par les plantes. Cornu et al. (2015) n'ont trouvé qu'une faible relation entre paysage odorant et composition des communautés d'abeilles sauvages. Cependant, ils ont pu montrer que plusieurs COV pourraient impacter la composition des communautés de pollinisateurs. Par exemple, une corrélation positive entre l'abondance relative du benzaldéhyde dans le paysage odorant et la richesse spécifique de bourdons a été mise en évidence, mais aussi entre l'abondance relative du butyrolactone et la richesse spécifique des abeilles.

Cependant, une limite à notre compréhension de ces relations tient à l'absence de définition de traits d'interactions des pollinisateurs qui nous permettraient de comprendre leurs réponses aux changements d'odeur des fleurs. Outre des traits comportementaux, deux traits d'interaction pourraient informer sur l'aptitude des pollinisateurs à reconnaître et à être attiré par les odeurs florales : la longueur des antennes portant des sensilles odorantes, et le nombre de types de récepteurs odorants (Wester and Lunau, 2017). Par exemple, une plus grande longueur d'antenne pourrait permettre une plus grande capacité à détecter les odeurs et donc à utiliser ce signal dans les interactions plantes-pollinisateurs (Spaethe et al., 2007). Cependant, ces traits ne donnent pas d'information sur la préférence des pollinisateurs pour ces mêmes odeurs.

4.2. Barrières à l'exploitation : profondeur du tube à nectar

Il n'existe pas d'étude faisant un lien direct entre intensification et profondeur des tubes à nectar. Cependant, l'intensification agricole pourrait réduire la valeur moyenne des tubes à nectar à l'échelle des communautés. En effet, l'intensification agricole désavantage les Fabaceae qui sont souvent considérées comme ayant des tubes à nectar profonds (Gaujour et al., 2012; Lavorel et al., 2013). Ainsi, Kühnel and Blüthgen (2015) au sein du BEP, ont trouvé que le recouvrement en plantes de la famille des Fabaceae passe de 40% du recouvrement total en plante en fleurs dans des prairies extensives, à 10 % dans des prairies intensives. L'intensification pourrait aussi favoriser les Apiaceae et les Asteraceae. En milieu tempéré, les espèces appartenant à ces deux familles sont le plus souvent associées à des fleurs avec des tubes à nectar peu profond ou inexistant (Kühnel and Blüthgen, 2015; Weiner, 2016). Cependant, des mesures quantitatives sont nécessaires

pour valider une relation négative entre intensification et valeur moyenne de la profondeur des tubes à nectar.

Une diminution de la moyenne à l'échelle des communautés de la profondeur des tubes à nectar pourrait mener à la diminution de la longueur moyenne des pièces buccales à cette même échelle. En effet, une diminution de la correspondance entre profondeur du tube à nectar et longueur des pièces buccales pourrait entraîner à de l'exclusion compétitive des pollinisateurs ayant le moins de correspondance (i.e. ayant des pièces buccales longues) à cause d'une augmentation de la durée de manipulation des fleurs (Goulson, 2010). Cependant, cette hypothèse n'a pas été confirmée au moins par Klumpers et al. (2019) qui ont trouvé une augmentation de la durée de manipulation des fleurs uniquement lorsque les pollinisateurs ont des pièces buccales plus courtes que la profondeur des tubes à nectar, bien que cette étude n'ait pas été réalisée en prairies permanentes (mélange de espèces 16 d'Astéracées dans les Montagnes Rocheuses, Colorado, Etats-Unis).

De plus, une diminution de la profondeur des tubes à nectar devrait augmenter la viscosité moyenne du nectar. En effet, le nectar des fleurs peu profondes est plus exposé à l'air, ce qui augmente l'évaporation de l'eau qui le constitue (Nicolson and Thornburg, 2007). Par conséquent, en association avec la longueur des pièces buccales, l'anatomie des pièces buccales pourrait être un trait d'interaction entrant dans la sélection des pollinisateurs au sein des prairies. Par exemple, les Lépidoptères, sont caractérisés par une anatomie des pièces buccales leur permettant une technique de succion active du nectar, et une meilleure capacité à extraire des nectars faiblement visqueux et concentrés. Les abeilles de leur côté utilisent une méthode de léchage (Nicolson and Thornburg, 2007) alors que la plupart des Diptères en interaction avec des fleurs ont des pièces buccales avec une extrémité spongieuse leur permettant d'exploiter des nectar très visqueux et concentrés. Ils sont également capables de réhumidifier le nectar à l'aide de leur salive avant son injection (Krenn et al., 2005; Woodcock et al., 2014).

Kühnel (2015) a pu trouver une diminution de 64 % de la longueur relative du CWM de la longueur des pièces buccales des pollinisateurs avec l'intensification agricole au sein du BEP. Cette diminution pourrait être liée à une augmentation de l'abondance relative des Diptères dans les communautés de pollinisateurs avec l'intensification, ces derniers ayant une longueur de pièces buccales en moyenne plus faible que celle des abeilles sauvages par exemple, mais aussi des pièces buccales bien adaptées aux nectars fortement visqueux. Ainsi, la diminution du CWM de la longueur des pièces buccales pourrait être liée au moins partiellement à une diminution du CWM

de la profondeur des tubes à nectar.

Cependant, la longueur des pièces buccales est positivement corrélée à la taille corporelle des pollinisateurs (au moins chez les abeilles ; Cariveau et al., 2016), et la taille corporelle des pollinisateurs pourrait elle-même être fortement liée aux besoins énergétiques des pollinisateurs et donc aux récompenses fournies par les fleurs (Brown et al., 2004). Or, une diminution du niveau de correspondance entre longueur des pièces buccales et profondeur du tube à nectar diminue la quantité de sucre extraite par unité de temps par un pollinisateur (mais uniquement lorsque la longueur des pièces buccales excède la profondeur des tubes à nectar et pas l'inverse, Klumpers et al., 2019; **figure 6**). Ainsi, en plus de l'interaction entre profondeur du tube à nectar et longueur des pièces buccales, il est nécessaire d'intégrer la dimension énergétique des interactions plantes-pollinisateurs, qui implique notamment les récompenses en hydrates de carbones produites par les plantes.

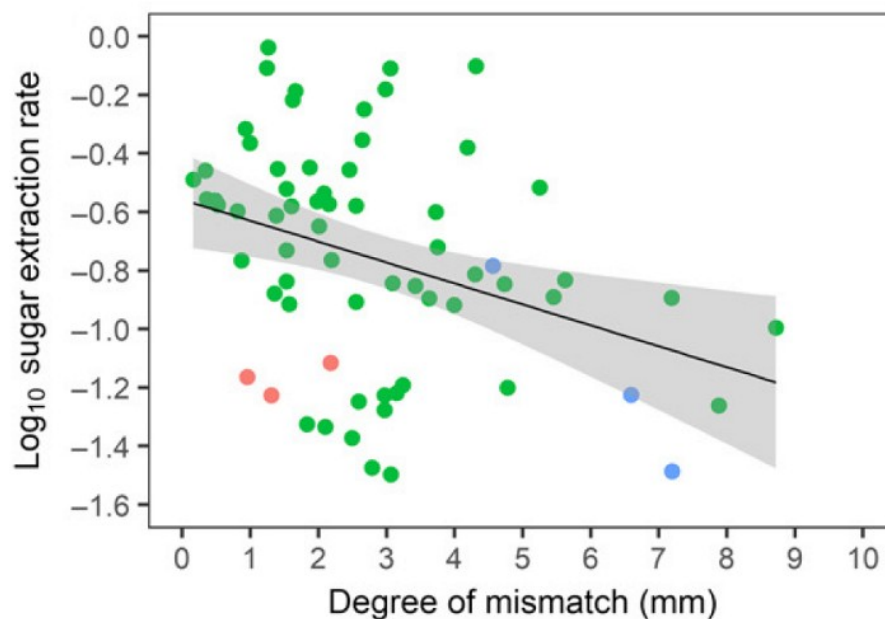


Figure 6 : Relation entre le logarithme en base 10 du taux d'extraction de sucre contenu dans le nectar et le degré de non-interaction entre la longueur de langue des pollinisateurs et la profondeur des tubes à nectar (mm).

Chaque couleur représente une espèce d'insecte de pollinisateur différente. La relation a un R^2 ajusté de 0,11. Source : Klumpers et al. (2019).

4.3. Récompenses

4.3.1. Productivité en nectar

Pakeman et al. (2017) ont montré que l'intensification ainsi que la déprise agricole peuvent générer une diminution de la production en nectar au sein des prairies. Cette tendance pourrait être due à une modification de la composition des communautés de plantes, avec la diminution de l'abondance d'espèces entomophiles au profit notamment des Poaceae. De même, l'intensification favorise les Poaceae fortement compétitives pour l'acquisition de nutriments (Gaujour et al., 2012). Un déclin des plantes à pollinisation entomophile au profit des plantes à pollinisation anémophile est aussi observé avec une augmentation de la fertilisation phosphorée et azotée (Helsen et al., 2014), bien que sans association directe avec l'intensification agricole dans cette étude. Baude et al. (2016), quant à eux, ont pu montrer une augmentation de 25 % de la production en sucre via le nectar (kg de sucre/ha/an) en Grande-Bretagne entre 1998 et 2007 qui pourrait être liée à une diminution du dépôt d'azote sur les prairies, probablement d'origine atmosphérique dans ce cas. Cependant, une diminution de la production de nectar ou de sucre par le nectar avec l'intensification ou même la fertilité des sols, n'a jamais été directement mise en évidence.

Une diminution de la production de nectar pourrait engendrer une modification de la composition des communautés de pollinisateurs car les différentes espèces de pollinisateurs ont des besoins énergétiques différents tant au stade larvaire qu'au stade adulte (Vaudo et al., 2015). De plus, la taille corporelle des pollinisateurs est probablement liée à leurs besoins énergétiques, la biomasse des organismes hétérotrophes étant fortement liée à leur taux métabolique (Brown et al., 2004). Il n'y a cependant pas d'études ayant fait une relation entre intensification agricole et besoins énergétiques des pollinisateurs. Les seules informations disponibles semblent montrer que l'intensification agricole peut diminuer la taille corporelle des pollinisateurs (division par deux entre le CWM des insectes des prairies les moins intensives et le CWM des insectes des prairies les plus intensives chez (Kühnel, 2015), toujours au sein du BEP ; **figure 7A**). Cependant, cette diminution de la taille corporelle est expliquée partiellement par l'augmentation de l'abondance relative des Diptères au sein des communautés de pollinisateurs avec l'intensification, dont la taille et la masse plus faible par rapport aux abeilles a pu être soulignée par Kühnel (2015) et Kühnel and Blüthgen (2015; **figure 7B**).

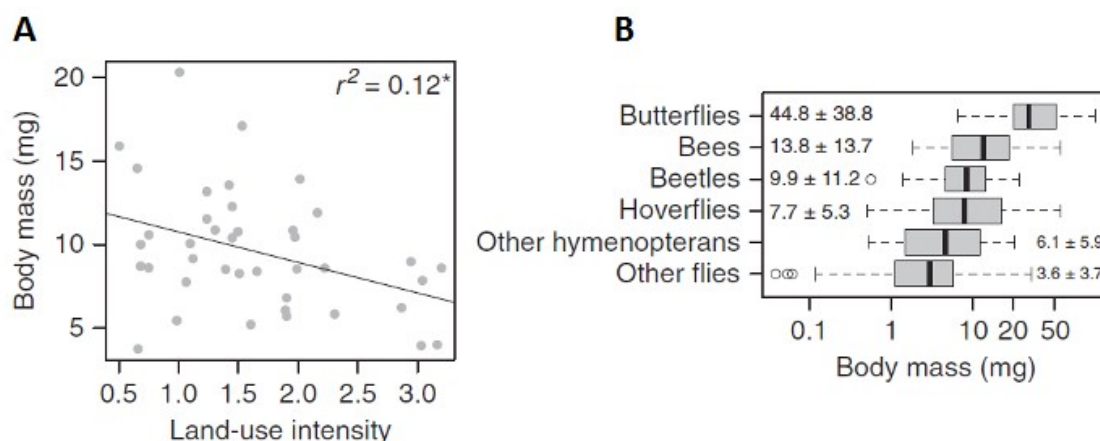


Figure 7 : Masse des insectes pollinisateurs au sein d'une partie des prairies du BEP.

A) relation entre CWM de la masse corporelle des insectes (mg) et intensification agricole mesurée par le LUI ; B) Masse corporelle moyenne (mg) de différents groupes de pollinisateurs (moyenne ± écart-type). Source : Kühnel and Blüthgen (2015).

4.3.2. Production de pollen

L'intensification agricole pourrait générer une diminution de la production de pollen à l'échelle de la communauté prairiale. En effet, des éléments indirects suggèrent une diminution de la production de pollen avec l'intensification agricole. Ainsi, Weiner et al. (2011) au sein du BEP, ont trouvé une corrélation forte entre aire florale (i.e. surface planaire de l'unité florale) et volume de pollen produit par fleur ($r = 0.62$, $p\text{-value} = 0.00002$, pour 40 individus mais sans préciser s'ils appartiennent à 40 espèces différentes), ainsi qu'un effet négatif de l'intensification agricole sur l'aire florale avant la première fauche (**figure 8A** ; mais sans différence au moins trois semaines après). De plus, Pakeman et al. (2017) n'ont pas trouvé d'impact négatif de l'intensification sur la production de pollen. Cependant, (Hicks et al. (2016) ont trouvé une relation positive entre volume de pollen par unité de surface et nombre de fleurs par unité de surface, alors que nous avons souligné précédemment que l'intensification ainsi que la fertilité des sols pourraient diminuer l'abondance relative des plantes entomophiles dans les communautés prairiales.

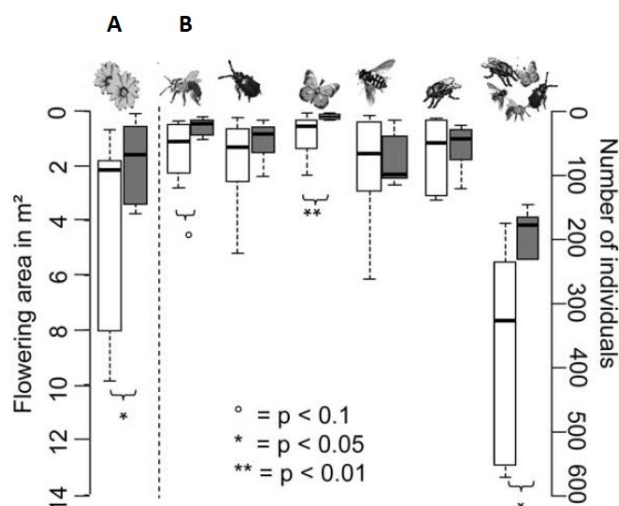


Figure 8 : A) Comparaison de l'aire florale (m²) des plantes en fleurs selon le niveau d'intensité agricole et B) comparaison du nombre d'individus capturés de différents groupes d'insectes.

De gauche à droite : Apidae ; Coléoptères ; Lépidoptères ; Syrphidae ; Diptères ; et pour l'ensemble des insectes (dernière boîte à moustache) selon le niveau d'intensité agricole. En blanc : prairies de faible intensité agricole ; en gris : prairies de forte intensité agricole. Les boîtes à moustache représentent la médiane et les quartiles. Source : Weiner et al. (2011).

Une diminution de la production de pollen pourrait générer la sélection au sein de la prairie étudiée de pollinisateurs ayant des besoins plus faibles en pollen. En effet, des pollinisateurs comme les abeilles ont des besoins bien plus importants en pollen qui est la source protéique pour le développement larvaire (Cane and Tepedino, 2017) que des Diptères qui ont des larves libres et une forte capacité à stocker des protéines pour la production d'œufs (ex : van Rijn et al., 2013). De plus, les besoins quantitatifs en pollen pourraient être positivement associés à la taille corporelle des pollinisateurs au moins chez les abeilles (ex : Müller et al., 2006). En diminuant la richesse en plantes entomophiles, l'intensification agricole tout comme la fertilité des sols pourraient diminuer la stabilité temporelle en ressources florales et affecter les pollinisateurs ayant des besoins en pollen (mais aussi en nectar) tout au long de la saison (Roulston and Goodell, 2011). C'est le cas notamment des bourdons qui ont globalement de faibles capacités de stockage de pollen (Goulson, 2010), mais aussi de la plupart des espèces sociales ou multivoltines (i.e. ayant plusieurs générations par an). Enfin, cet effet pourrait être accentué pour les petites espèces d'abeilles qui ont des capacités de vol moindre, limitant leur capacité à explorer des prairies adjacentes si la prairie où elles nichent ne peut pas fournir de ressources tout au long de l'année. D'un autre côté, les pollinisateurs avec une courte fenêtre d'activité pourraient aussi être désavantagés par l'intensification agricole s'il y a une absence de ressources au moment où elles émergent (De Palma et al., 2015). Ainsi, la phénologie des plantes et des pollinisateurs est un point central

concernant la disponibilité en ressources qu'il s'agisse de pollen ou de nectar.

4.3.3. Qualité du pollen

Bien que de fortes différences en espèces et familles de plantes existent quant à la valeur nutritionnelle du pollen (Goulson, 2010; Roger et al., 2017), il n'existe pas d'étude ayant fait la relation entre intensification agricole et qualité du pollen. Cependant, le pollen des plantes de la famille des Asteraceae semble être de plus faible qualité nutritive que celui des Fabaceae (sur la base de leur composition en acides aminés et en teneur en protéines ; Goulson 2010), alors que l'intensification agricole pourrait promouvoir les Asteraceae (ex : Kühnel and Blüthgen, 2015) et défavoriser les Fabaceae (Gaujour et al., 2012; Lavorel et al., 2013). Ainsi, nous pouvons suggérer que l'intensification agricole pourrait diminuer la qualité moyenne du pollen à l'échelle des communautés.

Par conséquent, l'intensification agricole pourrait favoriser les espèces de pollinisateurs ayant de faible restriction en termes de qualité de pollen, alors que les pollinisateurs diffèrent concernant leur dépendance à cette qualité (Vaudo et al., 2015; Weiner et al., 2010). Cependant, il est difficile de définir un trait d'interaction des pollinisateurs qui pourrait nous renseigner sur la répartition des pollinisateurs par rapport à ce trait floral. Une avancée possible prendrait en compte deux disciplines de l'écologie rarement associées ensemble : l'écologie de la stœchiométrie (i.e. l'étude des balances énergétiques et des éléments chimiques d'organismes en interaction ; González et al., 2017) et l'écologie de la pollinisation. Ainsi, il serait possible d'étudier le niveau d'interaction entre la stœchiométrie du pollen et des pollinisateurs (Filipiak, 2018). Des essais récents ont porté sur ces relations mais uniquement sur des abeilles (ex : (Filipiak et al., 2017). Cependant, les capacités homéostatiques des pollinisateurs pourraient être élevées, limitant l'importance du niveau d'interactions entre la qualité du pollen et la stœchiométrie des pollinisateurs (Kämper et al., 2017). Ainsi, en analysant les différences de stœchiométrie et d'homéostasies des espèces de pollinisateurs, nous pourrions obtenir de nouvelles informations sur la réponse des pollinisateurs aux changements de communautés végétales prairiales en lien avec l'intensification agricole.

5. Conséquences sur la fonction de pollinisation

5.1. Conséquences sur la fréquence des interactions plantes-pollinisateurs

5.1.1. Diminution de l'attractivité pour les pollinisateurs

En impactant les valeurs des traits d'interactions au sein des prairies permanentes, l'intensification agricole pourrait impacter la fonction de pollinisation dans les prairies (**figure 9**). En effet, il a été montré que l'intensification pouvait réduire la fréquence des interactions plantes-pollinisateurs (Weiner et al., 2011; **figure 8B** ; mais voire aussi Weiner et al., 2014; Kühnel, 2015 où il n'y a pas d'effets de l'intensification agricole sur la fréquence des interactions bien qu'il s'agisse aussi d'études au sein du BEP). Une première explication de cet effet négatif pourrait être la diminution de l'attractivité globale de la prairie pour les pollinisateurs avec l'intensification. Cette diminution de l'attractivité peut être visuelle (**figure 10**). Ainsi, l'intensification agricole a été associée à une diminution l'aire florale (Weiner et al., 2011) et à une diminution du CWM de la hauteur des inflorescences mais en prenant en compte aussi les Poaceae et avec des résultats contrastés selon les régions (Garnier et al., 2007). Le CWM de ces deux traits a quant à lui été positivement associé à la fréquence des interactions plantes-pollinisateurs (Fornoff et al., 2017; Hegland and Totland, 2005).

De plus, l'intensification agricole en impactant négativement le niveau de production en nectar et en pollen notamment en réduisant l'abondance relative des plantes entomophiles, pourrait aussi négativement impacter l'attractivité à la fois visuelle et nutritive de ces prairies pour les pollinisateurs avec comme conséquence une diminution de la fréquence des interactions plantes-pollinisateurs. Ce type de relation positive entre abondance des fleurs entomophiles et fréquence des interactions plantes-pollinisateurs a par exemple pu être mis en évidence par différents auteurs (ex : Ebeling et al., 2008 ainsi que par Hudewenz et al., 2012 sur le site expérimental de Jena en Allemagne ; Uyttenbroeck et al., 2017 sur le site expérimental de Gembloux en Belgique).

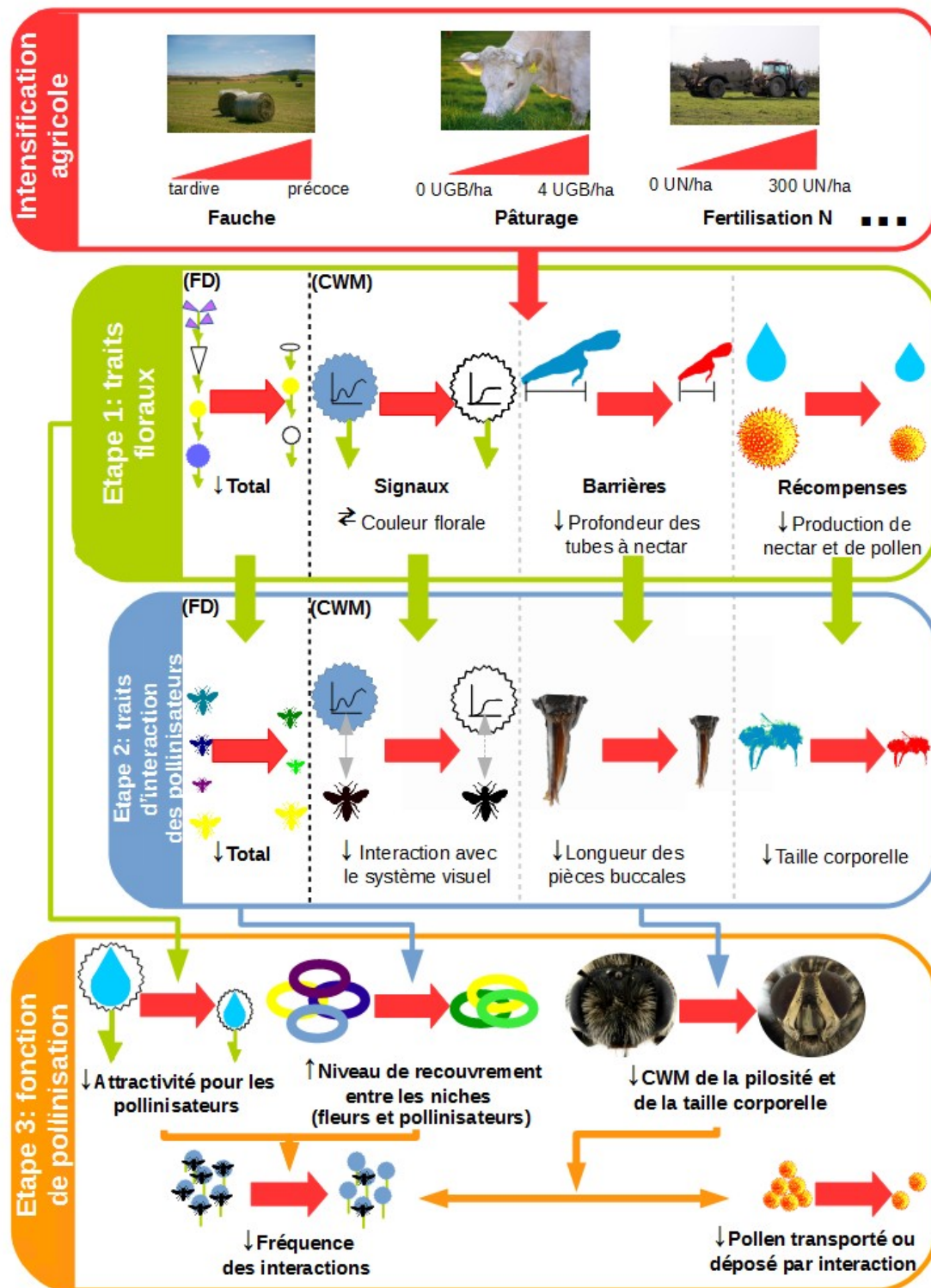


Figure 9 : Effets en cascade présumés de l'intensification agricole sur la fonction de pollinisation.

Les effets de l'intensification agricole se font en cascade sur la diversité fonctionnelle totale (FD) des traits floraux puis des traits d'interactions des pollinisateurs, et le CWM de chaque trait floral et chaque trait d'interaction des pollinisateurs pris séparément, et enfin sur la fonction de pollinisation. Seule une partie des effets en cascade sont indiqués. Pour plus de détails, se référer au **tableau 1**. Flèche vers le bas : diminution ; flèche vers le haut : augmentation ; flèche à double sens : basculement.

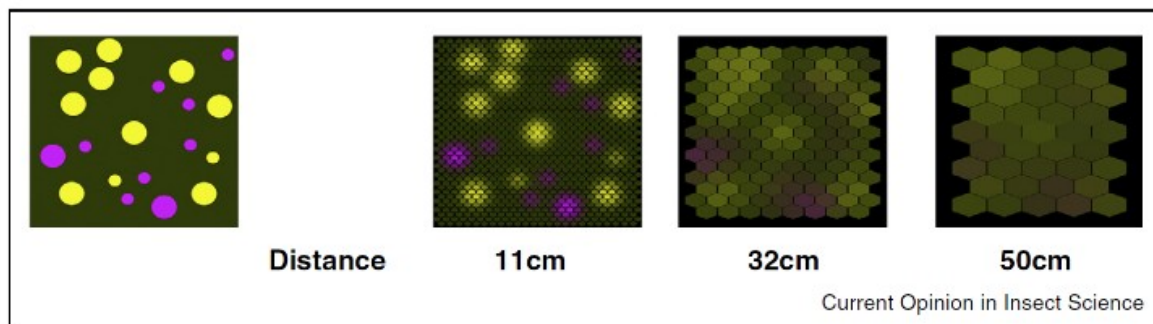


Figure 10 : Simulation de la vue d'un ensemble de fleurs (cercles jaunes et violets) par une *Apis mellifera*.

La fleur cible est la fleur jaune centrale, supposée faire 1 cm de diamètre. A 11 cm, la fleur cible est détectée (la distance minimum pour être détectable étant de 11.5 cm), bien que sa couleur ne puisse pas encore être identifiée. A 32 cm, la fleur cible n'est pas détectable, mais l'ensemble de fleurs forme un agrégat détectable. A 50 cm, ni la fleur cible ni l'ensemble de fleurs ne sont détectables. Source : Hempel de Ibarra et al. (2015).

5.1.2. Diminution de la complémentarité fonctionnelle

Un autre aspect qui pourrait engendrer une relation négative en intensification agricole et fonction de pollinisation provient des prédictions des relations qui ont été proposées entre diversité fonctionnelle et fonctionnement des écosystèmes. En effet, une relation positive entre diversité fonctionnelle et fonctionnement de l'écosystème est attendue si la complémentarité fonctionnelle entre les espèces d'une communauté permet une utilisation plus complète des ressources disponibles (Mason et al., 2005). Dans le cas des interactions plantes-pollinisateurs, une relation positive entre diversité fonctionnelle des traits floraux et fréquence des interactions peut donc être attendue grâce à un meilleur partitionnement entre plantes mais aussi entre pollinisateurs et une meilleure complémentarité entre les niches à la fois des plantes et des pollinisateurs sur la base de leurs traits d'interaction (Blüthgen and Klein, 2011).

Matching traits categories	Matching traits	Function	Agricultural practices or land-use index	Effect	Number of grasslands	Knowledge level	Country	References
 Signals		Allow communication between plants and pollinators and thus interaction between them. Signals generate sensory experiences for pollinators that are different from an animal species to another						Junker & Parachnowitsch, 2015 ; Song & Lee, 2018
	Colour (hue)	Detection from background (van der Kooi et al., 2018)	LUI	Shift toward white	69	T - D	Germany	Binckenstein et al., 2013
	Photoreceptors and visual system	Matching level between visual system and colour	LUI	-	119	NT - I	Germany	Renoult et al., 2015
	VOC emitted	Detection of flower (Junker & Parachnowitsch, 2015)	Grazing and fertilization	None	2	T - D	France	Comu et al., 2015
	ND	Odour preferences	Not tested	ND		NT - I		
 Exploitation barrier		Prohibit interaction with a pollinator if its own matching traits are not adapted						Vázquez, Chacoff, & Cagnolo, 2009
	Nectar tube depth	Threshold to be reached by pollinator mouthpart length (Stang, Klinkhamer, Waser, Stang, & van der Meijden, 2009)	LUI	-	40	NT - D	Germany	Weiner, 2016 Kühnel and Blüthgen, 2015
	Relative proboscis length	Depth of exploitable flowers	LUI	-	40	T - D	Germany	Kühnel, 2015
 Rewards		Essential food for pollinators. They gather mainly nectar as source of carbohydrates and pollen as source of proteins. Rewards are linked with pollinator matching traits which inform for instance on their food needs						Michener, 2007; Woodcock, Larson, Kevan, Inouye, & Lunau, 2014; Vaudo, Tooker, Grozinger, & Patch, 2015
	Nectar production	Total quantity of sugar in a grassland (Hicks et al., 2016)	Nitrogen deposition	-	768	T - I	Great-Britain	Baude et al., 2016
			Livestock Unit/ha/year	-	561	T - D	Scotland	Pakeman et al., 2017
	Pollen production	Total quantity of pollen in a grasslands	LUI	-		T - I	Germany	Weiner, Werner, Linsenmair, & Blüthgen, 2014 ; Weiner, Werner, Linsenmair, & Blüthgen, 2011
			Livestock Unit/ha/year	-	561	T - D	Scotland	Pakeman et al., 2017
	Body size	Quantity of pollinator food needs	LUI	-	40	T - D	Germany	Kühnel, 2015
	Phenology	Temporal availability of rewards (Vasquez et al., 2005)	Mowing, grazing, fertilization	- (i.e. advances) or none	33	T - D	France	Garnier et al., 2007
			Livestock Unit/ha/year		561	T - D	Scotland	Pakeman et al., 2017
	Sociability level	Duration of the breeding period	Not tested	-				
	Nectar sugar concentration and nectar viscosity	Nectar feeding rate (Nicolson & Thornburg, 2007)	Not tested	+		NT - I		
	Anatomy of mouthpart	Adaptation to liquid viscosity	LUI	Shift toward sponging-sucking	40	NT - I	Germany	Kühnel, 2015 Krenn et al., 2005
	Pollen aminoacid concentration and protein content	Pollen quality (Filipiak, 2018)	LUI	-	40	NT - I	Germany	Kühnel and Blüthgen, 2015 Goulson, 2010
	Pollinator stoichiometric niche	Quality of pollinator food needs	Not tested	-		NT - I		

Tableau 1 : Récapitulatif des effets connus et théoriques de l'intensification agricole sur les traits d'interactions plantes-pollinisateurs.

Un effet négatif est indiqué par un - ; positif par un +. Le niveau de connaissance concernant ces effets peut être : testé dans la littérature (T), non testé dans la littérature (NT), indirect (I) ou direct (D).

Cependant, l'idée de mesurer la complémentarité fonctionnelle à partir de la diversité fonctionnelle implique de bien définir cette dernière. En effet, la diversité fonctionnelle permet de mesurer la distribution et l'amplitude de la fonction des organismes au sein des écosystèmes. Elle intègre la complémentarité et la redondance des espèces échantillonnées dans les communautés (Schleuter et al., 2010). La diversité fonctionnelle comprend plusieurs aspects dont les plus communément étudiés sont la richesse fonctionnelle (i.e. le niveau d'occupation de l'espace fonctionnel par les espèces échantillonnées), l'équitabilité fonctionnelle (i.e. le niveau de régularité de la distribution des espèces au sein de l'espace fonctionnel) et la divergence fonctionnelle (i.e. à quel point les espèces à forte abondance sont éloignées du centre de l'espace fonctionnel). Ces trois composantes se rattachent à la complémentarité de niche : la richesse fonctionnelle renseigne sur les espaces utilisés au sein de l'espace fonctionnel total (une faible richesse fonctionnelle pouvant indiquer que certaines ressources potentiellement disponibles ne sont pas utilisées par les espèces présentes dans la communauté), l'équitabilité fonctionnelle sur le niveau d'utilisation des ressources (une faible équitabilité signifiant que certaines parties de l'espace fonctionnel sont occupées mais sous-utilisées), la divergence fonctionnelle sur le degré de différenciation de niche entre les espèces présentes (une faible divergence fonctionnelle indiquant une faible différenciation de niche et donc un fort niveau de compétition pour les ressources disponibles) (Mason et al., 2005; **figure 11**).

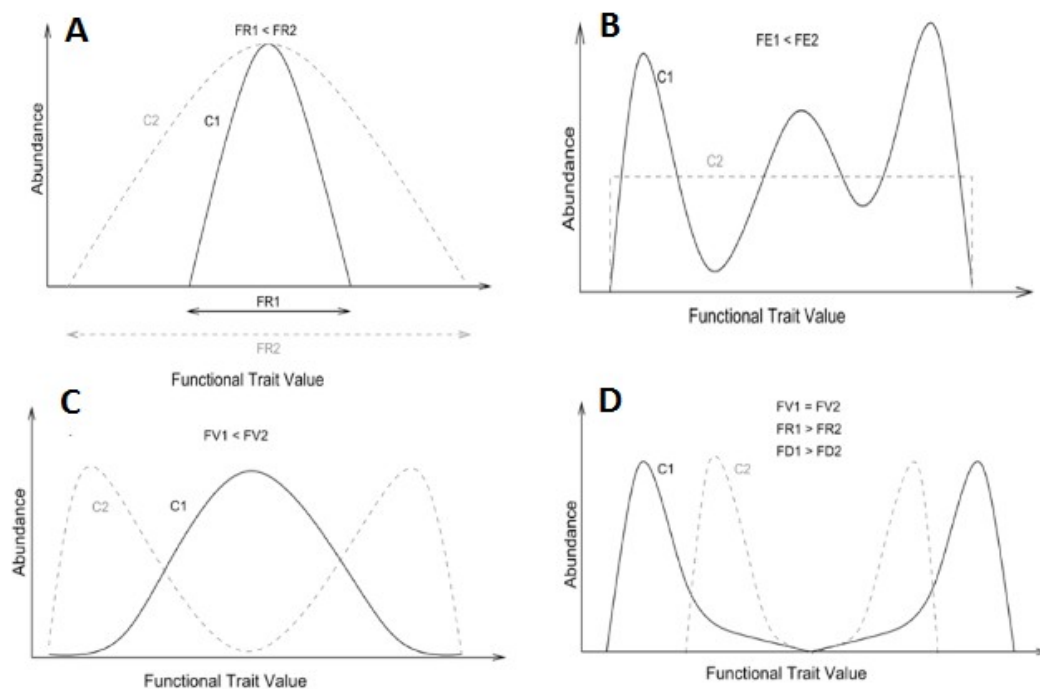


Figure 11 : Schéma de différentes composantes de la diversité fonctionnelle.

L'axe des x représente les valeurs d'un trait prises par les espèces d'une communauté. L'axe des y représente

l'abondance des espèces au sein de la communauté représentée. Deux exemples de communautés (C1 et C2) avec des situations de diversité fonctionnelle opposées sont représentées. A) Richesse fonctionnelle ; B) Equitabilité fonctionnelle ; C) Divergence fonctionnelle ; D) Dispersion fonctionnelle (ex : entropie de Rao). Source : Taugourdeau (2014).

De nombreux indices se rapportent à la diversité fonctionnelle (ex : Mouchet et al., 2010; Schleuter et al., 2010). Parmi eux, certains mesurent séparément ces trois grandes composantes de la diversité fonctionnelle, alors que d'autres sont des indices qui agglomèrent plusieurs informations, rendant leur interprétation plus compliquée. C'est le cas notamment de l'indice d'entropie quadratique de Rao qui peut être employé pour calculer l'entropie fonctionnelle d'une communauté. Cet indice correspond à la somme des distances fonctionnelles entre chaque paire d'espèces pondérée par leurs abondances, mais dépend à la fois de la richesse fonctionnelle et de la divergence fonctionnelle (Mouchet et al., 2010). Cependant, dans certains cas de figures, ces indices peuvent être les seuls utilisables (Mouchet et al., 2010). De plus, certains indices sont corrélés à la richesse spécifique, ou avec une distribution montrant une réduction des valeurs possibles avec une augmentation de la richesse spécifique (Swenson, 2014). Dans le but de créer des indices de « pure » diversité fonctionnelle, i.e. affranchis de la richesse spécifique, il peut être nécessaire d'avoir recours aux modèles nuls (Mouchet et al., 2010; Schleuter et al., 2010; Swenson, 2014).

Peu d'études ont relié l'intensification agricole à la diversité fonctionnelle des traits floraux. Par exemple, Binkenstein et al. (2013) ont pu montrer un effet négatif de l'intensification agricole sur la diversité des couleurs florales sur une partie des régions du BEP qu'ils ont étudiées. D'autres éléments plus indirects peuvent laisser penser à cet effet négatif. En effet, comme montré précédemment, l'intensification agricole peut réduire la diversité taxonomique des plantes entomophiles, ainsi que la diversité fonctionnelle des plantes. Il est donc possible que cette sous-dispersion des traits de réponses engendre également une sous-dispersion des traits floraux si les deux sont corrélés. La diversité taxonomique est positivement corrélée avec la diversité fonctionnelle des traits floraux dans l'une des seules études ayant eu une vision holistique des traits floraux, i.e. assemblant signaux, barrières à l'exploitation et récompenses (Fornoff et al., 2017). Cependant, cette étude n'intègre pas les traits végétatifs.

En outre, les deux seules études ayant testé les relations entre diversité fonctionnelle des traits floraux et fréquence des interactions plantes-pollinisateurs ont trouvé une relation négative. Ces deux études étaient basées sur des sites expérimentaux constitués de micro-parcelles avec

assemblages d'espèces suivant un gradient de diversité (Jena : Fornoff et al., 2017; Gembloux : Uyttenbroeck et al., 2017) et ont montré des communautés de pollinisateurs relativement peu diversifiées et dominées par des pollinisateurs généralistes (*Apis mellifera* et bourdons). Ces éléments pourraient expliquer cette relation négative entre diversité fonctionnelle des traits floraux et interactions plantes-pollinisateurs. Ils justifient donc la nécessité d'aborder ces relations dans des milieux naturels, mais aussi d'inclure les traits d'interactions des pollinisateurs afin de mieux considérer le phénomène de complémentarité de niche en ne se focalisant pas que sur les plantes. Cependant, une relation positive entre biodiversité et fonction de pollinisation a tout de même déjà été soulignée au travers de la relation positive entre complémentarité fonctionnelle des pollinisateurs et fonction de pollinisation, mais en maintenant l'abondance des pollinisateurs constante (ex : Fontaine et al., 2005; Fründ et al., 2013).

5.2. Conséquences sur la stabilité de la fonction de pollinisation

Les interactions plantes-pollinisateurs forment des réseaux bipartites, quantitatifs ou non. Au sein de ces réseaux, les espèces de plantes et de pollinisateurs sont les nœuds, et chaque interaction constitue une arête. A partir de ces réseaux, il est possible de calculer des indices qui informent sur la structure des réseaux qui peuvent être interprétés écologiquement, notamment quant à la stabilité de la fonction de pollinisation face à la perte d'espèces qui suit, par exemple, des perturbations. La structure des réseaux implique de nombreux facteurs parmi lesquels l'abondance relative des espèces en interaction, ainsi que leurs traits d'interactions. Il est aussi possible d'appliquer les mêmes concepts de complémentarité/redondance fonctionnelle en s'appuyant sur ces réseaux. Ainsi, un réseau avec un fort niveau de modularité pourra être constitué d'espèces complémentaires fonctionnellement entre les modules, mais redondantes au sein des modules (Dormann et al., 2017), et présentera une stabilité moindre qu'un réseau complètement redondant (Schleuning et al., 2015). Cependant, de nombreux processus écologiques autre que la complémentarité de niches (ex : compétition) tout comme le hasard peuvent générer des modules, rendant leur interprétation délicate (Dormann et al., 2017).

Le niveau de complémentarité fonctionnelle peut aussi être mis en évidence par le calcul d'indices de spécialisation qui renseigne également sur la stabilité de la fonction de pollinisation. Ainsi, plus un réseau est spécialisé, plus il est constitué d'espèces complémentaires fonctionnellement, et plus l'ensemble de la fonction de pollinisation est menacé en cas d'extinction de membres du

réseau (Blüthgen and Klein, 2011). Les traits d'interactions ont été incorporés pour expliquer ces niveaux de spécialisation, et la structure des réseaux de manière plus large, par exemple couleur des fleurs et systèmes visuels des insectes chez Renoult et al. (2015) ; longueur de langue et profondeur des tubes à nectar chez (Stang et al., 2009, 2006). Cependant, ces études sont encore rares lorsqu'elles mêlent de multiples espèces de pollinisateurs et de plantes dans des écosystèmes prairiaux. De plus, les études impliquant les traits d'interactions se rapportant aux récompenses et donc au métabolisme des pollinisateurs sont quasiment inexistantes, malgré l'importance de ces traits pour comprendre l'occupation des niches par les pollinisateurs.

De plus, au cours des précédents paragraphes, nous avons suggéré que l'intensification pourrait générer une généralisation des traits floraux, i.e. des traits floraux caractérisant des fleurs dont la détection et le traitement des signaux ne nécessitent pas un système sensoriel spécifique d'un groupe de pollinisateurs, dont l'accessibilité à la ressource est rendue possible pour la plupart des pollinisateurs du fait de tubes à nectar peu profond, et dont les ressources en elles-mêmes sont de qualité moyenne, rendant des interactions opportunistes possibles avec de nombreux pollinisateurs. Cette généralisation des traits floraux pourrait donc entraîner une généralisation des réseaux d'interactions plantes-pollinisateurs. En outre, la diminution probable de la diversité fonctionnelle des traits floraux avec l'intensification pourrait générer des réseaux d'interactions avec un faible niveau de complémentarité fonctionnelle du fait d'un fort niveau de recouvrement de niches entre les espèces de plantes sur la base de leur traits floraux. Ainsi, la généralisation et la simplification des réseaux d'interactions des prairies intensives actuelles pourraient refléter les pertes d'espèces de réseaux plus complexes autrefois présents, mais toujours existant dans les prairies actuellement peu intensives.

Cependant, les rares études ayant fait le lien entre intensification agricole et complémentarité fonctionnelle (mesurée par l'indice de spécialisation $H2'$) n'ont pas trouvé de diminution de la complémentarité fonctionnelle avec l'intensification agricole. La complémentarité fonctionnelle restait globalement élevée (i.e. $H2' > 0,5$), bien qu'il y eût une diminution de la diversité taxonomique des plantes (Weiner et al., 2014). Une absence de relation entre complémentarité fonctionnelle et diversité taxonomique des plantes est aussi reportée par (Fründ et al., 2010), même si ces résultats restent controversés notamment par des résultats issus de simulations (Junker et al., 2015).

Il est possible d'expliquer cette absence de relation dans les précédentes études d'observation. En

effet, une espèce de pollinisateur peut être spécialiste lors d'une session d'échantillonnage locale, mais généraliste lorsque l'on considère l'ensemble des sessions d'échantillonnage. Ces spécialisations locales peuvent par exemple résulter des comportements de fidélité limitée dans le temps d'un pollinisateur (ici un individu) pour une espèce de plante au cours d'une période de butinage (Armbruster, 2017). Ce type de comportement, bien que très variable selon les individus, ne semble pas être limité aux seuls abeilles (Inouye et al., 2015). De plus, la spécialisation locale peut aussi résulter de la compétition interspécifique entre pollinisateurs, qui favorise la fidélité pour une espèce de plante (Brosi and Briggs, 2013). Il est donc nécessaire de bien définir le niveau d'organisation (individu, population, espèce ou communauté) ainsi que l'échelle temporelle auxquels se rapporte la mesure du niveau de spécialisation d'un réseau plantes-pollinisateurs (résumé notamment par Armbruster, 2017). Par exemple, dans les études de Weiner et al. (2014) et Fründ et al. (2010), le niveau de spécialisation se rapporte à une communauté locale et échantillonnée à un instant donné.

5.3. Conséquences sur l'efficacité par interaction

Bien que la fréquence des interactions plantes-pollinisateurs soit utilisée comme approximation du flux de transfert de pollen, différentes mesures plus précises de potentiel de flux de transfert ont été proposées. Ces mesures donnent des informations sur la qualité des interactions, alors que la fréquence des interactions est avant tout une mesure quantitative de la fonction de pollinisation (Ollerton, 2017). L'importance de cette dimension qualitative de la fonction de pollinisation a été récemment soulignée (Ballantyne et al., 2017; Schleuning et al., 2015). Ainsi, la qualité des interactions peut être mesurée par la quantité de pollen déposée par un pollinisateur au cours d'une interaction sur une fleur fraîchement ouverte (Single Visit Deposition ou SVD ; King et al., 2013). Une mesure moins précise d'un potentiel de flux de pollen consiste en la quantification des grains de pollen transportés par un pollinisateur (charge en pollen ; Kearns and Inouye, 1993) en prenant généralement soin d'éviter les zones de stockage du pollen lorsqu'elles sont présentes (ex : corbicula et scopa). De plus, SVD et pollen load peuvent être corrélés (ex : Stavert et al., 2016). Cependant, l'une des limites du pollen load est de faire correspondre la quantité de grains de pollen transporté par un pollinisateur avec le nombre de grains qui seront effectivement déposés sur les stigmates des fleurs visitées, cette quantité dépendant notamment de la position des stigmates des fleurs qui varient fortement entre familles taxonomiques par exemple (Harder and Barrett, 1996).

Afin d'accroître notre compréhension de la fonction de pollinisation dans les prairies permanentes, ainsi que les conséquences de l'intensification agricole sur cette fonction et donc notre capacité à prédire des changements de niveau de fonction de pollinisation, il peut être pertinent de s'appuyer sur un autre type de trait fonctionnel : les traits d'effets (Lavorel and Garnier, 2002). Les traits d'effets des pollinisateurs ne sont pas encore bien établis aujourd'hui (Bartomeus et al., 2018), bien que de récentes études aient montré une relation positive entre SVD ou pollen load et pilosité des pollinisateurs (Phillips et al., 2018; Stavert et al., 2016; on emploiera ici les termes poils et pilosité pour les insectes, bien que ces termes soient issus des terminologies anglo-saxonnes, ex : soie et non pas poil en Français). Cependant, ces études n'ont porté que sur trois espèces cultivées (*Brassica napus*, *Brassica rapa*, *Actinidia deliciosa*), proches d'un point de vue morphologique (i.e. fleurs actinomorphes) et même proches phylogénétiquement pour *B. napus* et *B. rapa*. De plus, elles ne sont pas fondées sur la même méthode, l'une s'appuyant sur des approches numériques (figure 12), l'autre sur un dénombrement des poils.

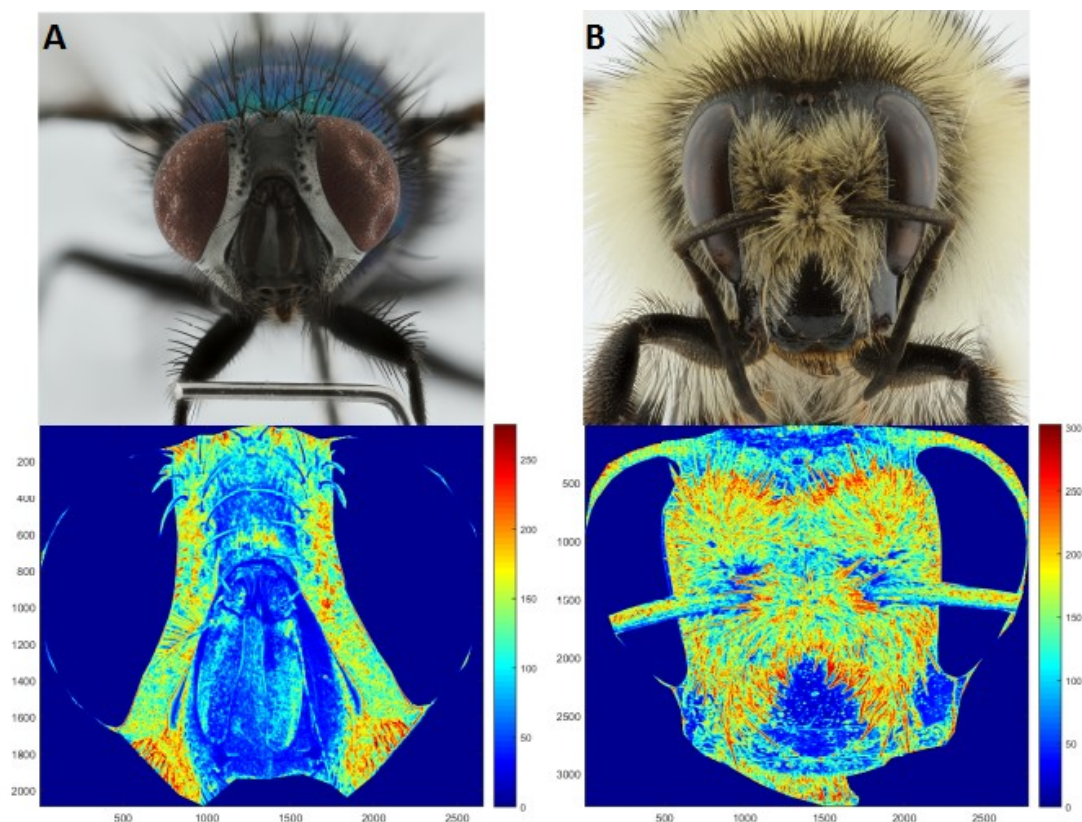


Figure 12 : Exemples de mesures de pilosité obtenues avec la méthodologie utilisée par Stavert et al. (2016).

Cette méthodologie a été employée au cours de cette thèse. Macrophotographie et détection de la pilosité de A) *Lucilia silvarum* (Caliphoridae) au grossissement x5 et B) *Bombus sylvarum* (Apoidae) au grossissement x4,5. Les yeux des insectes ont été découpés avant traitement de l'image. Plus la couleur est rouge, plus la pilosité est forte (méthode basée sur le calcul d'un indice d'entropie de Shannon, i.e. plus l'indice de Shannon est fort, plus il est nécessaire d'avoir d'information pour délivrer l'information, ce qui se traduit ici par une plus forte pilosité).

Or, Kühsel (2015) a trouvé une diminution du CWM de la pilosité des pollinisateurs avec l'intensification agricole (méthode basée sur une estimation du pourcentage de pilosité en prenant en compte la pilosité de la tête ainsi que des parties supérieures et postérieures du thorax et de l'abdomen). Cette diminution pourrait être liée à une modification de la composition des communautés de pollinisateurs, i.e. une augmentation de l'abondance relative des Diptères avec l'intensification (**figure 13**), ces derniers étant en moyenne moins pileux que les abeilles et les Lépidotères (Kühsel, 2015).

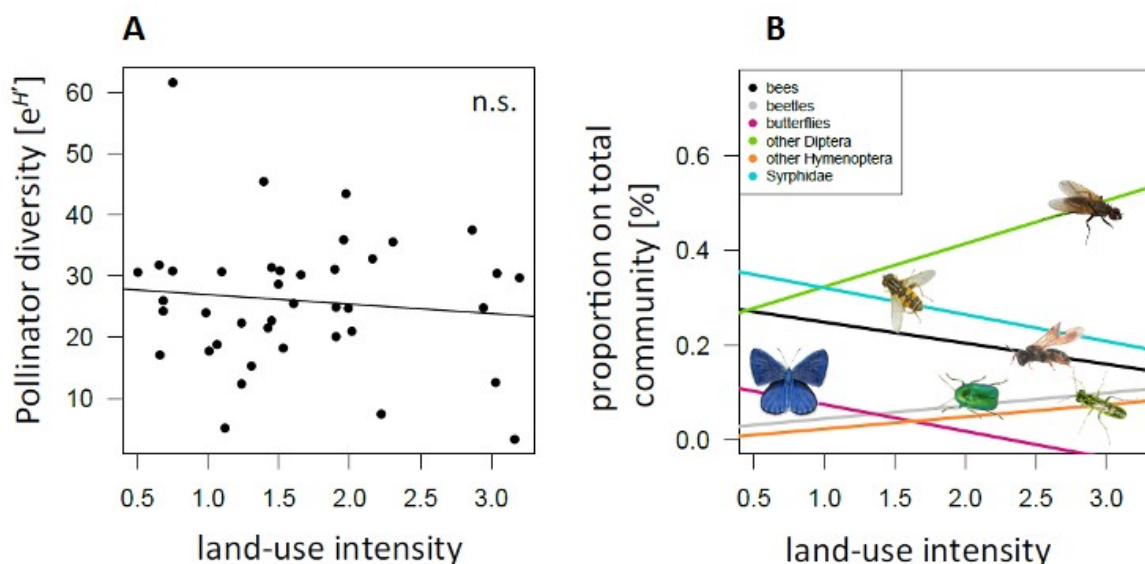


Figure 13 : Diversité et composition des pollinisateurs en fonction de l'intensité agricole.

Relations entre A) diversité taxonomique des pollinisateurs (exponentiel de l'indice de Shannon pondéré par l'abondance des pollinisateurs) et intensification agricole mesurée par le LUI et B) Proportion des différents groupes de pollinisateurs et intensification agricole. Source : Kühsel (2015).

La taille corporelle des pollinisateurs a aussi été soulignée comme étant un possible trait d'effet avec une relation positive entre SVD et taille corporelle pour différentes espèces cultivées : la pastèque (mais pas pour le myrtillier ni pour la canneberge ; Bartomeus et al., 2018), ainsi que pour le colza (*B. rapa* ; Phillips et al., 2018). La diminution du CWM de la taille corporelle avec l'intensification montrée par Kühsel (2015) pourrait suggérer une diminution du potentiel de transfert de pollen et donc de fonction de pollinisation avec l'intensification. Cependant, qu'il s'agisse de la taille corporelle ou de la pilosité, les données sont manquantes pour les plantes sauvages rencontrées en prairie et qui couvrent une diversité de morphologies florales potentiellement bien plus importante.

De plus, il est nécessaire de souligner les limites de la quantité de pollen transportée ou déposée

par les pollinisateurs comme mesures de la dimension qualitative des interactions plantes-pollinisateurs. En effet, le terme de qualité peut aussi se référer à la qualité du pollen transmis. Outre le transport et le dépôt de pollens hétérospécifiques qui peut inhiber chimiquement ou physiquement la fertilisation ou de pollens conspécifiques auto-incompatibles (Wilcock and Neiland, 2002), la qualité du pollen transmis implique la prise en compte du flux de gènes (Schleuning et al., 2015). Une grande partie du pollen qu'un pollinisateur accumule sur son corps lors d'une interaction sera déposée sur les quelques fleurs suivantes avec lesquelles il entrera en interaction bien que la majorité des informations disponibles le soit pour les abeilles et en particulier les bourdons (Cane and Love, 2018). De plus, il est fréquent que le pollinisateur dépose ce pollen sur des fleurs faiblement distantes de celle sur laquelle il aura récolté le pollen (Devaux et al., 2014). Ainsi, en plus de la quantité de pollen transporté ou déposé par interaction, il est nécessaire de prendre en compte le flux de gènes pour mieux appréhender la dimension qualitative des interactions plantes-pollinisateurs.

6. Facteurs pouvant limiter les relations proposées

Il convient de noter que certains facteurs pourraient tamponner les relations que nous avons proposés au cours de cette synthèse bibliographique. En effet, la reproduction sexuée n'est pas la seule voie de multiplication des plantes. Ainsi, des plantes, sans posséder des traits floraux généralistes, pourraient se maintenir et prospérer dans les prairies même avec un fort niveau d'intensité si elles possèdent des alternatives à la pollinisation, comme la multiplication par voie végétative au travers de stolons, rhizomes et bulbes ou encore l'auto-pollinisation (Pellissier et al., 2012). L'effet de masse pourrait aussi permettre à des plantes peu adaptées ou peu compétitives dans une prairie fortement intensive de se maintenir dans le milieu si une charge en propagules suffisante est fournie par exemple par une prairie adjacente moins intensive. De plus, l'abondance des pollinisateurs ainsi que leurs traits d'interactions et d'effets sont impactés par d'autres facteurs que la seule intensification locale. En particulier, la structure du paysage impacte fortement la valeur de ces caractéristiques, avec des effets contradictoires possibles entre intensification locale et intensification à l'échelle du paysage (De Palma et al., 2015; Gámez-Virués et al., 2015; Senapathi et al., 2017; Steffan-Dewenter et al., 2002). Ainsi, de futures études seront nécessaires pour démêler les effets locaux des effets du paysage. Cependant, au cours de cette thèse, nous avons fait le choix de chercher à uniformiser au mieux le paysage afin de nous concentrer sur les effets des caractéristiques locales, et notamment de l'intensification agricole à cette échelle

spatiale.

7. Contexte et objectifs de la thèse

Bien que les connaissances des effets négatifs de l'intensification agricole sur la diversité taxonomique des plantes ainsi que sur la diversité fonctionnelle des traits végétatifs soient développées, notre synthèse bibliographique a souligné le peu de connaissances disponibles sur les impacts de l'intensification agricole sur la diversité fonctionnelle et le CWM des traits floraux. Nous avons également mis en évidence le peu de données disponibles sur les conséquences potentiellement importantes de ces impacts sur les communautés de pollinisateurs. Or, le déclin actuel des pollinisateurs sauvages est régulièrement relié à une perte générale de ressources en termes de nourriture et de nidification. Cependant, ces effets négatifs de la perte de ressources sont essentiellement étudiés à une échelle paysagère, mais peu à l'échelle locale malgré l'importance potentielle de celle-ci. De plus, une approche mécaniste reposant sur les traits floraux, mais aussi sur les traits d'interactions des pollinisateurs, est rarement employée malgré sa capacité à permettre une meilleure compréhension et prédiction des perturbations engendrées par les activités humaines sur les écosystèmes (semi)-naturels, leur fonctionnement et leur stabilité. En retour, les capacités de transport et de dépôt de pollen des pollinisateurs, i.e. leur potentiel à accomplir la fonction de pollinisation, varient fortement entre ordres, espèces et mêmes individus. Cependant, peu de données sont actuellement disponibles sur les traits d'effets qui renseignent sur ces capacités pour des ensembles de plantes et de pollinisateurs sauvages, malgré une compréhension accrue des relations entre traits d'effets et service de pollinisation pour quelques plantes cultivées.

Dans ce contexte, mes objectifs au cours de cette thèse sont :

- (1)** d'étudier les effets de l'intensification agricole sur la fonction de pollinisation en intégrant ces effets en cascades sur les traits floraux et les traits des pollinisateurs agrégés à l'échelle des communautés,
- (2)** de tenter de généraliser deux traits d'effets de pollinisateurs récemment mis en évidence pour des plantes cultivées à un ensemble de plantes sauvages communément rencontrées en prairies permanentes.

Plus précisément, il s'agira de répondre aux questions suivantes, et résumées dans la **figure 14**,

chacune faisant chacune l'objet d'un chapitre présenté sous la forme d'un article scientifique :

- **Chapitre 2 (article soumis)**

Questions : Comment l'intensification agricole et les caractéristiques du sol influencent la diversité fonctionnelle et le CWM des traits floraux ainsi que le recouvrement total en fleur ? Comment la diversité fonctionnelle et le CWM des traits floraux ainsi que le recouvrement total en fleur influencent la fréquence des interactions plantes-pollinisateurs, proxy de la fonction de pollinisation ?

Hypothèses : Au cours de ce chapitre, nous avons comme hypothèse que l'intensification agricole ainsi que la fertilité des sols (N et P totaux) diminuent la diversité fonctionnelle des traits floraux, ainsi que l'attractivité visuelle et la disponibilité en récompenses pour les pollinisateurs à cause d'une diminution du CWM des traits floraux et du recouvrement total en fleurs. Nous faisons également l'hypothèse que ces influences négatives engendrent une diminution de la fonction de pollinisation.

Titre du chapitre : **La diversité fonctionnelle des traits floraux est liée aux caractéristiques du sol et influence positivement la fonction de pollinisation dans un ensemble de prairies permanentes**

- **Chapitre 3 (article en préparation)**

Questions : La diversité fonctionnelle de la masse corporelle des pollinisateurs ainsi que le CWM de ce trait peuvent-ils être expliqués par la diversité fonctionnelle des traits floraux ? Quel est le rôle du sucre produit par le nectar dans ces relations ? La complémentarité fonctionnelle des réseaux d'interactions plantes-pollinisateurs est-elle influencée par ces traits d'interactions ?

Hypothèses : Au cours de ce chapitre, nous avons comme hypothèses que la diversité fonctionnelle de la masse corporelle des pollinisateurs est associée à la diversité fonctionnelle des traits floraux et en particulier de la production de sucres par le nectar en 24h. Nous nous attendons à trouver des relations semblables avec le CWM de ces différents traits. A défaut, nous avons comme hypothèse qu'au moins la diversité taxonomique des pollinisateurs est associée à la diversité fonctionnelle totale des traits floraux.

Titre provisoire du chapitre : **La masse des pollinisateurs et leur diversité taxonomique sont positivement influencées par la production de sucre par le nectar**

- **Chapitre 4 (article soumis)**

Questions : Est-ce que la taille corporelle et la pilosité, récemment mis en évidence comme traits d'effets chez quelques espèces cultivées, sont également des traits d'effets pour la fonction de pollinisation de plantes sauvages de milieux prairiaux ? Est-ce que la production de grains de pollen par les fleurs visitées influence les relations entre ces traits et la quantité de pollen transportée?

Hypothèses : Au cours de ce chapitre, nous nous concentrons uniquement sur la face des pollinisateurs. Nous avons comme hypothèse que la quantité de pollen transporté par la face des pollinisateurs augmente avec la surface et la pilosité de la face des pollinisateurs. Nous faisons également l'hypothèse que la production de pollen par les fleurs visitées augmente aussi la quantité de pollen transporté.

Titre du chapitre : **La surface et la pilosité de la face des pollinisateurs influencent positivement la quantité de pollen présente sur cette zone corporelle**

Afin de répondre à ces questions, nous avons réalisé des protocoles expérimentaux et d'observation (**figure 14**) à partir d'un réseau de 16 prairies permanentes (représentées en **figure 15**) que nous avons mis en place, toutes situées dans un rayon de 12 km et proches de Sarrebourg, en Moselle (France). Les protocoles utilisés sont détaillés au sein de chaque chapitre, et sont également résumés ci-dessous :

- **Protocoles de sélection des parcelles**

Nous avons sélectionné les prairies suivies afin d'homogénéiser au mieux le paysage les entourant selon quelques caractéristiques importantes. En effet, les caractéristiques du paysage influencent fortement les communautés de pollinisateurs et notamment leur abondance et leur diversité. En particulier, le pourcentage d'habitats semi-naturels influence positivement la richesse spécifique et l'abondance d'abeilles sauvages (e.g. Steffan-Dewenter et al., 2002), alors que le pourcentage de terres arables influence négativement la richesse spécifique des plantes (Papanikolaou et al., 2017). Ainsi, par SIG, j'ai sélectionné les ilots constitués à 100 % de prairies permanentes en Meurthe-et-Moselle et en Moselle dont le paysage dans un rayon de 1000 m autour de leur centroïde était constitué de plus de 30 % d'habitats semi-naturels (rang des valeurs : 32 à 82%) et moins de 30 % de grandes cultures (rang des valeurs : 0.69% à 25.05%). La valeur de 30%

d'habitats semi-naturels est un seuil proposé par différents auteurs au-delà duquel le pourcentage d'habitats favorables dans le paysage n'aurait plus d'influence sur la pollinisation de différentes espèces cultivées (Shackelford et al., 2013). De plus, les prairies sélectionnées devaient être caractérisées par une absence de grande culture à 200 m au minimum de la bordure des prairies (ou à 200 m de la bordure du transect pour deux prairies). Cette valeur a été choisie afin de minimiser la déposition aérienne de pesticides (Jong et al., 1991). Le choix des prairies a ensuite été validé visuellement sur le terrain, notamment afin d'écarter les prairies trop dégradées et de s'assurer de la validité des sélections par SIG. J'ai également utilisé Google Street View © afin de détecter la présence éventuelle de prairies retournées ou de traces évidentes de pâturage exclusif. En effet, afin de rendre plus facile le suivi des prairies à l'année, nous avons choisi de ne travailler que sur des prairies de fauche exclusive ou de fauches puis pâture. De plus, les prairies sélectionnées étaient distantes d'au moins un kilomètre afin de limiter l'auto-corrélation spatiale entre les communautés de pollinisateurs. Afin d'acquérir des informations plus précises sur la gestion des prairies, nous avons mené une première série d'enquêtes auprès des agriculteurs sur leurs pratiques et modes de gestion, qui a été poursuivie par la suite pour déterminer un indice d'intensité, et qui a permis de sélectionner dans un premier temps les prairies afin d'avoir un niveau d'intensité agricole contrasté. Au cours de ces enquêtes, nous avons également cherché à évaluer la présence et la densité de ruches autour des prairies sélectionnées. Cependant, ces informations n'étaient pas disponibles. Sur l'ensemble des 16 prairies ainsi sélectionnées, 14 caractéristiques des sols des prairies ont été mesurées (humidité résiduelle à 105°C, C/N, matière organique, CaCO₃ total, azote totale, carbone organique, pH, P₂O₅, cinq fractions de granulométrie et enfin capacité d'échange cationique) afin de pouvoir prendre en compte ces facteurs connus pour influencer les communautés végétales et pouvant être liés en partie aux pratiques agricoles notamment passées (ex : phosphore liée à sa forte rémanence dans les sols; (Helsen et al., 2014), là où les seules enquêtes ne donnent qu'un aperçu plus récent du niveau d'intensité des prairies. Sur ces 14 variables, nous nous sommes focalisés sur sept d'entre elles (azote totale, carbone organique, pH, P₂O₅, quantité d'argile, quantité de limons totaux et quantité de sables totaux) afin d'éviter une redondance d'informations lorsque que nous avons résumé les caractéristiques du sol à l'aide d'une analyse en composantes principales.

- **Protocole de capture des insectes pollinisateurs et d'estimation des recouvrements fleuris**

De Mai à Août 2017, j'ai constitué des réseaux visuels d'interactions plantes-pollinisateurs le long

de transects de 400 m² (4m de large x 100 m de long) au centre de chaque parcelle ou station homogène. Au cours de ces sessions d'échantillonnage qui avait lieu entre 10H00 et 18H00, je captuais les insectes butinant clairement les fleurs à l'aide d'un filet pendant 15 minutes nettes (le chronomètre était coupé entre chaque manipulation d'insecte) par beau temps afin d'avoir des activités similaires d'insectes (température > 18 °C, absence de vent, ciel dégagé ; Ebeling et al., 2008). Le nombre d'insectes ainsi capturé est relatif à une unité de temps et une surface et informe donc sur la fréquence des interactions plantes-pollinisateurs, approximation de la fonction de pollinisation (Bartholomée and Lavorel, 2019). Cependant, ces insectes sont des visiteurs de fleurs sans que l'on puisse confirmer avec certitude leur caractère de pollinisateurs (King et al., 2013). Le terme de pollinisateurs est fréquemment employé dans la littérature pour caractériser ces insectes (ex : Weiner et al., 2014) et c'est ce terme que nous emploierons par la suite. Les insectes capturés étaient conditionnés à 4°C sur le terrain dans une glacière, puis à -20°C au laboratoire. Suite aux captures, j'estimais le recouvrement fleuri des différentes espèces de plantes en fleur au pourcent près (Fornoff et al., 2017) à l'aide de sept quadrats d'un m² placé régulièrement le long de chaque transect à chaque session d'échantillonnage. Initialement, cinq sessions d'échantillonnage par prairie étaient prévues. Cependant, les activités des agriculteurs ont contraint l'échantillonnage de certaines sessions. Ainsi, chaque prairie a été échantillonnée de trois à cinq fois, avec un total de 70 échantillonnages. A l'exception d'une prairie dont les plantes en fleur étaient caractéristiques des prairies humides (*Trifolium fragiferum*, *Achillea ptarmica*, *Jacobea aquatica*), les autres prairies semblaient de type mésophile et les plantes en fleurs qui caractérisaient les prairies, bien que variables entre communautés, montraient une forte structure temporelle (**figure 16**).

- **Protocoles de mesures des traits floraux**

Nous avons échantillonné les plantes en interactions ou présentes en fleur lors de l'estimation des recouvrements fleuris. Un ensemble de traits floraux se rapportant à trois grandes catégories ont été mesurées directement sur le terrain ou au laboratoire après prélèvement des individus. Ces trois grandes catégories correspondent aux étapes séquentielles menant à une interaction plante-pollinisateurs et permettant de caractériser la niche des plantes et des pollinisateurs (Junker and Parachnowitsch, 2015) ainsi que le niveau de spécialisation des interactions (Armbruster, 2017) : 1) détection de la fleur par le pollinisateur ; 2) accessibilité aux récompenses ; 3) récompenses en elles-mêmes. Cependant, un trait entrant dans une catégorie peut être corrélé à un trait d'une

autre catégorie (ex : taille de la fleur qui influence la détection et production de nectar qui se rapporte à une quantité de récompense ; Hicks et al., 2016). Pour les mesures de traits floraux à l'exception de deux d'entre eux, nous avons utilisé le concept d'unité florale qui consiste en un ensemble de fleurs d'une même plante pour lesquelles un insecte n'a pas besoin de s'envoler pour aller de fleur en fleur. Ce concept est donc différent de celui d'inflorescence et a une dimension plus fonctionnelle par rapport aux interactions plantes-pollinisateurs. Par exemple, dans cette thèse j'ai considéré l'ombelle secondaire d'une Apiacée comme une unité florale alors que l'inflorescence correspond à l'ensemble des ombelles secondaires. Pour la première catégorie de traits, nous avons ainsi mesuré comme traits floraux la hauteur et l'unité florale (i.e. la distance entre la base de la plante et la fleur la plus haute de l'unité florale), l'aire de l'unité florale (i.e. la surface planaire de l'unité florale qui était estimée en utilisant la formule de la surface d'un cercle dans le cas d'unité florale circulaire et la formule de la surface d'un rectangle dans les autres cas) et la réflectance florale qui permet, en utilisant des modèles adaptés, d'avoir une mesure de la couleur des fleurs qui soit proche de la couleur telle que perçue au moins par *Apis mellifera* (Renoult et al., 2017) pour laquelle j'ai mis en place un partenariat avec Marc Théry (UMR 7179 CNRS-MNHN, Mécanismes Adaptatifs et Evolution). La seconde catégorie de traits floraux se rapportait aux barrières à l'exploitation pour laquelle nous avons mesuré la profondeur des tubes à nectar suivant la méthodologie de Stang et al. (2006). Le tube à nectar correspond à la partie de la fleur entre les nectaires et la zone d'entrée du tube où seule la langue d'un pollinisateur peut s'insérer. Le tube à nectar est donc à distinguer de la corolle qui correspond à l'ensemble des pétales. Enfin, la troisième catégorie de traits floraux se rapporte aux récompenses pour laquelle nous avons mesuré la production de sucres par le nectar en 24h suivant la même méthode que Baude et al. (2016). Cette méthode permet de standardiser la mesure de la production de sucre par le nectar bien qu'elle ne corresponde pas directement à la quantité de sucre qu'un pollinisateur obtiendra à chaque interaction.

- **Protocoles de mesures relatives aux pollinisateurs**

Au laboratoire, j'ai épinglé les insectes de manière à limiter au mieux la perte de pollen. J'ai réalisé des macrophotographies de leur face et utilisé la méthode développée par Stavert et al. (2016) pour mesurer par imagerie leur pilosité faciale et la surface de leur face. Cette méthode de mesure de la pilosité donne une information plus synthétique sur la pilosité que des mesures plus classiques mais plus coûteuse en temps si chacune doit être réalisée (ex : comptage du nombre de

soies, mesures de la longueur des soies...). Cependant, cette mesure a nécessité une longue mise au point et implique un matériel spécifique. Nous avons ensuite collecté les grains de pollen présents sur le corps des insectes afin d'approximer une capacité de transfert de pollen par ces derniers (Bartholomée and Lavorel, 2019). Nous nous sommes focalisés sur la face des insectes qui est l'une des « zones sûres » (i.e. une zone corporelle de l'insecte où le pollen se dépose mais pour laquelle la détection du pollen ou son retrait par nettoyage sont difficiles et jouent donc un rôle important pour le transfert et le dépôt de pollen par les insectes pollinisateurs) identifiée par Koch et al. (2017). Nous avons prélevé les grains de pollen sur la face des insectes à l'aide de blocs de gelée de fuchsine et d'une loupe binoculaire (Kearns and Inouye, 1993) puis nous avons compté les grains de pollen à l'aide d'un microscope optique ou de photographies sous microscope optique suivi d'un pointage manuel à l'aide d'Image J. Nous nous sommes également intéressés à la masse corporelle des pollinisateurs. La masse corporelle des arthropodes est un trait associé à leur taille corporelle (Moretti et al., 2017), mais également à leur taux métabolique qui correspond à l'énergie dissipée pour l'ensemble des activités biologiques d'un individu (Brown et al., 2004) et donc par extension potentiellement à leurs besoins pour satisfaire ce taux. Nous nous sommes focalisés sur la masse sèche des insectes que nous avons mesuré en pesant chaque individu (sauf exceptions) à l'aide d'une balance de précision. Les insectes ont ensuite été identifiés par des experts naturalistes.

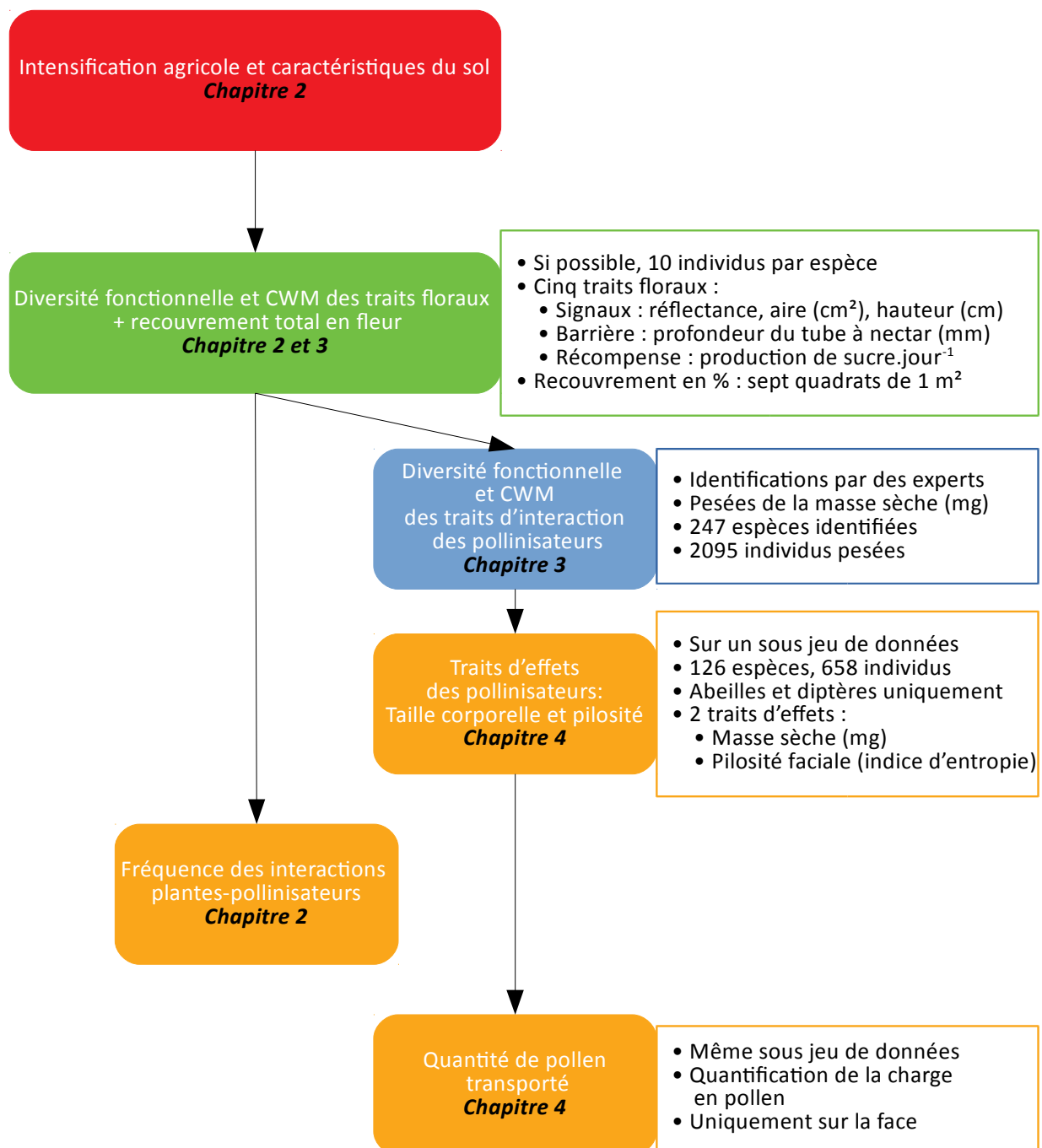


Figure 14 : Synthèse des axes de la thèse et des matériels et des méthodes utilisés au cours des différents chapitres.
Les blocs oranges sont ceux se rapportant directement à la fonction de pollinisation.

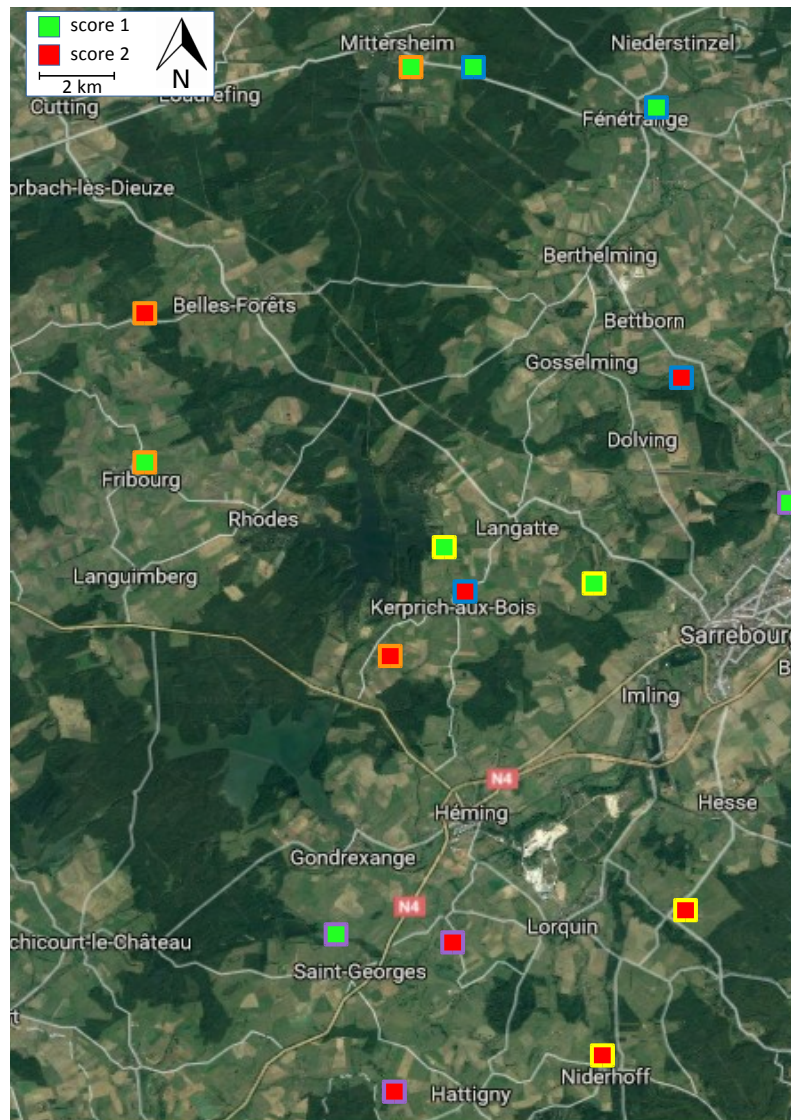


Figure 15 : Carte de la localisation des 16 parcelles suivies au cours de cette thèse.

Les parcelles ont été réparties en deux grands niveaux d'intensité (score 1 et score 2). Chaque parcelle était assignée à un groupe de quatre parcelles contenant deux parcelles de score 1 et deux parcelles de score 2. Sur le schéma, chaque groupe est représenté par la couleur entourant les carrés. Chaque groupe était échantillonné idéalement un même jour qui était divisé en quatre tranches horaires de 10H00 à 18H00, chaque parcelle étant aléatoirement assignée à chacune des tranches horaires sans remise pour les quatre premières sessions, avec remise pour la cinquième session à l'exception des parcelles n'ayant pas pu être échantillonnées lors des quatre premières sessions. Notez que le plan aléatoire n'a pas toujours pu être respecté, le plan d'échantillonnage ayant été fortement conditionné par l'activité des agriculteurs. Source : Google maps.

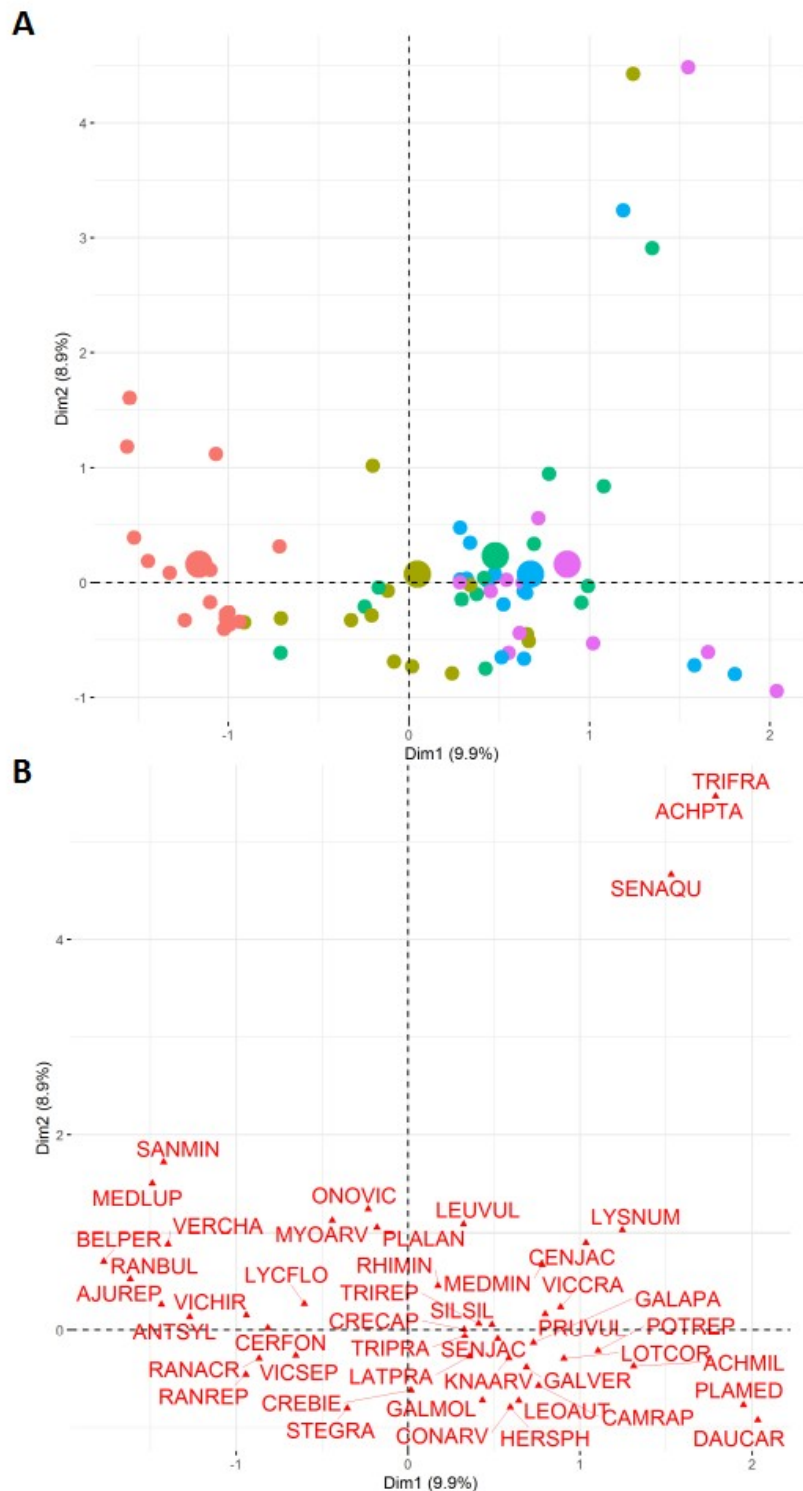


Figure 16: Analyse factorielle des correspondances sur les données d'abondance des communautés de plantes en fleur détectées lors de l'estimation du recouvrement fleuri des espèces de chaque communauté.

Les petits ronds colorés correspondent aux communautés de plantes catégorisées par session d'échantillonnage ; les grands ronds correspondent aux centroïdes de chaque session d'échantillonnage. Ronds roses: mi-Mai ; Ronds moutardes : début Juin ; Ronds verts : mi-Juin ; Ronds bleus : début Juillet ; Ronds violets : début Août. Les communautés se différencient le long de l'axe 1 suivant une succession temporelle. L'axe 2 permet de différencier les communautés au sein de chaque session d'échantillonnage. Quatre communautés se différencient des autres suivant l'axe 2. Elles correspondent toutes à une même parcelle caractérisées par des plantes de prairies humides. ACHMIL: *Achillea millefolium*; ACHPTA: *Achillea ptarmica*; AJUREP: *Ajuga reptans*; ANTSYL: *Anthriscus sylvestris*; BELPER: *Bellis*

perennis; CAMRAP: *Campanula rapunculus*; CENJAC: *Centaurea jacea*; CERFON: *Ceratium fontanum*; CONARV: *Convolvulus arvensis*; CREBIE: *Crepis biennis*; CRECAP: *Crepis capillaris*; DAUCAR: *Daucus carota*; GALAPA: *Galium aparine*; GARMOL: *Galium mollugo*; GALVER: *Galium verum*; HERSPH: *Heracleum sphondylium*; KNAARV: *Knautia arvensis*; LATPRA: *Lathyrus pratensis*; LEOAUT: *Leontodon autumnalis*; LEUVUL: *Leucanthemum vulgare*; LOTCOR: *Lotus corniculatus*; LYCFLO: *Lychnis flos-cuculi*; LYSNUM: *Lysimachia nummularia*; MEDLUP: *Medicago lupulina*; MEDMIN: *Medicago minima*; MYOARV: *Myosotis arvensis*; ONOVIC: *Onobrychis viciifolia*; PLALAN: *Plantago lanceolata*; PLAMED: *Plantago media*; POTREP: *Potentilla reptans*; PRUVUL: *Prunella vulgaris*; RANACR: *Ranunculus acris*; RANBUL: *Ranunculus bulbosus*; RANREP: *Ranunculus repens*; RHIMIN: *Rhinanthus minor*; SANMIN : *Sanguisorba minor*; SENJAC: *Jacobaea vulgaris*; SENAQU: *Jacobaea aquatica*; STEGRA: *Stellaria graminea*; SILSIL: *Silaum silaus*; TRIFRA: *Trifolium fragiferum*; TRIPRA: *Trifolium pratense*; TRIREP: *Trifolium repens*; VERCHA: *Veronica chamaedrys*; VICCRA: *Vicia cracca*; VICHIR: *Vicia hirsuta*; VICSEP: *Vicia sepium*.

CHAPITRE 2 : La diversité fonctionnelle des traits floraux est liée aux caractéristiques du sol et influence positivement la fonction de pollinisation dans un ensemble de prairies permanentes

Résumé du chapitre 2

Contexte

Le déclin de la biodiversité et son impact sur le fonctionnement des écosystèmes sont un enjeu majeur du XXI^e siècle. L'agriculture intensive est aujourd'hui considérée comme l'un des facteurs responsables de ce déclin, suscitant une volonté sociétale pour une transition vers l'agroécologie. Celle-ci vise à intégrer les fonctions écologiques dans la production des biens agricoles. Les prairies permanentes sont au cœur de ces enjeux, étant à la fois essentielles pour l'alimentation du bétail, tout en pouvant abriter une forte biodiversité. L'intensification des pratiques agricoles peut modifier les communautés de plantes, celles des pollinisateurs, ainsi que les interactions entre plantes et pollinisateurs, avec des éventuelles conséquences sur la fonction de pollinisation. Actuellement, les mécanismes expliquant ces changements sont peu étudiés, encore moins avec une approche utilisant les traits fonctionnels comme celle que nous proposons dans ce chapitre.

Objectifs

L'objectif de ce chapitre est d'étudier les effets de l'intensification agricole et de la fertilité du sol (N et P totaux) sur la diversité fonctionnelle des traits floraux, ainsi que sur l'attractivité visuelle et la disponibilité en récompenses pour les pollinisateurs mesurées par le CWM des traits floraux et du recouvrement total en fleurs. Dans un second temps, nous cherchons à mettre en évidence les relations entre ces variables et la fonction de pollinisation estimée à partir de la fréquence des interactions plantes-pollinisateurs.

Matériel et méthodes

Matériel et méthodes

Nous avons suivi 16 prairies permanentes en Moselle (France) appartenant à un gradient d'intensification agricole et dont nous avons mesuré différentes caractéristiques du sol (dont N et P totaux, pH, granulométrie). Nous avons réalisé des réseaux visuels d'interactions plantes-pollinisateurs en capturant à l'aide d'un filet les insectes pollinisateurs en interaction avec des

plantes en fleurs le long d'un transect de 400 m² dans chaque prairie. Le recouvrement de chaque espèce de plante en fleurs a été estimé le long du transect. De Mai à Aout 2017, ces opérations ont été effectuées entre trois et cinq fois par prairie générant un total de 70 communautés (i.e. chaque combinaison de parcelle-session) échantillonnées. À l'échelle de l'unité florale, cinq traits floraux ont été mesurés. Ils appartiennent à trois grandes catégories : signaux (aire, hauteur, couleur), barrière à l'exploitation (profondeur des tubes à nectar) et récompense (production de sucre en 24h). Pour chaque communauté, différents indices ont été calculés à partir de ces traits : indices de diversité fonctionnelle (Q de Rao) décorrélé de la richesse taxonomique par des modèles nuls et incluant tous les traits à l'exception de la couleur puis pour chaque trait séparément incluant la couleur, CWM pour chaque trait séparément à l'exception de la couleur, et richesse taxonomique des plantes en fleurs. Enfin, nous avons calculé le pourcentage total de recouvrement en fleurs par communauté.

Résultats et discussions

Au total, 2823 insectes pollinisateurs ont été échantillonnés en 1065 minutes, et 50 espèces de plantes en fleurs ont été répertoriées. Contrairement à notre hypothèse de départ, nous n'avons pas mis en évidence de relation ni entre intensification agricole locale et diversité fonctionnelle ainsi que CWM de l'ensemble des traits floraux, ni entre intensification et recouvrement total en plantes en fleurs au sein des prairies. L'intensification agricole n'avait pas non plus d'effet sur les indices de diversité taxonomique des plantes en fleurs (richesse et indice de Simpson). Cette absence de relations significatives laisse penser que l'intensification agricole n'était pas, dans nos conditions, un facteur prépondérant sur les communautés végétales. Notre gradient d'intensification était sans doute trop peu étendu.

La diversité fonctionnelle totale des traits floraux est reliée négativement à la teneur en P total des sols, et positivement à la une combinaison linéaire des variables N total, C total, pH et texture du sol, cette dernière étant également positivement liée au CWM de l'aire des unités florales. Ces résultats sont nouveaux dans la littérature et soulignent l'influence des facteurs édaphiques sur les traits floraux. Ils sont sans doute la conséquence d'influence du sol sur les traits végétatifs des plantes bien que nous n'ayons pas pu démontrer cette hypothèse.

La diversité fonctionnelle des traits floraux influence positivement la fréquence des interactions plantes-pollinisateurs, et plus spécifiquement la diversité fonctionnelle de la production de sucre.

Ce résultat nouveau valide la relation positive attendue entre biodiversité et fonction écologique. La complémentarité des pollinisateurs en plus de la complémentarité des fleurs reste à tester afin de comprendre les mécanismes de cette relation.

Nous avons également mis en évidence une relation cubique entre fréquence des interactions plantes-pollinisateurs et recouvrement total en fleurs. Le recouvrement total en fleurs n'est donc pas forcément suffisant pour estimer l'attractivité d'une prairie permanente pour les pollinisateurs, et dépend probablement de traits floraux non mesurés dans cette étude.

Floral trait functional diversity is related to soil characteristics and positively influences pollination function in semi-natural grasslands

Jérémie Goulnik^{*,1}, Sylvain Plantureux¹, Marc Théry², Mathilde Baude³, Maud Delattre⁴, Colin van Reeth⁵, Jean Villerd¹, Alice Michelot-Antalik¹

¹ Université de Lorraine, INRA, LAE, F-54000 Nancy, France

² UMR 7179 CNRS-MNHN, Mécanismes Adaptatifs et Evolution, Brunoy, France

³ Université d'Orléans, INRA USC 1328, LBLGC EA 1207, 45067 Orléans, France

⁴ UMR MIA-Paris, AgroParisTech, INRA-Université Paris-Saclay, Paris, France

⁵ Centre de Recherches sur les Ecosystèmes d'Altitude (CREA Mont-Blanc), 67 lacets du Belvédère, 74400 Chamonix Mont-Blanc, France

*Corresponding author. E-mail: jeremiegoulnik@gmail.com

Abstract

Semi-natural grasslands are threatened habitats providing many ecosystem services. Factors affecting the vegetative trait diversity of their plant communities are well studied, but those affecting their floral trait diversity are not. However, local factors, such as land-use intensification and soil characteristics, can greatly influence floral trait diversity in semi-natural grasslands, which in turn can influence pollination function. We selected 16 grasslands in France along a land-use intensification gradient. Functional diversity indices were calculated from measurements of five floral traits: flower area, flowering height, floral reflectance, nectar tube depth and nectar sugar production per flower unit, and 2823 pollinators were caught during a flowering season. Using linear mixed models, we found a negative influence of total phosphorus soil content, and a positive influence of other soil variables, on floral trait functional diversity. Moreover, our results showed a positive relation between floral trait functional diversity and pollination function. More specifically, we found a positive influence of nectar sugar production per flower unit diversity on the pollination function. These results confirm that diversity of floral traits can promote niche partitioning of pollinators and ecosystem functioning, and highlight the main role of nectar in this process.

Key-words: land-use intensification, soil nitrogen, soil phosphorus, nectar, plant-pollinator interactions

1. Introduction

Semi-natural grasslands (hereafter, “grasslands”) are major ecosystems and play an essential role in delivering ecosystem services. In Europe, half of the flora depends on grassland habitats (Veen et al., 2009). Grasslands are threatened habitats, notably due to intensification of agricultural practices (Huyghe et al., 2014). They are covered by herbaceous plants, whose community structure and composition are driven in part by pollinators (Lundgren et al., 2016). In turn, in a context of a global decline in pollinators (Potts et al., 2010), grasslands can be suitable habitats for pollinators and can supply pollen and nectar resources for them. Landscape simplification has been highlighted as a main driver of pollinator abundance and diversity in natural habitats (Gómez-Virués et al., 2015), because pollinator foraging distances range from a few hundred m to a few km (Greenleaf et al., 2007). However, local within-field grassland scale may also need to be considered.

Indeed, grassland species diversity and total flower cover are known to positively influence pollinator abundance and diversity (e.g. Ebeling et al., 2008; Hudewenz et al., 2012). Grassland plant species diversity and total flower cover levels may be determined by local environmental factors, especially land-use intensification (hereafter, “intensification”) (Gaujour et al., 2012) and soil characteristics (Ceulemans et al., 2013; Grace et al., 2016; Janssens et al., 1998). Intensification and soil characteristics can be related, even though soil characteristics may reflect past land use rather than current intensification (e.g. soil fertility via total phosphorus content: Ceulemans et al., 2014). Furthermore, local environmental factors can also influence the functional diversity (FD) and community-weighted mean (CWM) values of floral traits, which lie at the core of plant-pollinator interactions.

Floral traits are considered “matching traits” (Armbruster, 2017), which mediate relations between two trophic levels (Le Provost et al., 2017) and are a main component of plant-pollinator interaction patterns. Along with phenology (Vázquez et al., 2009), they include cues or signals (e.g. flower colour, which can match pollinator visual systems; van der Kooij, Dyer, Kevan, & Lunau, 2018), exploitation barriers (e.g. nectar tube depth, which can match lengths of pollinator mouthparts; Klumpers, Stang, & Klinkhamer, 2019), and rewards (e.g. sugar production, which can match pollinator metabolic needs; Vaudo, Tooker, Grozinger, & Patch, 2015). A holistic view of floral traits is needed to understand plant-pollinator interactions. Ideally, floral traits should be

measured quantitatively to be more accurate and consider pollinator matching and perceptions (Junker and Parachnowitsch, 2015). Quantitative measurements of this combination of traits are found almost only for experimental sites or sites that do not represent natural habitats (e.g. Fornoff et al., 2017; Junker et al., 2013), notably due to the costly and time-consuming effort needed to measure them.

Few studies in the literature identify relations between local environmental variables and floral trait FD and CWM. For instance, flower colour FD and flowering height CWM have been found to decrease with increasing intensification (Binkenstein et al., 2013; Garnier et al., 2007). Furthermore, both intensification and increase in soil fertility could decrease floral trait FD because of its correlation with plant species richness (Fornoff et al., 2017), but these influences have not been tested to date.

By influencing floral trait FD and CWM in plant communities, intensification and soil characteristics can have important cascading effects on the pollination function (Lavorel et al., 2013), often approximated by the number or frequency of interactions (Ballantyne et al., 2017). However, there is no consensus on how FD of floral traits influences interaction frequency. Indeed, according to positive relations between biodiversity and ecosystem functioning, increase in floral trait FD should lead to an increase in niche partitioning between pollinators and hence an increase in interaction frequencies (Schleuning et al., 2015). In contrast, an increase in floral trait FD was found to decrease interaction frequencies (Fornoff et al., 2017; Uyttenbroeck et al., 2017), partly due to an increase in the complexity of communication between plants and pollinators, making it more difficult for pollinators to detect flowers (cf. serial vs. parallel processing; Chittka & Raine, 2006). Furthermore, Fornoff et al. (2017) did not distinguish floral trait FD from flowering plant species richness, which may limit understanding of the true importance of floral trait FD in plant-pollinator interactions. This limitation can be overcome by using null models (Swenson, 2014). Finally, a decrease in total flower cover and CWM of floral traits related to visual attractiveness (e.g. flower area and height) and reward availability (e.g. sugar production by nectar) should theoretically lead to a decrease in interaction frequencies (Fornoff et al., 2017; Hegland and Totland, 2005). However, relatively few studies examine these relations.

We studied 16 French grasslands to examine cascading effects of intensification and soil characteristics on relations between floral traits and the pollination function. More precisely, we aimed to study (i) influences of intensification and soil characteristics on floral trait community

indices (FD, CWM) and on total flower cover, (ii) influences of floral trait community indices and total flower cover on pollination function, approximated by interaction frequency, in grasslands. We hypothesised that intensification and soil fertility (i.e. total nitrogen and phosphorus soil content) decrease FD of floral traits but also decrease visual attractiveness and reward availability in grasslands due to a decrease in floral trait CWM and total flower cover. In turn, we hypothesised that decline in FD of floral traits, visual attractiveness, and reward availability decrease the pollination function.

2. Material and Methods

2.1. Study sites

We selected 16 grasslands in a 12 km² circle centred on Sarrebourg (48°73N, 7°05E, 250 m a.s.l.) in the department of Moselle, France (**Appendix A Table A.1**). Moselle's climate is semi-continental, with a relatively wide temperature range between winter and summer. From April-July (i.e., the growing season) 2017, mean daily temperature was 15.3°C, and precipitation was 290.9 mm (+0.7°C and -15.9 mm compared to the period 1981-2010, Météo-France). To focus on local intensification influences, we selected grasslands with relatively homogeneous landscape features by using a Geographic Information System (QGIS) and land-cover data from BD TOPO® (IGN) 2014. Landscape features encompasses, in a buffer of 1000 m around each grassland centroids, land cover with more than 30% semi-natural habitats (semi-natural grasslands, orchards, hedgerows, groves, and forest edges; range = 32-82%), which is a threshold above which the percentage of semi-natural habitats may have less influence on pollinator abundance and diversity (Shackelford et al., 2013). Furthermore, we established a threshold of less than 30% of crop area (range = 0.7-25.1%) to minimise influences of crops on plant and pollinator communities, and a minimum buffer of 200 m between grassland and crop edges to avoid aerial dispersal of pesticides (Jong et al., 1991). Grasslands were then selected to cover a gradient of land-use intensification according to information about farmers' grassland management. Land-use intensification was subsequently validated by calculating a land-use intensity index.

2.2. Land-use intensity index

We defined agricultural intensification as an aggregation of three descriptors based on expert knowledge. We included defoliation (percentage of grass defoliated during the year of sampling by mowing or grazing) (range = 100-300%, mean = 201%, standard deviation (SD) = 54%), nitrogen

fertilisation during the year of sampling (inorganic and organic fertilisation, animal deposition; Simon, Grignani, Jacquet, Le Corre, & Pagès, 2000) (range = 0-100 kg N.ha⁻¹.year⁻¹, mean = 27.3 kg N.ha⁻¹.year⁻¹, SD = 37.5 kg N.ha⁻¹.year⁻¹), and earliness of the first defoliation event (degree days at the first mowing event during the sampling year, starting from 1 February and with a maximum value of 18°C) (range = 922.0-1817.6°C, mean = 1370.7°C, SD = 227.6°C; **Appendix A Table A.1**). Information was obtained by questioning farmers. We used fuzzy inference systems (Mamdani and Assilian, 1975) to aggregate these three descriptors. Our final index ranged from 0-1 (mean = 0.44; SD = 0.35) after applying the methodology detailed in **Appendix B**.

2.3. Soil characteristics

For each transect on which pollinators were collected, we collected at three sampling point (beginning, middle, and end) three soil core samples per sampling point at a depth of 20 cm using an auger once during the study. We gathered the three soil core samples per sampling point in a single bulk sample. Seven soil variables were measured (in g.kg⁻¹ of dry soil, except pH): total phosphorus (P₂O₅ with the Olsen-P method), total nitrogen and carbon (dry combustion), pH (diluted in water), clay content, silt content, and sand content (five-fraction texture analysis after decarbonation). Data were averaged at the grassland scale (**Appendix A Table A.1**). We performed principal component analysis (PCA) on these soil variables with the FactoMineR package (Lê et al., 2008) of R software (R Core Team, 2019). The first axis of the soil PCA (explaining 65.8% of the variance) included soil pH, total nitrogen, total carbon and texture (clay, silt and sand contents), which correlated strongly with each other. Hence, we could not distinguish these variables and kept coordinates of the first axis of the soil PCA in subsequent models. The second axis of the PCA was formed almost only by soil phosphorus fertility (**Appendix C Figure C.1**). Consequently, we kept raw total phosphorus data in our models. The land-use intensity index was not correlated with the first axis of the soil PCA ($r = -0.06$, $P = 0.817$, $df = 14$) nor with total phosphorus content ($r = 0.41$, $P = 0.11$, $df = 14$).

2.4. Pollinator sampling

From May-August 2017, we performed three (19% of grasslands), four (25% of grasslands) or five (56% of grasslands) pollinator sampling sessions per grassland (10-17 May, 29 May-2 June, 8-15 June, 5-9 July and 6-8 August), yielding a total of 70 sampling events. The grasslands sampled were not mown for at least three weeks before sampling to allow plants to grow and bloom. During each

sampling session, all grasslands fulfilling this prerequisite were sampled, with a maximum of seven days between sampling of the first and last grassland (except in one case). We divided each day into four time slots from 10:00-18:00. When possible, each grassland was randomly assigned to one of these time slots for each sampling session so that it was sampled at least once during each time slot. Sampling days were sunny without wind and with a temperature over 18°C (Ebeling et al., 2008). We sampled pollinators clearly interacting with sexual organs of flowers with a sweep net on one 400 m² transect (100 m long × 4 m wide) per grassland located in the centre of each grassland or the centre of a homogeneous vegetation station belonging to the grasslands. A single observer (J.G.) performed all sampling during a 15 min walk, without counting the time needed to process captured pollinators (i.e. the timer was stopped). Coleopterans belonging to family Nitidulidae were not sampled because we did not know whether or how many of them were clearly interacting with a flower (Weiner et al., 2014). At each sampling event, flower cover for each currently flowering species (except Poaceae and Juncaceae) was estimated as the mean percentage of cover (within 1%) from seven 1 m² quadrats distributed randomly but regularly along the entire transect.

2.5. Floral traits

2.5.1. Cues and signals

For 47 of the 50 flowering plant species found, we measured the height of the top floral unit (FU) (i.e. aggregation of flowers accessible by a pollinator without flying) for 3-330 individuals (mean = 71) per species to the nearest cm using a tape measure. We also estimated FU area to the nearest mm using a calliper for the same individuals. We used the formula for a circular area (i.e. πr^2) for rounded FU and that for a rectangular area (i.e. length × width) for other FU shapes (Fornoff et al., 2017). We also measured reflectance of flowers for 10 individuals per species (except *Veronica chamaedrys* with N = 4, *Campanula rapunculus* with N = 2, and *Crepis capillaris* with N = 1). We measured reflectance of leaves of the most abundant plant species (including Poaceae and Juncaceae, and representing 80% of the total plant cover estimated in three 0.25 m² quadrats per grassland) before the first mowing event of each grassland to determine the colour background (Renoult et al., 2015). The method is detailed in **Appendix D**.

2.5.2. Exploitation barrier

We measured nectar tube depth for 10 individuals per species of a single flower per FU stored in

70° alcohol. Nectar tube depth is the distance between the nectaries and the entrance of a flower where only mouthparts can penetrate (Stang et al., 2006). It was measured to the nearest 0.01 mm with a stereomicroscope attached to a camera (Moticam 5+, Motic, Xiamen, China). The entrance of flowers was determined by dissecting them and by observing pollinators interact with them directly in the field. For Asteraceae, the nectar tube entrance was described as before, but the nectar tube base began where the stiles no longer filled the tube. When nectaries were exposed directly to the air (e.g. Apiaceae) we considered nectar tube depth equal to 0 mm (Stang et al., 2006). The same rule applied in absence of nectaries (e.g. *Plantago* spp.).

2.5.3. Rewards

In 2018, we estimated nectar sugar production per FU in 24 h following Baude et al. (2016). We isolated FU from any interaction with pollinators with a net (mesh size 1 mm², F 510 net, Diatex, Lyon, France) for 24 h without precipitation for five individuals per plant species. Nectar was then sampled using microcapillary tubes (Microcaps, Drummond Scientific, Broomall, PA, USA) with a calibrated capacity of 0.5-5.0 µL. For flowers producing less than 1 µL of nectar, which is the volume recommended to measure sugar concentration (Corbet, 2003), we sampled additional flowers in the same FU, individual, or near neighbouring individual until 1 µL was reached. For species whose nectar was too viscous or of too low quantity, we diluted nectar for 10 min with 1 µL of ultrapure water. Microcapillary tubes were stored at 4°C in the field then at -20°C for no more than one week before measurements. We measured nectar sugar concentration (g sucrose.100 g⁻¹ solution) using hand-held refractometers adapted to low volumes (0-50 Brix and 45-80 Brix, Eclipse, Bellingham and Stanley, Tunbridge Wells, UK). We calculated sugar production by nectar per flower in 24 h (s ; µg of sugar.flower⁻¹.24h⁻¹) using the following formula:

$$s = 10dvC$$

with d the density of a sucrose solution at concentration C (g sucrose.100 g⁻¹ solution) read from refractometers, and v (µL) the volume of nectar produced by a single flower.

When we needed more than one flower to obtain 1 µL of nectar, we obtained v by dividing 1 by the number of flowers used. Density d was obtained using the formula $d = 0.0037921C + 0.0000178C^2 + 0.998860$ (Corbet et al., 2001). Of the 50 plant species found in flower cover, we failed to sample 12 of them. We found data for seven of these 12 species in the dataset of Baude et al. (2016) due to its good correlation with our data (for 27 species in common: Pearson's $r =$

0.59, $P = 0.0011$). For two of the species, we used data for the species most closely related to them in Baude et al.'s (2016) dataset (*Lysimachia nemorum* for *Lysimachia numularia*) or in our own (*Medicago minima* for *Medicago lupulina*). Finally, we found data for one species in the dataset that Hicks et al. (2016) compiled using the same method. We calculated sugar production by nectar per FU in 24 h by using the formula $s_{FU} = sN$, with N the number of open flowers per FU counted on 10 individuals per species.

2.6. Floral trait indices

2.6.1. Floral trait community-structure indices

Using the R package FD (Laliberté et al., 2014), we calculated, for each sampling event, Rao's quadratic entropy index (FD_Q) for FD indices for all floral traits collected except FD_{colour} (FD_{total}) and for each floral trait separately (FD_{traits}). FD_Q describes functional entropy, and is correlated to both functional richness (i.e. volume of niche space occupied by species in a community) and functional divergence (i.e. how community abundance is distributed toward functional space extremities; Mason, de Bello, Mouillot, Pavoine, & Dray, 2013). Consequently, it cannot distinguish them (Mouchet et al., 2010). Following (Botta-Dukát, 2005), FD_Q is based on the formula:

$$FD_Q = \sum_{i=1}^{m-1} \sum_{j=i+1}^m d_{ij} p_i p_j$$

with m the number of species, d_{ij} the dissimilarity between the i th and j th species, p_i the relative abundance of the i th species, and p_j the relative abundance of the j th species. d_{ij} is based on the formula:

$$d_{ij} = \frac{1}{q} \sum_{k=1}^q (X_{ik} - X_{jk})^2$$

with X_{ik} and X_{jk} the values for species i and j , respectively, of trait k , and q the number of traits (i.e. $q = 4$ for FD_{total} and $q = 1$ for each FD_{traits}).

For flower colour, we calculated colour distances based on the *Apis mellifera* visual system and assembled them in a dissimilarity matrix d_{ij} , which was used to calculate FD_{colour} (see **Appendix D** for details). As the dissimilarity matrix for FD_{colour} was not based on the same method for measuring dissimilarity as the other traits, however, we could not include FD_{colour} in FD_{total} (Botta-Dukát, 2005). Finally, we calculated CWMs (e.g. Garnier et al., 2007) for each sampling

event and each trait separately (except floral reflectance):

$$CWM = \sum_{i=1}^n p_i X_i$$

with n the number of species in a community, p_i the relative abundance of the i th species in the community, and X_i the value of the trait for the i th species.

Of the 50 species we sampled in our study, we were unable to measure flower area or height for three species, and flower colour for 10 species. Since these species had low abundance (flower cover of 0.14-4.17%), we removed them from our analyses. Thus, the species abundance matrix contained 47 species for *FDtotal*, *FDtraits* (except *FDcolour*) and *CWMtraits*, and 40 species for *FDcolour*.

2.6.2. Null models

Flower species richness and Simpson's diversity index were positively correlated with *FDtotal* in our dataset (Spearman's $r = 0.47$, $P < 0.001$ and Spearman's $r = 0.62$, $P < 0.001$, respectively). To disentangle FD from taxonomic diversity, we created null models using the name-shuffling approach (Swenson, 2014). Briefly, the null models consisted of calculating Rao's quadratic entropy index with species names shuffled in the trait matrix. This process was applied 9999 times to each plant community. Then, standardised effect sizes (SES) were calculated for each plant community using the formula:

$$SES.FD_Q = \frac{ObservedFD_Q - mean(nullmodelsFD_Q)}{sd(nullmodelsFD_Q)}$$

A positive or negative SES is interpreted as an observed FD higher or lower, respectively, than the mean null value (Swenson, 2014). Our method for calculating null models standardised flower species richness and evenness, while functional differences between species were free to vary, providing information about FD independent of species richness and evenness. However, a relation between SES, flower species richness and evenness may be maintained if communities with the highest flower species richness are those with highest evenness and largest functional differences between species. This process was applied to *FDtotal* and to each *FDtraits* separately. These SES.FD indices (hereafter called *FDtotal* and *FDtraits* for simplicity) were used as FD indices in subsequent analyses.

2.7. Statistical modelling

We performed all analyses with R software and created all graphics with the R package ggplot2 (Wickham, 2016). All models were initially mixed models with grassland identity (grassland ID) and sampling session as random terms to account for spatial and temporal autocorrelation between statistical individuals. For all models, we considered a correlation coefficient ($|r|$) of 0.5 to be the threshold for collinearity and thus for variable selection (Dormann et al., 2013). When models showed singular fit or failure to converge, we dropped the fixed or random term to allow for non-singular fit or avoid failure to converge (Barr et al., 2013). We checked for model assumptions following (Zuur and Ieno, 2016). We selected models using AICc because we had < 40 observations per parameter (Burnham et al., 2002). For nested models, when $\Delta AICc < 2$, we could not distinguish which one explained interaction frequency best, so we kept the most parsimonious model.

We tested parameter significance for linear mixed models using t-tests based on Kenward-Roger's methods with the R package lmerTest (Kuznetsova et al., 2017) and using Wald-tests for generalised linear mixed models with the R package lme4 (Bates et al., 2014). We calculated R^2 for final models using the R package MuMIn (Bartoń, 2019) and following (Nakagawa and Schielzeth, 2013), which provides information about the variance explained by fixed effects for marginal models (hereafter R^2_m), and fixed and random effects for conditional models (hereafter R^2_c). We calculated pseudo- R^2 for generalised linear mixed models with the trigramma method due to their logarithmic link function. Finally, we assessed model quality by simulating the theoretical marginal distribution of the dependent variable in the model. We visually compared this theoretical distribution to the distribution of our sample.

We standardised all explanatory variables (i.e. subtracting their mean and dividing by their standard deviation) due to large differences in scale between them. For our first research question, which dealt with influences of land-use intensification and soil characteristics on floral trait FD and CWM but also on total flower cover, we fitted linear mixed models using the following equation with the R package lme4:

$$(Eq. 1) Y_{ij} = \alpha + \beta_1 x_{1ij} + \beta_2 x_{2ij} + \beta_3 x_{3ij} + b_i + \tilde{b}_j + \varepsilon_{ij}$$

$$\text{and } b_i \sim N(0, \sigma_b^2) ; \tilde{b}_j \sim N(0, \sigma_{\tilde{b}}^2) ; \varepsilon_{ij} \sim N(0, \sigma^2)$$

with Y being *FDtotal*, *FDtraits*, *CWMtraits*, or Total flower cover; i the grassland ID (1-16); j the sampling session (1-5); α the y-intercept; x_1 the land-use intensity index; x_2 the first axis of the soil PCA; x_3 total phosphorus soil content and $\beta_1, \beta_2, \beta_3$ the respective associated coefficients; b the random term for grassland ID; $\tilde{b}$ the random term for sampling session; and ε residuals. Random effects and residuals were mutually independent.

For our second research question, which dealt with relations between floral trait community structure and interaction frequency, we fitted general linear mixed models with a negative binomial distribution to address overdispersion in the response variable (interaction frequency). First, we fit a model with *FDtotal* as an explanatory variable following Eq. (2). flower cover and flowering plant taxonomic richness showed a non-linear relation with interaction frequency and a positive but saturating relation between them which prevented using them in the same model. We modelled these relations with a third-degree polynomial regression. We chose a cubic function because it had a lower AICc than a quadratic function, and a polynomial function with a degree higher than three would have led to overparametrisation. To avoid correlation between polynomial terms, orthogonal polynomial terms were calculated using the poly function in R.

$$(Eq. 2) Y_{ij} | b_i, \tilde{b}_j \sim NB(\lambda_{ij}, p)$$

$$\text{with } \log(\lambda_{ij}) = \alpha + \beta_1 x_{1ij} + \beta_2 x_{2ij} + \beta_3 x_{3ij} + \beta_4 x_{4ij} + b_i + \tilde{b}_j$$

$$\text{and } b_i \underset{iid}{\sim} N(0, \sigma_b^2) ; \tilde{b}_j \underset{iid}{\sim} N(0, \sigma_{\tilde{b}}^2)$$

with Y the interaction frequency; α the y-intercept; i the grassland ID (1-16); j the sampling session (1-5); x_1 *FDtotal*; x_2 total flower cover; x_3 square of total flower cover; x_4 cube of total flower cover and $\beta_1, \beta_2, \beta_3, \beta_4$ their respective associated coefficients. Random terms were mutually independent. Using the same equation, we first replaced total flower cover with flowering plant species richness, then *FDtotal* with each *FDtraits*, and finally *FDtotal* with each *CWMtraits*.

3. Results

3.1. General description of plant and pollinator communities

We found 50 flowering plant species during our sampling events. Mean flowering plant species richness per community was 5.96 and ranged from 1-12 co-flowering species. Mean flowering Simpson's diversity index was 0.58. We sampled a total of 2823 pollinators in 1065 minutes of

sampling. Eight plant species represented more than 75% of total interactions (**Figure 1**): *Centaurea jacea* (17.1% of total interactions), *Daucus carotta* (15.0%), *Trifolium repens* (13.2%), *Silaum silaus* (8.2%), *Ranunculus acris* (7.4%), *Lotus corniculatus* (6.7%), *Jacobe aquatica* (6.1%) and *Trifolium pratense* (5.1%). Of the pollinators, 1252 were Hymenoptera (44.3% of total interactions), with 505 *A. mellifera* (17.9%) and 331 *Bombus* spp. (11.7%). The second main pollinator order was Diptera (1132 individuals, 40.1% of total interactions), with Muscidae (278 individuals, 9.9%), Tachinidae (244 individuals, 8.6%) and Syrphidae (239 individuals, 8.5%) being the main families. We also sampled 311 Lepidoptera, most of which were *Maniola jurtina* (59.5% of Lepidoptera), 122 Coleoptera, five Hemiptera and one Mecoptera.

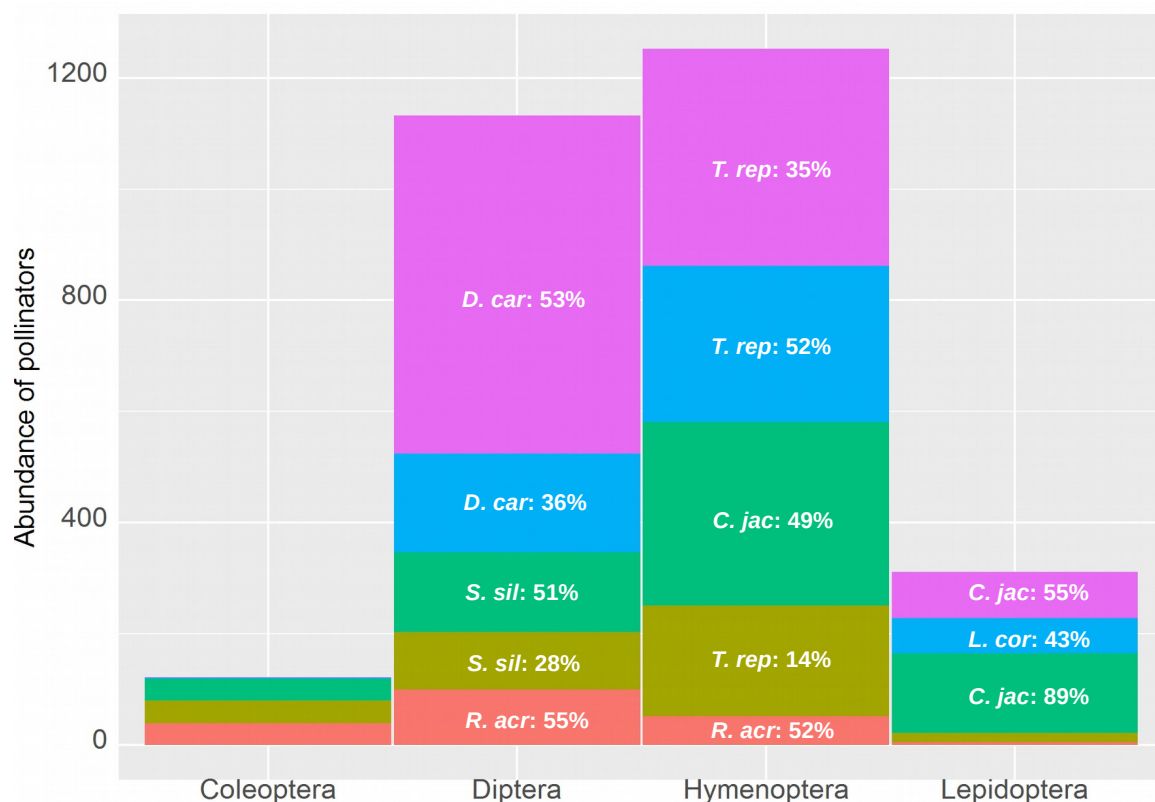


Figure 1: Abundance of the four main pollinator orders sampled in communities, by sampling session.

Pink bars: mid-May; Mustard bars: early June; Green bars: mid-June; Blue bars: early July; Violet bars: early August. Percentage of interactions for the most frequent plant species in interaction with pollinators per sampling session and per pollinator order are indicated (in white) only when interaction frequency exceeded 50. Hemiptera and Mecoptera are not represented. *R. acr*: *Ranunculus acris*; *S. sil*: *Silaum silaus*; *D. car*: *Daucus carotta*; *T. rep*: *Trifolium repens*; *C. jac*: *Centaurea jacea*; *L. cor*: *Lotus corniculatus*.

3.2. Influences of land-use intensification and soil characteristics on floral trait FD and CWM

We found no relation between land-use intensification and floral trait FD (**Figure 2; Table 1**). We highlighted influences of soil characteristics on floral trait diversity. Total floral trait FD (*FD_{total}*) increased with the first axis of the soil PCA and decreased with total phosphorus soil content ($P = 0.031$ and $P = 0.029$, respectively, $R^2m = 0.18$, **Figure 2B** and **2C**). The same pattern was found for *FD_{area}* ($P = 0.016$ and $P = 0.010$, respectively, $R^2m = 0.21$, **Figure 2E** and **2F**), while *FD_{colour}* only decreased with total soil phosphorus content ($P = 0.003$, $R^2m = 0.18$, **Figure 2L**) and FD of nectar production per FU (*FD_{sugar}*) only increased with the first axis of the soil PCA ($P < 0.001$, $R^2m = 0.13$, **Figure 2Q**). Among floral trait CWMs, only the CWM of flower area (*CWM_{area}*) increased with the first axis of the soil PCA ($P = 0.009$, $R^2m = 0.10$, **Appendix E Figure E.1B**). Finally, we found no influence of environmental variables on total flower cover.

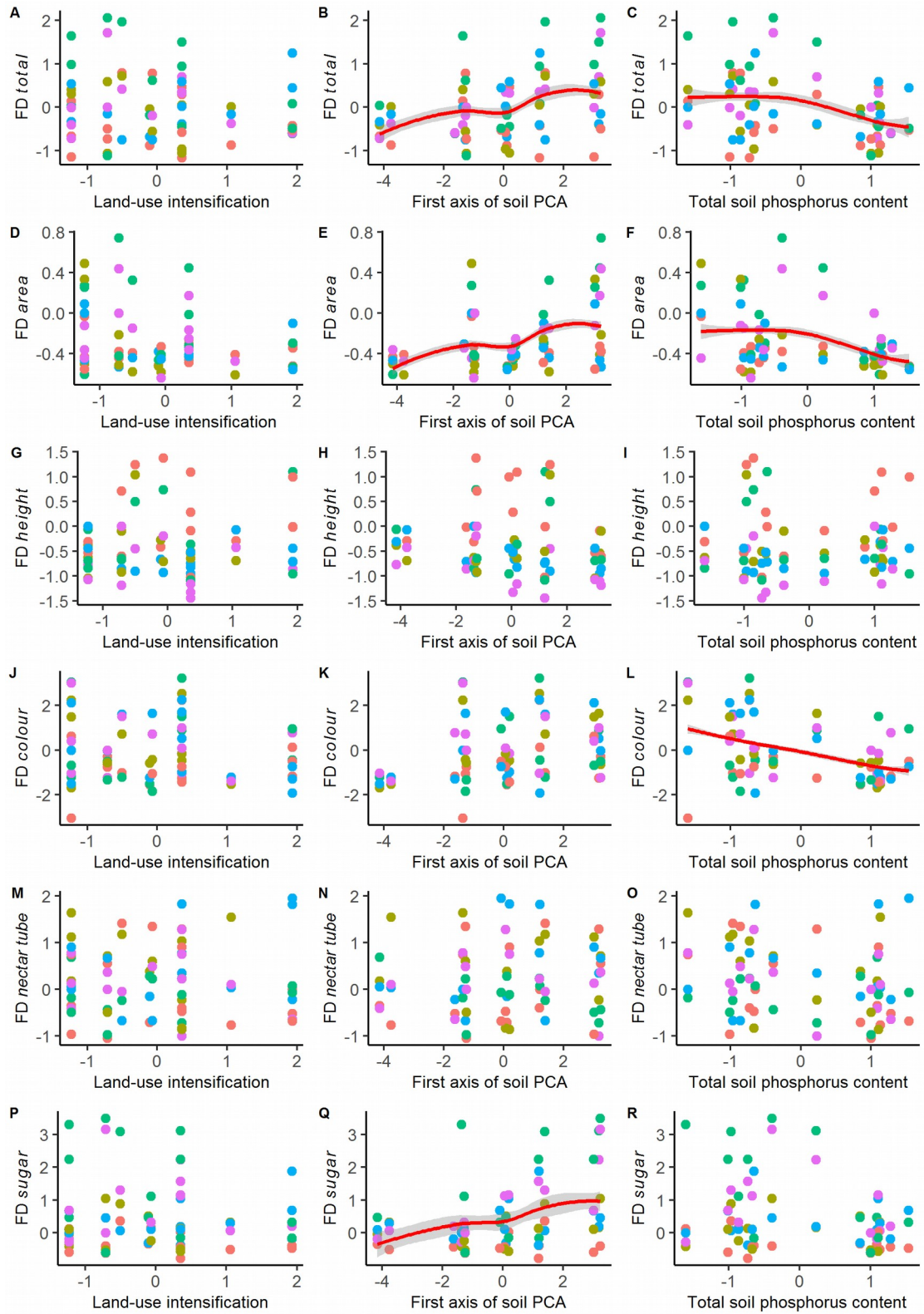


Figure 2: Predicted fit of linear mixed-effects models of the relation between floral trait functional diversity (FD) and local environment variables (soil characteristics and land-use intensification index).

Red lines: fitted values projected on raw data by considering other co-variables and random effects of final models. Grey shading around the red line: 95% confidence intervals. The absence of a red line indicates the absence of significant relation between the dependent and explanatory variable. Explanatory variables are standardized. Coloured dots are raw data categorized by sampling session. Pink dots: mid-May; Mustard dots: early June; Green dots: mid-June; Blue dots: early July; Violet dots: early August.

Table 1: Results of linear mixed-effects models with floral trait indices explained by environmental variables.

Dependant variables	predictor	parameter estimate	standard error	t-value	<i>P</i>	variance of random term	R ² m	R ² c
<i>FDtotal</i>	Intercept	0.005	0.137	0.036	0.973			
	First axis of soil PCA	0.083	0.038	2.208	0.031		0.18	0.29
	Total soil phosphorus (g/kg)	-0.188	0.084	-2.229	0.029			
	1 sampling date					0.065		
<i>FDarea</i>	Intercept	-0.275	0.047	-5.827	0.002			
	First axis of soil PCA	0.038	0.015	2.476	0.016		0.21	0.29
	Total soil phosphorus (g/kg)	-0.082	0.034	-2.419	0.018			
	1 sampling date					0.006		
<i>FDheight</i>	Intercept	-0.407	0.155	-2.623	0.037			
	1 sampling date					0.086	0.00	0.34
	1 grassland ID					0.049		
<i>FDcolour</i>	Intercept				0.707			
	Total soil phosphorus (g/kg)	-0.596	0.171	-3.478	0.003		0.18	0.28
	1 sampling date					0.047		
	1 grassland ID					0.139		
<i>FDnectar tube</i>	Intercept	0.214	0.113	1.886	0.118		0.00	0.04
	1 sampling date					0.022		
<i>FDsugar</i>	Intercept				0.137			
	First axis of soil PCA	0.164	0.042	3.870	2.55E-04		0.13	0.42
	1 sampling date					0.310		
<i>CWMarea (cm²)</i>	Intercept	3.596	0.309	11.625	8.88E-05			
	First axis of soil PCA	0.212	0.070	3.034	0.009		0.10	0.27
	1 sampling date					0.358		
	1 grassland ID					0.018		
<i>CWMheight (cm)</i>	Intercept	36.758	2.182	16.850	3.15E-06			
	1 sampling date					19.299	0.00	0.44
	1 grassland ID					6.664		
<i>CWMnectar tube (mm)</i>	Intercept	2.916	0.400	7.296	1.49E-04			
	1 sampling date					0.570	0.00	0.45
	1 grassland ID					1.226		
<i>CWMsugar (µg of sugars.FU⁻¹.24h⁻¹)</i>	Intercept	1407.900	325.300	4.328	0.005			
	1 sampling date					430991.000	0.00	0.50
	1 grassland ID					171896.000		
Total flower cover	Intercept	0.174	0.042	4.119	0.005			
	1 sampling date					0.007	0.00	0.57
	1 grassland ID					0.004		

For models which contained fixed terms after model selection, the variance explained by fixed and random terms ranged from 0.27-0.42 (**Table 1**). When no fixed terms were kept in models after model selection, random terms explained at least one third of the variance (0.34-0.57), except for FD of nectar tube depth (*FDnectar tube*), for which variance explained by the random term was close to zero ($R^2_c = 0.04$). Our models showed moderate goodness of fit and residual heteroscedasticity (**Appendix F Figure F.1** and **Appendix G Figure G.1**), likely due to missing co-variables not measured in our study.

3.3. Influences of floral trait FD, CWM and flower cover on pollination function

We found a positive relation between interaction frequency and *FDtotal* ($P = 0.004$, **Figure 3A**). For the FD of each trait separately, we found an increase in interaction frequency only with *FDsugar* ($P < 0.001$, **Figure 3B**). We found no relation between floral trait CWMs and interaction frequency. Third-degree polynomials explained the relation between interaction frequency and total flower cover (**Figure 3C**, **Table 2**) and that between interaction frequency and flowering plant species richness (**Figure 3D**, **Table 2**). R^2_m of the models ranged from 0.35-0.48 (**Table 2**) and showed a high goodness of fit (**Figure F.1**).

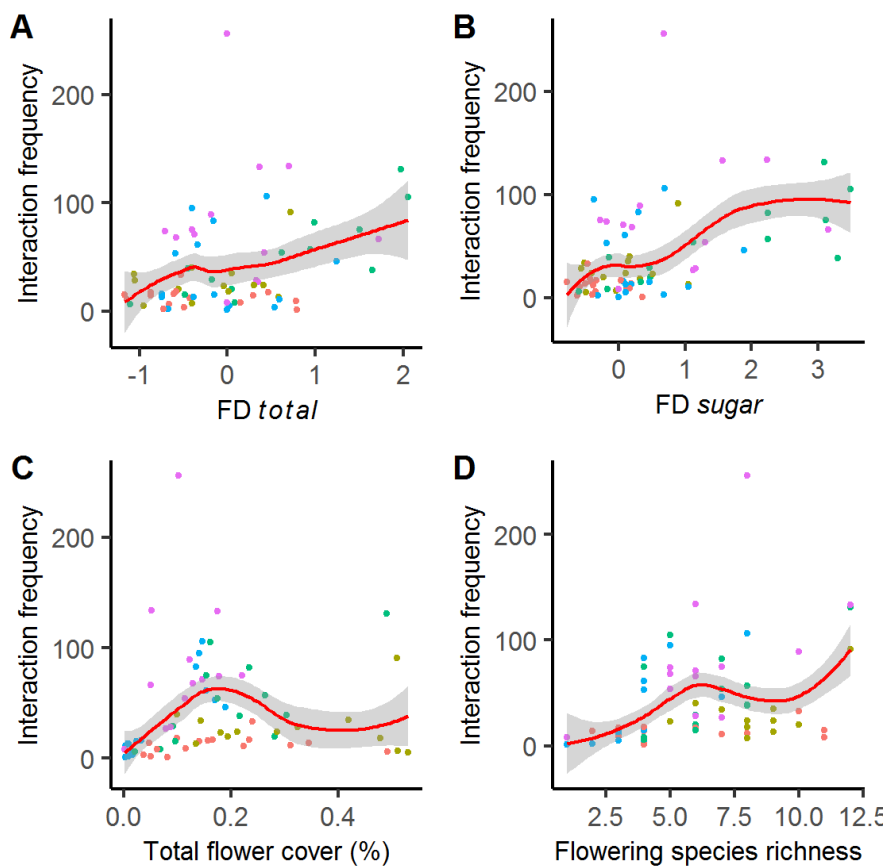


Figure 3: Predicted fit of general linear mixed-effects models of the relation between interaction frequencies and A) *FDtotal*, B) *FDsugar*, C) Total flower cover and D) Flowering plant species richness. A) and C) are generated by the same model. Red lines: fitted values projected on raw data by considering other co-variables and random effects of final models. Grey shading around the red line: 95% confidence intervals. Coloured dots are raw data categorized by sampling session. Pink dots: mid-May; Mustard dots: early June; Green dots: mid-June; Blue dots: early July; Violet dots: early August.

Table 2: Results of generalised linear mixed-effects models, with interaction frequency explained by total floral trait functional diversity (FD) (*FDtotal*), total flower cover, flowering plant species richness and FD of sugar production per floral unit (*FDsugar*).

Models with community-weighted means are not presented because no fixed effects were kept in them.

Dependant variables	predictor	parameter estimate	standard error	z-value	P	variance of random term	R ² m	R ² c	df	AICc
	Intercept	3.370	0.285	11.815	< 2E-16	0.378	0.41	0.68	63	614.569
	<i>FDtotal</i>	0.237	0.089	2.663	0.004					
	Total flower cover	3.754	0.802	4.680	6.06E-06					
	Total flower cover^2	-3.970	0.703	-5.649	1.54E-08					
	Total flower cover^3	2.171	0.666	3.260	4.77E-04					
	1 session									
Interaction frequency	Intercept	3.411	0.220	15.487	< 2E-16	0.207	0.36	0.52	63	628.745
	<i>FDtotal</i>	0.229	0.101	2.273	0.013					
	Flowering species richness	3.994	0.806	4.958	7.75E-07					
	Flowering species richness^2	-2.373	0.758	-3.132	0.002					
	Flowering species richness^3	1.887	0.726	2.598	0.010					
	1 session									
	Intercept	3.352	0.255	13.124	< 2E-16	0.299	0.48	0.70	63	608.945
	<i>FDsugar</i>	0.339	0.094	3.595	1.22E-04					
	Total flower cover	3.769	0.771	4.885	1.96E-06					
	Total flower cover^2	-4.079	0.679	-6.004	1.71E-09					
	Total flower cover^3	2.090	0.641	3.261	4.37E-04					
	1 session									

4. Discussion

4.1. Influences of local environmental variables on floral trait FD and CWMs

In this study, we found influences of soil properties on FD of floral traits. We found a negative influence of soil phosphorus content on total floral trait FD (*FD_{total}*), and more specifically on FD of both flower colour and flower area. Soil phosphorus content is well known to influence plant species diversity and can be related to many factors including past intensification (e.g. phosphorus from inorganic fertilisation, livestock manure and slurry spreading, Ceulemans et al., 2014). Along a gradient of soil phosphorus content, plant species diversity has been shown to decrease in European grasslands (Ceulemans et al., 2014), but not at a more global scale (Soons et al., 2017). Ceulemans et al. (2013) observed that competitive plant species following the Competition-Stress-Ruderal (C-S-R) Grime classification (e.g. Grime, 2007) showed a preference for high soil phosphorus content.

A same mechanism could explain our results. Indeed, part of grasslands in our study (**Figure H.1**) had more than 0.05 g.kg⁻¹ of soil total phosphorus content (i.e. the optimum for plant nutrition; Janssens et al., 1998). Decrease in floral trait FD would thus be due to more light competition on grasslands with high soil phosphorous content, leading to competitive exclusion and persistence of few forb species. However, we expected a decrease in both *FD_{total}* and the FD of each trait separately, which was not the case for flower height, nectar tube depth or flower sugar (**Figure 3I, 3O and 3R**). Flower height could have more phenological plasticity than other floral traits we measured, which would buffer differences between communities. Considering intra-specific variation could improve estimates of height FD. The absence of a significant influence of total phosphorus content on nectar tube depth FD could have been due to how we measured nectar tube depth for Asteraceae, which could also buffer differences between communities. We considered it as a threshold for pollinators by measuring only the first part of the nectar tube (i.e. the cup). However, corolla depth also includes the second part of the flower, which is not accessible by pollinators but still requires energetic investment by plants. Finally, more studies are needed to cover a wider range of phosphorus soil contents; our grasslands had a soil phosphorus content of 0.01-0.06 g.kg⁻¹, which represents a small gradient (Ceulemans et al., 2014).

This result could have direct implications for grassland restoration. Indeed, phosphate fertiliser is often applied for crop production. To decrease the decline in grassland area due in part to

agricultural intensification, grassland restoration can imply addressing the high phosphorus contents in agricultural soil. Doing so could greatly influence the flowering plant species which can maintain stable populations without sowing in restored ecosystems, and potentially floral trait FD. Consequently, soil phosphorus should be analysed before grassland restoration; if it is found to be high, techniques such as soil removal could be applied before restoration (Ceulemans et al., 2011).

We also found a positive influence of an association of soil pH, soil nitrogen content and soil texture on floral trait FD (FD_{total}) and more specifically on FD of both flower area and flower sugar. Our main hypothesis concerned soil nitrogen fertility, but we could not distinguish its influence from those of pH and soil texture. However, declining belowground stress (i.e. an increase in fertility in our case) should lead to more FD in traits associated with soil-resource use (Mason et al., 2013), until reaching levels at which exclusive competition occurs, which could in turn influence floral trait FD. Our study may confirm the overall negative influence of phosphorus fertility on plant species co-existence (Ceulemans et al., 2014), while other soil characteristics could be at the lower range of the belowground stress gradient. The positive influence of the first axis of the soil PCA on flower area CWM may be explained by the selection of plant species with higher investment in visual attractiveness to pollinators due to more resource availability.

During this study, land-use intensification was not the main driver of floral trait FD or CWMs. This absence of direct influence of land-use intensification on floral trait indices may be explained by the small gradient and small number of grasslands we studied. According to the dynamic equilibrium model (Huston, 2014), if productivity and mortality increase at the same rate, diversity should not be influenced. For the grasslands we studied, correlation between defoliation regime and nitrogen fertilisation was high ($r = 0.6$, $P < 0.05$), and these two variables, along with the first mowing date, were used to calculate our intensification index. While more than three cutting events per year may be uncommon, nitrogen fertilisation higher than $100 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{year}^{-1}$ is frequent. Hence, decorrelation between defoliation regime and fertilisation could be greater with a larger intensification gradient, which could lead to a negative influence of intensification on floral trait FD, as found, for instance, by Binkenstein et al. (2013). The same reasons could explain the absence of influence of land-use intensification on CWMs or total flower cover, though other authors did find an influence (e.g. negative influence on CWM_{height} by Garnier et al. 2007; negative influence on forb abundance by (Pakeman et al., 2017).

4.2. Influences of floral trait FD and CWMs on the pollination function

In support of our second hypothesis, we found for the first time a positive relation between floral trait FD and interaction frequency, independent of flowering plant species richness. This result is a new element of the positive biodiversity-ecosystem functioning framework. Furthermore, while pollinators face a global decline (Potts et al., 2010), our results highlight that, besides plant species richness (e.g. Ebeling et al., 2008), floral trait FD could favour pollinator abundance. A future step could be to integrate this positive relation with grassland productivity (biomass and quality; Poutaraud, Michelot-Antalik, & Plantureux, 2017) and production resilience. Studying these potential trade-offs should provide more information about how farmlands can balance human food needs and conservation issues (Burkle et al., 2017).

However, our results contradict those of Fornoff et al. (2017) and Uyttenbroeck et al. (2017), who showed a negative influence of floral trait FD on interaction frequency. This contradiction may be explained by differences in the diversity of pollinator communities sampled in each study. Fornoff et al. (2017) sampled only 67 pollinator species, of which 62% were *A. mellifera*, while Uyttenbroeck et al. (2017) sampled 68 species. In contrast, we sampled more than 200 species. As their sampling effort was similar to or much higher than ours, the low diversity of pollinators they found could have been due to the locations of their experimental sites, whereas we sampled a landscape dominated by semi-natural habitats.

We can also explain this positive relation by the fact that increased pollinator diversity combined with increased floral trait FD could lead to an increase in niche partitioning (e.g. Junker, Blüthgen, & Keller, 2015). This could lead to an increase in interaction frequencies, with a subsequent increase in efficiency (e.g. in flower handling or sugar extraction rate, due to better trait matching between nectar tube depth and mouthpart length; Klumpers et al., 2019). However, when we modelled interaction frequency using a combination of all floral trait FD, we found a positive relation only with diversity of sugar production per FU. This suggests that an increase in reward production diversity was a main factor for niche partitioning of pollinators, probably according to their metabolic needs (Vaudo et al., 2015); however, differences between metabolic needs of pollinators still need to be considered to validate this hypothesis. One could then relate this pollinator trait to the nectar sugar production of the flowers they visit. Finally, niche partitioning according to sugar production could also reflect the degree of sociality of the pollinators we

sampled. For instance, social pollinators may focus on flowers that produce more rewards if they must harvest nectar for themselves and their colony. These social insects may also occupy the best nectar resources due to their high densities and ability to communicate resource positions, forcing other species to exploit less profitable resources (Henry and Rodet, 2018). Overall, pollinators that forage to feed their offspring (i.e. bees, in our study) can be expected to visit flowers that provide more rewards than pollinators with free-living larvae.

The absence of relation between interaction frequency and other floral trait FD was not expected. For instance, flower colour is a major trait in niche partitioning according to Junker et al. (2013). Furthermore, Renoult et al. (2015) found a positive relation between specialisation and matching of flower colour to pollinator visual systems in grasslands in a region little influenced by human activities, but not in two other regions greatly influenced by them. An absence of niche partitioning according to flower colour may be possible if pollinators use plasticity and associative learning when they process flower colour (van der Kooi et al., 2018). Concerning the diversity of nectar tube depth, we may have obtained a low diversity of mouthpart length in our sample despite its high diversity of pollinators. Indeed, approximately half of the pollinators we sampled were Diptera, specifically Muscidae and Tachinidae. While some Diptera families have long mouthparts (e.g. Empididae), Diptera are often considered to have short mouthparts (Woodcock et al., 2014). The diversity of mouthpart anatomy could be also have been low. For instance, most of the Diptera we sampled have sponging-sucking mouthparts which are well adapted for exploiting viscous nectar from shallow flowers (Krenn et al., 2005; Woodcock et al., 2014).

We found no relation between floral trait CWMs and interaction frequency, which is also surprising. For instance, (Fornoff et al., 2017) found a positive relation between interaction frequency and *CWMarea* or *CWMheight* (which were indistinguishable). Hegland & Totland (2005) showed a positive relation between mean flower area and interaction frequency. Finally, Fowler, Rotheray, & Goulson (2016) highlighted a positive relation between mean sugar produced per flower and number of visits by *Bombus* spp., particularly when floral abundance was high. We can explain this absence of relation in our study by a greater role of diversity of sugar production than of its mean value, probably due to a high diversity of pollinator metabolic needs.

4.3. Relations between total flower cover and the pollination function

We highlighted a non-linear relation between total flower cover and interaction frequency, while a

linear relation is commonly found in previous studies (e.g. Ebeling et al., 2008; but see Venjakob, Klein, Ebeling, Tschardtke, & Scherber, 2016). Consequently, we confirmed in part our hypothesis of an increase in pollination function when attractiveness and reward availability increase. In our study, we could explain the negative relation between total flower cover and interaction frequency when total flower cover exceeded 30% by considering plant species composition. Indeed, most high flower cover was due to plants with low attractiveness to pollinators (e.g. *Galium mollugo*) or even pollen toxicity (e.g. *R. acris*; Praz, Müller, & Dorn, 2008).

We also found a non-linear relation between interaction frequency and flowering plant species richness, with a negative relation when richness exceeded approximately six co-flowering species. Ebeling et al. (2008), with the same range of flowering plant species, found only a positive relation between flowering plant species richness and interaction frequency. In our study, 13 of the 27 plant communities with more than six flowering plant species were dominated by *G. mollugo* or *R. acris*. Consequently, we may not have studied some floral traits with strong influence on defining niche partitioning, such as volatile organic compounds or pollen quality (Junker and Parachnowitsch, 2015), which could explain the non-linear relations we found for total flower cover and flowering plant species richness. More studies are needed to know whether these non-linear relations are due only to these specific species or to a more general pattern (e.g. resulting from a trade-off between attractiveness and dominance).

5. Conclusion

In this study, we showed how soil characteristics, and more particularly total phosphorus content, can influence floral trait FD. This result, if generalised to a larger set of grasslands, could have direct implications for grassland restoration. We also found a positive influence of floral trait FD on plant-pollinator interaction frequency, due mainly to *FDsugar*. Our results challenge previous studies but agree with known relations between biodiversity and ecosystem functioning. However, the cause of this positive relation still needs to be validated, notably by considering pollinator matching traits associated with sugar production, such as pollinator metabolic requirements (approximated by body mass) and degree of sociality. Finally, non-linear relations between total flower cover and interaction frequency may reveal a trade-off between flower abundance and attractiveness. Future studies will need to consider floral traits that are more difficult to measure (e.g. secondary metabolites in pollen) to investigate this potential trade-off.

Acknowledgements

We thank the farmers for their authorisation to study their grasslands; Marie-Claire Gégout, Juliette Ducrettet, Ophélie Da Silva, Lucie Sépulchre, Catherine Heinrich, Clara Dumon, Clémence Pechinot, Julien Pierre, Alexis Parret, Jodie Thénard and Claude Gallois for collecting data; Christian Bockstaller, Anne Farruggia and Frédérique Louault for help with the land-use intensification index; Phil Whitters and Anne Vallet for Diptera identification; and Ophélie Da Silva for graphics. JG received a Ph.D. grant from the French Ministry of Higher Education, Research and Innovation for three years. This research was performed in part in the PSDR ASTRAL project, which was co-financed by the Institut National de la Recherche Agronomique (INRA) and the Great East region of France. Fieldwork was supported in part by young-researcher funding of the scientific pole A2F.

Authors' contributions

JG, AM, SP and CR conceived the idea. JG designed the study, advised by AM. JG led the writing of the manuscript and collected the data. JV and SP developed the intensification index. JG, MT and MD analysed the data. JG, AM, MB and CR interpreted the results. All authors contributed critically to the drafts and gave final approval for publication.

CHAPITRE 3 : La masse des pollinisateurs et leur diversité taxonomique sont positivement influencées par la production de sucre par le nectar

Résumé du chapitre 3

Contexte

Au cours du précédent chapitre, nous avons montré une influence positive de la diversité fonctionnelle des traits floraux et en particulier de celle de la production de sucre, sur la fréquence des interactions plantes-pollinisateurs. Ce résultat suggère qu'il existe une complémentarité entre espèces de plantes et entre espèces de pollinisateurs dans ces interactions. Parmi les traits d'interaction des pollinisateurs, la masse corporelle des insectes pourrait être essentielle pour mieux comprendre cette complémentarité entre pollinisateurs. En effet, la masse corporelle des insectes est positivement associée à leur taux métabolique, et le nectar est la source principale d'hydrates de carbone pour ces insectes. A défaut, si la diversité taxonomique des pollinisateurs est influencée par la diversité des traits floraux, il est possible que d'autres traits d'interaction soient impliqués dans ce phénomène de complémentarité. Ces relations s'inscrivent également dans un contexte de déclin des pollinisateurs, pour lequel il est encore nécessaire de mettre en évidence des leviers qui permettraient de le limiter.

Objectif

Au cours de ce chapitre, nous avons comme objectifs de montrer les relations entre la diversité fonctionnelle de la masse corporelle et la diversité fonctionnelle des traits floraux. Nous cherchons également à mettre en évidence les relations entre le CWM de ces traits. Nous avons également comme objectif d'expliquer le niveau de modularité des réseaux d'interactions plantes-pollinisateurs par les variables de diversité fonctionnelle. Enfin, un dernier objectif est de relier la richesse taxonomique des pollinisateurs à la diversité fonctionnelle des traits floraux.

Matériel et méthodes

Ce chapitre s'appuie sur les mêmes données que le chapitre 2. En plus de celles-ci, les insectes pollinisateurs ont été séchés puis identifiés spécifiquement par des experts taxonomiques, et enfin pesés. La masse sèche de certains insectes a été obtenue à l'aide de relations allométriques reliant la largeur de la tête des pollinisateurs à leur masse sèche. Cependant, certains individus n'ont pas

pu être mesurés. S'ils appartenait à une espèce déjà pesée, leur masse était obtenue en moyennant la masse de l'ensemble des individus appartenant à l'espèce. Ainsi, sur les 2823 individus initiaux, ce chapitre porte sur 2731 d'entre eux. En plus des indices de diversité fonctionnelle fondés sur le Q de Rao et les modèles nuls du chapitre 2, nous avons employés d'autres indices (richesse et équitabilité fonctionnelle). Nous avons également calculé un indice de modularité des réseaux d'interactions.

Résultats et discussions

Au total, nos mesures de masse corporelle sèche ont porté sur 247 espèces de pollinisateurs. Seule la richesse taxonomique des pollinisateurs est influencée par la diversité fonctionnelle des traits floraux, mais uniquement par la richesse fonctionnelle de la production de sucre en plus d'une relation quadratique avec la richesse de plantes en fleur. Ainsi, la complémentarité entre pollinisateurs qui pourrait expliquer les résultats du chapitre 2 et qui est également validée dans ce chapitre ne semble pas dépendre de la masse corporelle des pollinisateurs, mais pourrait être liée à d'autres traits des pollinisateurs telle que le niveau de socialité. L'absence de relation entre niveau de modularité des réseaux et diversité fonctionnelle pourrait provenir de biais liés à la petite taille des réseaux, ou à d'autres mécanismes que la complémentarité seule (ex : déplétion des ressources par les espèces sociales).

Le CWM de la masse corporelle est positivement lié au CWM de la production de sucre ainsi qu'au CWM de la profondeur des tubes à nectar, les deux étant positivement corrélés entre eux. Il est également positivement influencé par le recouvrement total en fleurs. Ces résultats montrent que la valeur de trait floraux des espèces de plantes dominantes dans les communautés prairiales est un déterminant majeur de la valeur de la masse des pollinisateurs butinant au sein de ces communautés.

At the community scale, pollinator dry body mass and taxonomic richness are positively influenced by nectar sugar production

Jérémie Goulnik^{*,1}, Sylvain Plantureux¹, Colin van Reeth², Marc Théry³, Alice Michelot-Antalik¹

¹ Université de Lorraine, INRA, LAE, F-54000 Nancy, France

² Centre de Recherches sur les Ecosystèmes d'Altitude (CREA Mont-Blanc), 67 lacets du Belvédère, 74400 Chamonix Mont-Blanc, France

³ UMR 7179 CNRS-MNHN, Mécanismes Adaptatifs et Evolution, Brunoy, France

*Corresponding author. E-mail: jeremiegoulnik@gmail.com

Abstract

Even if pollinator diversity is declining worldwide, drivers explaining pollinator diversity are not well established. Factors driving pollinator diversity at landscape scale and including environmental matrix quality are well studied. However, we also need to incorporate local scale to better address our understanding of these factors.

At local scale, pollinator diversity has been related to plant taxonomic richness and total flower cover. Functional approaches using plant and pollinator traits implicated in their mutualistic interactions, even if giving more insights about mechanisms explaining relation between plant and pollinator diversity, are still rare. Furthermore, very few studies incorporate both plant and pollinator traits in their analysis. Among pollinator traits, pollinator body mass could be essential to consider due to its likely positive relation with metabolic rate.

In this study, we worked on 16 French permanent grasslands, which are main semi-natural habitats for both plant and pollinator diversity. At different organisation levels, we studied the relations between pollinator body mass and floral traits.

We found that mass ratio hypothesis based on sugar production and nectar tube depth was a likely explanation for pollinator mean body mass at the community scale. Functional diversity of pollinator body mass was not explained by functional diversity of floral traits. However, pollinator taxonomic richness was positively influenced by functional richness of sugar production. This result indicates a certain level of complementarity at least between plant species, and likely between pollinator species, yet we were not able to identify mechanisms explaining them. Future studies should incorporate other pollinator matching traits to explain the positive influence of floral trait

functional diversity on pollinator taxonomic richness, like sociality level.

Key-words: Functional traits; plant-pollinator interaction network; trait matching; grassland; functional diversity; CWM

1. Introduction

Pollinator diversity and biomass are facing a decline from a global to a local scale, even if current literature is biased toward some pollinator taxa and especially bees (Goulson, 2019). Multiple reasons have been put forward to explain this trend, including pesticides, pathogens, invasive species, competition with domesticated pollinators but also habitat loss and resource decline (e.g. nesting sites and foods) (Ollerton, 2017; Potts et al., 2010; Roulston and Goodell, 2011). Part of these reasons result from Human activities, and agricultural intensification or land-use intensification at both landscape and local (i.e. in-field) scale could be a main factor of pollinator decline (Ollerton, 2017). Indeed, at landscape scale, an increase in crop cover instead of semi-natural habitats like permanent grassland negatively influences pollinator taxonomic richness (Steffan-Dewenter et al., 2002), yet with also positive influence depending on pollinator taxa (Potts et al., 2010). Semi-natural habitats and especially permanent grasslands has been showed to be main habitat for pollinators due to the rich plant biodiversity they can inhabit, flowering notably all along the season (Orford et al., 2016).

However, permanent grasslands as managed ecosystems have also to face local land-use intensification, with its strong influence on plant communities (Gaujour et al., 2012). Indeed, at local scale, land-use intensification can lead to a decrease in plant species diversity and total flower cover (Pakeman et al., 2017). These two variables have been shown to influence pollinator diversity, as demonstrated for plant species diversity in both experimental sites (e.g. Jena experiment sites: Ebeling et al., 2008; Fornoff et al., 2017; Hudewenz et al., 2012) and *in situ* (Potts et al., 2009). Total flower cover for its part could have positive influence on pollinator taxonomic diversity, yet it is unclear if this influence is linear or saturating as shown for instance by Ebeling et al. (2008). Furthermore, one limit for studies establishing taxonomic plant diversity influence on pollinator taxonomic diversity is the lack of mechanistic explanation, and a functional approach may overcome this issue.

Indeed, plant-pollinator interactions rely on a sequential process which can be studied by using matching, i.e. functional traits (sensus Violle et al., 2007) which mediate interaction between two

trophic levels (Le Provost et al., 2017). Thereafter, they will be called respectively floral traits and pollinator matching for plant and pollinator matching trait implicated in plant-pollinator interaction. This sequential process includes signal and cues emission by flower which must be detected and analysed by pollinators using its sensory systems (Wester and Lunau, 2017). Once pollinators have detected flowers and make the choice to interact with them, they must be able to exploit them. This step implies exploitation barriers, which influence the access to rewards (Klumpers et al., 2019), i.e. to sexual organs for a plant point of view. All these matching trait values vary according to plant and pollinators taxa and even individuals. These values determine plant and pollinator niche breadth (Junker et al., 2013).

Trait matching has been essentially studied at the individuals (Chittka and Raine, 2006) and species scale, notably with the historical works of (Stang et al., 2009, 2006) on nectar tube depth, and more recently with Klumpers et al. (2019) new insights on both nectar tube depth and nectar sugar production, but also with works of Larue et al. (2016) on flower odours. Other have worked at the pollinator group scale (e.g. mix of size classes and pollinator taxa), as Fontaine et al. (2005) and Venjakob et al. (2016). At the community scale, matching trait can be used to compute functional diversity indices which express complementarity level between plants and between pollinators inside each community (Mason et al., 2005). They can also be used to compute mean value of matching trait in a community (or CWM), which is strongly related to the Mass Ratio Hypothesis, i.e. when the most abundant species drive ecosystem functioning (Díaz et al., 2007). Some studies tried to associate functional diversity and/or CWM of flower traits to pollinator taxonomic richness (e.g. diversity of nectar production: Potts et al., 2004, 2003, mean flower area: (Hegland and Totland, 2005), but rarely with flower trait encompassing different main axis of plant niches regarding interaction with pollinators (e.g. Fornoff et al., 2017; Uyttenbroeck et al., 2017). When taking into account network formed by plant-pollinator interactions in a community, trait matching could also be a main driver of network modularity, even if other ecological process could also explain this network structure (Dormann et al., 2017). For instance, we could expect an increase in network modularity with an increase in niche complementarity.

Furthermore, very few studies incorporate pollinator matching trait to try to highlight influence of plant functional diversity on pollinator functional diversity. However, we may expect that as an increase in plant taxonomic richness positively influences pollinator taxonomic richness, a same trend could be highlighted regarding functional diversity. By linking flower trait community indices

to pollinator matching trait community indices, we may greatly increase our understanding of drivers behind the positive influence of plant taxonomic richness on pollinator taxonomic richness (Lavorel et al., 2013). To do so, proper pollinator matching traits must be identified and measured. For instance, pollinator body size and its numerous definition including body mass (Moretti et al., 2017), could be a good candidate, because this pollinator trait is a soft trait (sensu McGill, 2006) of metabolic rate of insects (Brown et al., 2004), mouthpart length at least for bees (Cariveau et al., 2016), and pollen consumption at larval stage at least for some bee species (Müller et al., 2006). It is also related to response to environment, for instance due to its relation with flight distance ability (Cariveau et al., 2016).

In this study, our aims are thus to shown, if i) at the species level, there is any match between pollinator body mass and sugar production of flower they interact with, ii) at the community scale if we can associate functional diversity and CWM of pollinator body mass to floral traits functional diversity and CWM, iii) if pollinator taxonomic richness is related to functional diversity of floral traits and iv) if we can link modularity of plant-pollinator interaction network to functional diversity indices and consequently to niche complementarity of plant and of pollinators. For all these aims, we expected a positive relation between mentioned variables.

2. Materials and methods

2.1. Study sites

Our study took place in 16 semi-natural grasslands near Sarrebourg (48°73N, 7°05E, 250 m a.s.l.) in Moselle region, France, which is characterized by a semi-continental climate. From April-July (i.e., the growing season) 2017, mean daily temperature was 15.3°C, and precipitation was 290.9 mm. The 16 grasslands belonged to a local land-use intensification gradient based on three management variables estimated at an annual scale: percentage of defoliation (by mowing and by livestock), nitrogen fertilization, and mowing earliness. In a 1000 m buffer around each grasslands centre, semi-natural habitats (semi-natural grasslands, orchards, hedgerow, grove, forest edge, thereafter %SNH) represented more than 30% of land cover (range = 32-82%) and crops less than 30% (range = 0.7-25.1%). More details about land-use intensification estimation process and grasslands characteristics (e.g. soil characteristics) are available in Goulnik et al. (submitted).

2.2. Pollinator sampling

We sampled pollinators three (19% of grasslands), four (25% of grasslands) or five (56% of grasslands) times per grassland from May to August 2017 (from 10-17th May, 29th May-2th June, 8-15th June, 5-9th July and 6-8th August). It resulted in a total of 70 sampling events, and 2823 pollinators captured. To allow plants to grow and bloom, we sampled grasslands not mowed for at least three weeks. All grasslands fulfilling this prerequisite were sampled during a sampling session. Except in one case, there was a maximum of seven days between sampling of the first and the last sampled grassland. Each sampling day was divided in four time slots from 10:00 to 18:00 with each grassland randomly assigned to one of these time slots, when possible. Hence, each grassland is sampled at least once during each time slots. We sampled pollinators during sunny days, without wind and with a temperature over 18°C (Ebeling et al., 2008). An insect was considered as a pollinator if it was clearly in interaction with sexual organ parts of flower. Pollinators were caught with a sweep net on a 400 m² transect (100 m long and 4 m wide) per grassland. This transect was located at the centre of each grassland. When a grassland was too heterogeneous regarding its vegetation, transect was located on the centre of a homogeneous vegetation. All the sampling events were carried out during 15 min of walk by J.G. Chronometer was stopped when a pollinator was manipulated. We disregarded Nitidulidae family (Coleoptera; Weiner, Werner, Linsenmair, & Blüthgen, 2014). Each pollinator was stored at 4°C in the field then at -20°C in the lab before being pinned. They were identified at the species level (when possible) by taxonomist experts (see acknowledgements). We estimated flower cover for each flowering species (except Poaceae and Juncaceae) at each sampling session and for each grassland. To do so, we used seven 1 m² quadrats distributed randomly along the transects and estimated the mean percentage of cover for each species (within 1%).

2.3. Floral traits

We measured five floral traits from plant species found during flower cover estimations. Three of them were cues or signals: floral unit (i.e. group of flowers which are accessible by a pollinator without flying between them, thereafter FU) area, flowering height and floral colour. We measured FU area at the nearest mm using a caliper and applying a circle area formula (i.e. $\pi * \text{radius}^2$) for round FU or a rectangle formula (i.e. $\text{length} * \text{width}$) for other shape. We measured flowering height at the nearest cm, from the soil to the top of the FU by taking care to elongate stem at its

maximum (Fornoff et al., 2017). We measured flower colour on the basis of flower reflectance using a fiber-optic spectrometer (AvaSpec 3648; Avantes, Apeldoorn, Netherlands) and a standardized deuterium halogen light source ranging from 300 nm to 700 nm (DH-2000; Ocean Optics, Amersham, UK). We computed colour distance with the receptor noise limited model using the visual system of *Apis mellifera* (Renoult et al., 2017). We also measured nectar tube depth as an exploitation barrier floral trait. Nectar tube depth is the distance between the nectaries and the entrance of a flower where only mouthparts can penetrate (Stang, Klinkhamer, & van der Meijden, 2006). We measured it at the nearest 0.01 mm using a stereomicroscope coupled to a camera (Moticam 5+, Motic, Xiamen, China) and following the methodology of Stang et al. (2006). Finally, we measured sugar production per day per FU (thereafter sugar production) as reward floral trait following the same method of Baude et al. (2016). More details of methods for all floral traits are available in Goulnik et al. (submitted).

2.4. Pollinator dry body mass

From the 2823 pollinators we sampled, we measured dry body mass of 2095 of them. To do so, we used an analytical balance to an accuracy of 0.1 mg (Sartorius SE2, Sartorius, Göttingen, Germany). All pollinators were dried at ambient temperature during at least one month. We weighted each individual with their pin and subtracted off the mean pin mass of the corresponding pin type, each pin type mass being previously estimated from 30 weighted pins per pin type. With 10 different pin type, standard-deviation ranged from 0.05 mg to 0.74 mg, and mean standard-deviation of all pin type was 0.36 mg. For 33 individuals, we could not weight them due to their high damage level. We measured the width of their head using macro-photography (for details, see Goulnik et al., in preparation) and Fiji software. We computed body mass using pollimetry R package (Kendall et al., 2019). Using these two methods, we obtained dry body mass (mg) of 247 species. However, from the 2823 pollinators of our initial dataset, only 2743 were kept in the final dataset for two reasons: some individuals were too damaged to be measured with any of both methods, and errors in individual codes led to duplicates. Both individuals forming a duplicate were removed from the dataset.

2.5. Composition, functional diversity and network indices

2.5.1. Species trait matching

For this part only, pollinator dry body mass of individuals which had not been weighted was

fulfilled with the mean value of weighted individuals of their species. Then, we averaged dry body mass of insects per pollinator species. For each pollinator species, we computed mean floral trait value (except flower colour) of all plant species each pollinator species was found to interact with during all sampling events. From the 2743 pollinator individuals, floral traits of plant species in interaction with them were measured only for 2731 of them.

2.5.2. Functional diversity indices

In the following parts, we consider a community as a sampling event from a given grassland. Furthermore, due to drop of pollinator individuals in our final pollinator dataset, we decided to work only on community with more than 90% of their initial pollinator abundance. It resulted in 64 communities instead of the 70 communities initially sampled. Percentage of lacking pollinator individuals in these 64 communities range between 0 and 9.26 % (median = 0%, mean = 1.58% and standard-deviation = 2.41).

All functional diversity indices we used are based on a distance framework (Schleuter et al., 2010). For all traits except floral colour, distance matrix is a species-species Euclidean distance matrix. For floral colour, we computed colour distances with *A. mellifera* visual system and assembled them in a dissimilarity matrix. Consequently, we cannot associate floral colour with another floral trait to compute a unique index (Botta-Dukát, 2005). For each community, when possible, we computed four functional diversity indices using FD R package (Laliberté et al., 2014) for all floral traits together except floral colour, for each floral trait separately, and for pollinator dry body mass. Trait matrices for the computation of these indices are mean value of each trait for each species. Abundance matrices are total cover per species (%) per community for plants, and number of individuals caught per species and per community for pollinators.

Firstly, we computed Rao's Q entropy index (FD_Q) following Botta-Dukát (2005). FD_Q informs about functional entropy but has been related to functional richness (i.e. occupation level of the functional space by sampled species in a community, it is not weighted by species abundance) and functional divergence (i.e. the degree to which most abundant species are far from the centre of functional space in a community), two of three of the classical components of functional diversity (along with functional evenness, i.e. distribution regularity of the species inside functional space of a community) (Mouchet et al., 2010). Consequently, by using FD_Q , we cannot distinguish functional divergence from functional richness in analysis. However, it has the advantage of being

computable even with one functional trait and even when all species are functionally different. Indeed, in the FD R package, functional divergence need at least two functional traits to be computed, while functional richness as well as functional evenness could not be computed when communities have less than three functional singular species. Using FD R package (Laliberté et al., 2014), we also computed functional richness (FRic) and functional evenness (Feve) based on Villéger et al. (2008) for combination of traits for floral traits and for each trait separately including pollinator dry body mass.

2.5.3. Null models

In order to disentangle functional diversity from taxonomic diversity, we performed null models following the name shuffling approach (Swenson, 2014). Null models consist in the computation of functional diversity index with species names shuffled in trait matrix. This process was applied 999 times for each community and each functional diversity (FD) index (FD_o, Fric) except FEve. Then, standardized effect sizes (SES) were computed for each of them following the formula:

$$SES.FD = \frac{Observed\ FD - mean(nullmodels\ FD)}{sd(nullmodels\ FD)}$$

A positive SES value is interpreted as an observed functional diversity higher than average null value, and lower for a negative SES value (Swenson, 2014). The way we computed null models standardized plant or pollinator species richness and evenness while functional differences between species are free to vary, informing us about the functional diversity independently from species richness and evenness. However, a relation between SES, species richness and evenness may be maintained if communities with the highest species richness are those with highest evenness and functional differences between species. These SES.FD indices were then used as functional diversity index in our following analysis, except Feve which was not transformed.

2.5.4. CWM and total biomass

For each community and using FD R package (Laliberté et al., 2014), we computed community weighted mean indices (CWM; e.g. Garnier et al., 2007) for each trait separately except flower colour (i.e. FU area, FU height, nectar tube depth, sugar production per FU per day for floral traits, and dry body mass for pollinator trait), CWM formula being:

$$CWM = \sum_{i=1}^n p_i X_i$$

with n the number of species in a community, p_i the relative abundance of the i th species in the community and X_i the value of the trait for the i th species.

2.5.5. Network index: modularity

We computed for each community a network modularity index. We used the QuanBiMo algorithm from Dormann and Strauss (2014) which is implemented in the bipartite R package (Dormann et al., 2008). We used a setting step of 10^6 . Network structures are greatly influenced by sampling size. For instance, Fründ et al. (2015) recommended a minimum of 20 links per consumer species (i.e. pollinators in our study) to have reliable specialization network metrics for quantitative bipartite network. In our study, we had not such a sampling size. To account for sampling intensity, we used null model expectations following Dormann and Strauss (2014) to get a z-score which can be interpreted as an observed modularity with a standard deviation which is n times higher than would be expected from random networks having the same marginal totals which represent plants and pollinator abundance distributions (Dormann and Strauss, 2014). We only kept networks with at least 15 links which was the threshold above which QuanBimo algorithm and null model run.

2.6. Statistical modelling

We performed all analyses with R software (R core Team, 2019) and all graphics with ggplot2 R package (Wickham, 2016). Except for species trait matching modelling which is based on linear regression, all models are mixed models initially with grassland identity (thereafter grassland ID) and sampling session as random terms in order to take into account spatial and temporal autocorrelation between statistical individuals. For all models, we applied a correlation coefficient ($|r|$) of 0.5 as a threshold for collinearity and thus variable selection processes (Dormann et al., 2013).

Our model selection is based on AICc with a $\Delta AICc$ threshold = 2. Conditions of application validation followed (Zuur and Ieno, 2016). Goodness of fit evaluation is based on PP-plots. R^2 are computed following (Nakagawa and Schielzeth, 2013) and using MuMin R package (Bartoń, 2019), which allow to distinguish variance or deviance explained by model fixed terms only (R^2_m) and both fixed and random terms (R^2_c). Parameter tests of significance are t-tests based on Kenward-

Roger's methods for linear mixed models (Kuznetsova et al., 2017) and Wald-tests for generalised linear mixed models (Bates et al., 2014). More details are available in Goulnik et al. (submitted).

2.6.1. Modelling of trait matching at the pollinator species level

For our first research question which dealt with the relation between dry body mass of pollinator and floral traits, we fitted linear model with dry body mass of pollinator averaged per species in function of pollinator order, mean sugar production, mean height of all plant species a pollinator species interact with, mean total flower cover, mean %SNH of the grasslands in which they were caught, mean temperature, mean hour of the day and mean date at which they were caught. We computed the same model with nectar tube depth and flower area but without sugar production and flower height due to high correlation between these variables.

2.6.2. Modelling of FD and CWM relations

For our second research question which dealt with the relations between FD or CWM of pollinator dry body and FD or CWM of floral traits, we computed linear mixed models following equation 1. We used the same equation structure for each FD index and CWM separately, yet we could not gather all indices together due to overparametrisation issues. Furthermore, for each FD index type, a model was computed for FD of all traits gathered and on FD of each trait separately.

$$(Eq.1) Y_{ij} = \alpha + \beta_1 x_{1ij} + \beta_2 x_{2ij} + b_i + \tilde{b}_j + \varepsilon_{ij}$$

$$\text{and } b_i \sim N(0, \sigma_b^2) ; \tilde{b}_j \sim N(0, \sigma_{\tilde{b}}^2) ; \varepsilon_{ij} \sim N(0, \sigma^2)$$

with: Y being FD_Q or Fric of Feve or CWM of pollinator dry body mass; i grassland ID (1 to 16); j sampling session (1 to 5); α y-intercept; x_1 FD_Q or FRic or FEve or CWM of floral traits; x_2 total flower cover; β_1, β_2 , their respective associated coefficients; b random term grassland ID; $\tilde{b}$ random term sampling session; ε residuals. Random effects and residuals are mutually independent.

2.6.3. Modelling of pollinator taxonomic richness

For our third objective, we modelled pollinator taxonomic richness in function of functional diversity indices and total flower cover with general linear mixed model with a negative binomial distribution to deal with overdispersion in our response variable (equation 2). There was a non-linear relation between pollinator taxonomic richness and total flower cover. We modelled it with a second-degree polynomial regression. We chose a quadratic function because it had a lower AICc

than a cubic function. To avoid correlation between polynomial terms, orthogonal polynomial terms were calculated using the poly function in R.

$$(Eq. 2) \quad Y_{ij} | b_i, \tilde{b}_j \sim NB(\lambda_{ij}, p)$$

$$\text{with } \log(\lambda_{ij}) = \alpha + \beta_1 x_{1ij} + \beta_2 x_{2ij} + \beta_3 x_{3ij} + b_i + \tilde{b}_j$$

$$\text{and } b_i \underset{iid}{\sim} N(0, \sigma_b^2) ; \tilde{b}_j \underset{jid}{\sim} N(0, \sigma_{\tilde{b}}^2)$$

with: Y being pollinator taxonomic richness; i grassland ID (1 to 16); j sampling session (1 to 5); α y-intercept; x_1 FD_Q or FRic or FEve; x_2 total flower cover; x_3 total flower cover², and $\beta_1, \beta_2, \beta_3$ their respective associated coefficients; b random term grassland ID; $\tilde{b}$ random term sampling session. Random terms are mutually independent.

2.6.4. Modelling of network modularity

Lastly, we modelled network modularity with a linear mixed model following a same structure than equation 1 except Y was network modularity and explanatory variables were FD or CWM of each trait including pollinator dry body mass.

Due to limits mentioned concerning FD and modularity indice computation, the size of our dataset varies with functional indices which is used in models. It is based on 64 communities for models with CWM and with FD_Q, on 60 communities for models with FRic, on 54 communities for models with FEve, and on 46 communities for models with modularity as dependent variable.

3. Results

3.1. General description of pollinators

We sampled 247 species of pollinators from 59 families and five orders. The four main orders regarding the number of species and families were the Diptera with 116 species belonging to 24 families (mainly Muscidae, Tachinidae and Syrphidae regarding the number of individuals), Hymenoptera with 78 species belonging to 13 families (with Apidae, Halictidae and Andrenidae being the main families regarding the number of individuals), Lepidoptera with 31 species belonging to 12 families (mainly Nymphalidae, Lycaenidae, Noctuidae) and Coleoptera with 20 species belonging to 9 families (mainly Cantharidae, Cetoniidae, Cerambycidae) (**figure 1; table J.1**). The last order gather one individual which was a Mecoptera. Mean dry body mass of pollinators

was 16.70 mg and its standard-deviation was 20.98 mg.

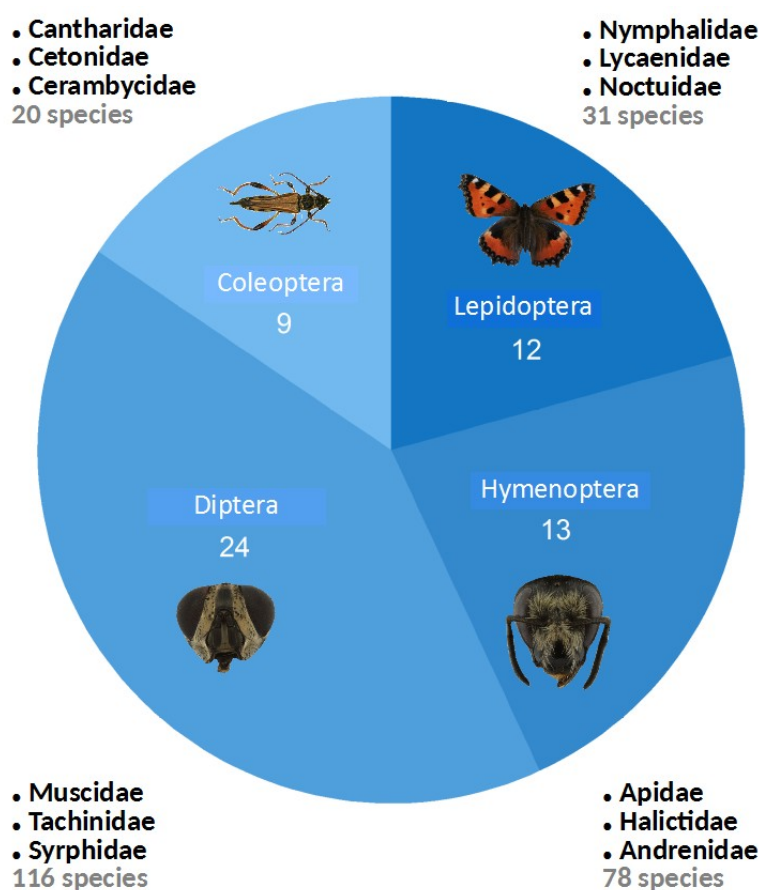


Figure 1: Number of families and species of the four main order of pollinators sampled.

Text in white: number of family per Order; text in grey: number of species per Order. The three families indicated families per order are the main families regarding the number of individuals sampled inside each of them.

3.2. Relation between floral traits and dry body mass at the species level

We found a positive relation between mean dry body mass of pollinator species and the mean sugar production of plant species they interact with ($\beta = 0.005$, $p\text{-value} = 1.19\text{e-}08$; **figure 2A**) and with the mean total flower cover of grasslands where they were caught ($\beta = 54.520$, $p\text{-value} = 1.67\text{e-}05$; **figure 2B**), but a negative one with mean height of plant species they interact with ($\beta = -0.288$, $p\text{-value} = 0.005$; **figure 2C**) and the mean julian day of their capture ($\beta = -0.106$, $p\text{-value} = 0.019$; **figure 2D**). Pollinator taxonomic order had also a significant effect on mean dry body mass of pollinator ($p\text{-value} = 0.007$), with Hymenoptera and Lepidoptera being heavier than Diptera (Tukey Honest Significant Differences on the linear regression containing only pollinator taxonomic order as explanatory variable, $p\text{-value adjusted} = 6\text{e-}07$ and $p\text{-value adjusted} = 4.73\text{e-}05$ respectively) while differences between other pollinator taxonomic order were not significantly different. Our final model which contained these five explanatory variables explained 35% of the variance of the mean dry body mass of pollinator (i.e. $R^2_{\text{adj}} = 0.35$). We also found a positive

relation between mean dry body mass of pollinator and mean nectar tube depth of plant species they interact with ($\beta = 5.675$, p-value = $< 2e-16$; **figure 2E**). However, the model containing this explanatory variable only showed a positive effect of mean total flower cover but not of mean julian day and pollinator taxonomic order, while we could not add mean flowering height due to its important correlation with mean nectar tube depth ($r = 0.56$). R^2_{adj} of this last model equals to 0.47.

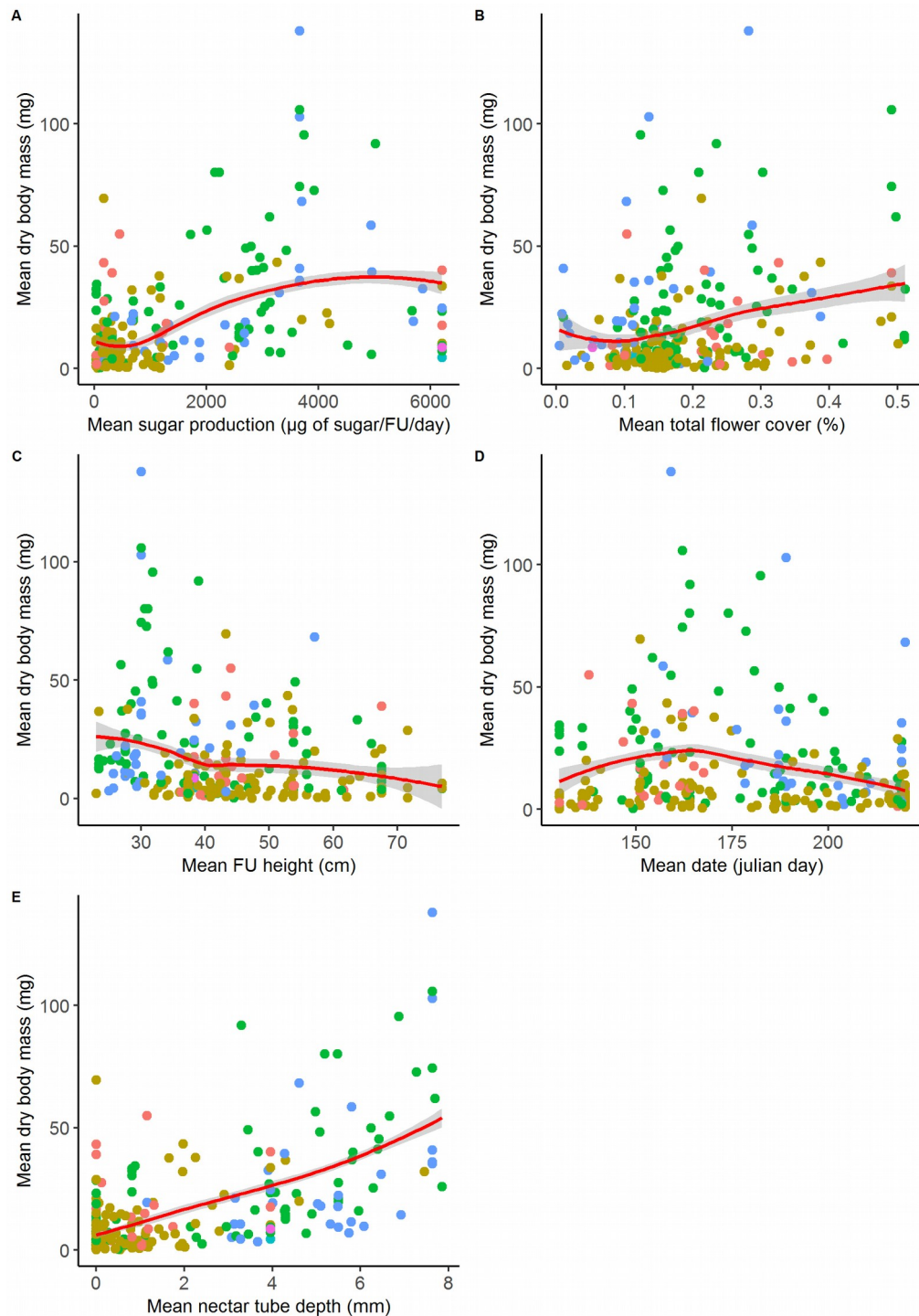


Figure 2: Linear regression models with mean dry body mass as dependent variable.

Predicted fit of linear regression models of the relation between mean dry body mass of pollinator species and A) mean sugar production (μg /FU/day) of all plant species in interaction with each pollinator species, B) mean total flower cover (%) of the communities in which they were caught, C) mean FU height (cm) of all plant species in interaction with each pollinator species, D) mean date (julian day) at which each pollinator species was caught and E) mean nectar tube depth (mm) of all plant species in interaction with each pollinator species. All plots except E) are generated by the same model. Red lines: fitted values projected on raw data by considering other co-variables and random effects of final models. Grey shading around the red line: 95% confidence intervals. Coloured dots are raw data categorized by pollinator taxonomic order. Pink: Coleoptera, mustard: Diptera, green: Hymenoptera, pale blue: Lepidoptera.

3.3. Functional diversity and CWM of pollinators

We found neither relation between functional diversity of dry body mass of pollinator and the functional diversity of floral traits, nor with any environmental variables. CWM of dry body mass of pollinators was positively linked with CWM of sugar production ($\beta = 5.015$, $p\text{-value} = 7.51\text{e-}04$; **figure 3A; table 1**) and total flower cover ($\beta = 4.370$, $p\text{-value} = 0.003$; **figure 3B**), with an explained variance of 28% but reaching 36% when taking into account both fixed and random terms ($R^2\text{m} = 0.28$, $R^2\text{c} = 0.36$). Same relations were found when we replaced CWM of sugar production by CWM of nectar tube depth ($\beta = 6.427$, $p\text{-value} = 6.53\text{e-}06$; **figure 3C**). However, both $R^2\text{m}$ and $R^2\text{c}$ were higher ($R^2\text{m} = 0.34$, $R^2\text{c} = 0.52$). Both models showed a high goodness of fit, yet relation between CWM of sugar production and residuals of the model showed non-linear pattern.

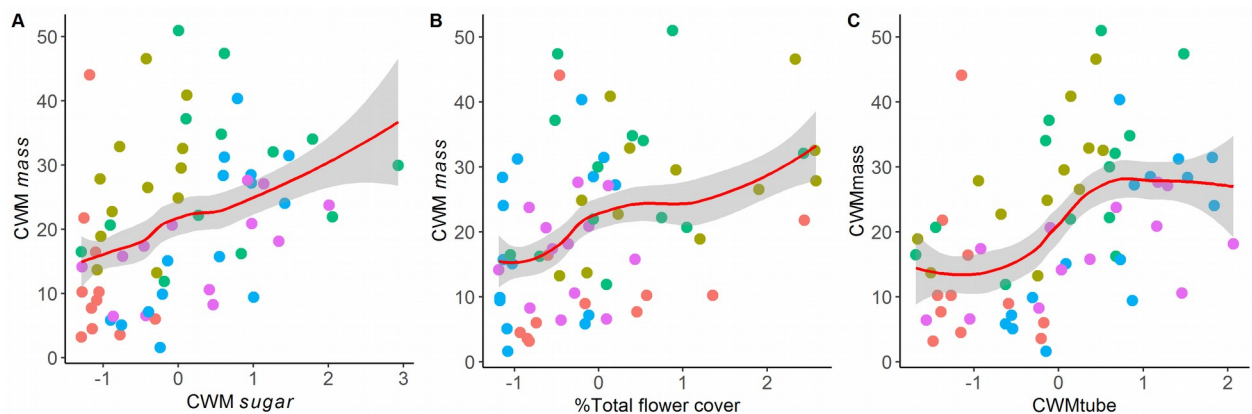


Figure 3: linear mixed-effects models with CWM of pollinator dry body mass as dependent variable.

Predicted fit of linear mixed-effects models of the relation between CWM of pollinator dry body mass and A) CWM of sugar production, B) Total flower cover (%), C) CWM of nectar tube depth. A) and B) are generated by the same model. Red lines: fitted values projected on raw data by considering other co-variables and random effects of final models. Grey shading around the red line: 95% confidence intervals. Coloured dots are raw data categorized by sampling session. Pink dots: mid-May; Mustard dots: early June; Green dots: mid-June; Blue dots: early July; Violet dots: early August.

Table 1: Results of linear mixed models (CWM mass and Modularity as dependent variables) and generalised mixed model (pollinator taxonomic richness as dependent variable).

Dependant variables	predictor	parameter estimate	standard error	t or z-value	<i>P</i>	variance of random term	R ² m	R ² c	df	AICc
CWM <i>masse</i>	Intercept	21.067	1.724	12.217	3.66E-03					
	CWM <i>sugar</i>	5.015	1.347	3.723	0.001					
	Total flower cover	4.370	1.354	3.226	3.16E-03		0.28	0.36	58	488.438
	1 parcelle					5.105				
	1 session					6.211				
	Intercept	21.219	2.280	9.306	5.45E-04					
	CWM <i>tube</i>	6.427	1.291	4.979	6.53E-06					
	Total flower cover	3.651	1.329	2.746	8.51E-03		0.34	0.52	58	478.746
	1 parcelle					8.918				
	1 session					17.684				
Pollinator taxonomic richness	Intercept	2.316	0.184	12.587	< 2E-16					
	FRic <i>sugar</i>	0.203	0.082	2.468	0.014					
	Total flower cover	2.119	0.550	3.855	1.16E-04		0.36	0.60	54	393.183
	Total flower cover^2	-1.675	0.454	-3.690	0.000					
	1 session					0.121				
Modularity	Intercept	1.655	1.253	1.320	2.01E-01					
	Pollinator taxonomic richness	0.243	0.067	3.652	1.02E-03		0.23	0.23	42	260.232
	1 session					0.067				
	Intercept	2.539	1.760	1.442	1.58E-01					
	FEve tube	7.289	3.437	2.121	3.96E-02		0.09	0.20	40	251.810
	1 session					1.744				

3.4. Pollinator taxonomic richness

Pollinator taxonomic richness was positively related to functional richness of sugar production ($\beta = 0.20$, $p\text{-value} = 0.013$, $R^2_m = 0.36$, $R^2_c = 0.60$ for the final model containing this explanatory variable and total flower cover; **figure 4A; table 1**), but not with total functional richness of floral traits nor with functional richness of other floral traits taken separately. Aside from functional richness of sugar production, we found a significant quadratic relation between pollinator taxonomic richness and total flower cover (**figure 4B**) which was correlated with flowering plant taxonomic richness ($r = 0.50$, $p\text{-value} = 5.8e-05$).

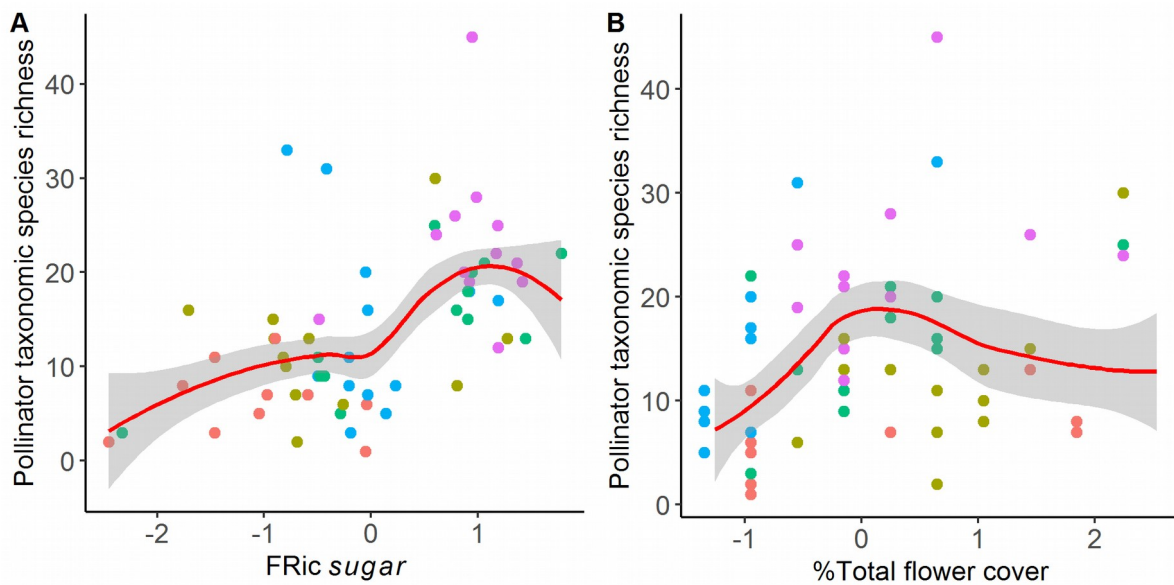


Figure 4: General linear mixed-effects models with pollinator taxonomic richness as dependent variable.

Predicted fit of general linear mixed-effects models of the relation between pollinator taxonomic richness and A) Functional richness (FRic) of sugar production, B) Total flower cover (%). A) and B) are generated by the same model. Red lines: fitted values projected on raw data by considering other co-variables and random effects of final models. Grey shading around the red line: 95% confidence intervals. Coloured dots are raw data categorized by sampling session. Pink dots: mid-May; Mustard dots: early June; Green dots: mid-June; Blue dots: early July; Violet dots: early August.

3.5. Network modularity

Bipartite networks are illustrated by sampling sessions in **figure I.1**. Network modularity was only positively related to pollinator taxonomic richness ($\beta = 0.24$, $p\text{-value} = 0.001$, $R^2_m = 0.23$, $R^2_c = 0.23$; **figure 5A; table 1**) but not to flowering plant taxonomic richness. We also highlighted a positive relation between modularity and functional evenness of nectar tube depth ($\beta = 7.289$, $p\text{-value} = 0.040$, $R^2_m = 0.09$, $R^2_c = 0.20$; **figure 5B**), but not with other functional diversity indices. Both models showed a moderate goodness of fit. However, the positive relation between network

modularity and functional evenness of nectar tube depth was no more significant when we added total number of interactions per community (i.e. plant-pollinator interaction frequency) as an offset. The model had a singular fit issue (i.e. random term variance was null) when we simply added the total number of interactions as explanatory variable. The model containing pollinator taxonomic richness as explanatory variable did not support total number of interactions per community as covariable due to singular fit issue. However, pollinator taxonomic richness and total number of interactions per community were highly correlated ($r = 0.84$, $p\text{-value} = 4.3\text{E-}13$).

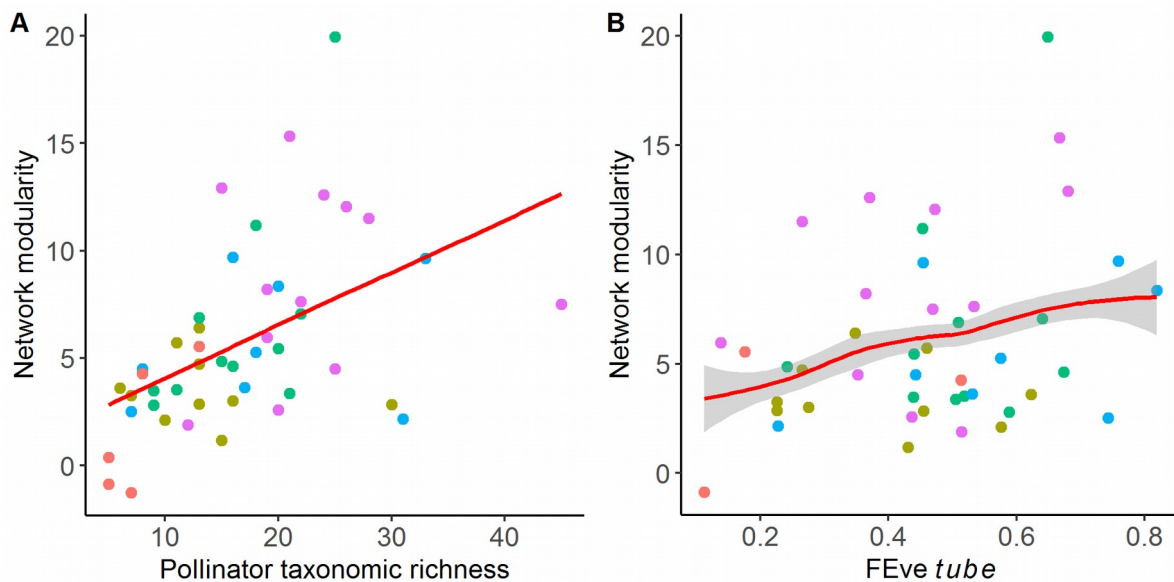


Figure 5: Linear mixed-effects models with plant-pollinator interaction network modularity as dependent variable.

Predicted fit of linear mixed-effects models of the relation between plant-pollinator interaction network modularity and A) Pollinator taxonomic richness, B) FEve of nectar tube depth. A) and B) are generated by the same model. Red lines: fitted values projected on raw data by considering other co-variables and random effects of final models. Grey shading around the red line: 95% confidence intervals. Coloured dots are raw data categorized by sampling session. Pink dots: mid-May; Mustard dots: early June; Green dots: mid-June; Blue dots: early July; Violet dots: early August.

4. Discussion

4.1. Trait matching at the pollinator species level

In this study, we found a significant relation between dry body mass of pollinator species and mean sugar production of plant species each pollinator species interacts with. This result confirms our hypothesis of trait matching, at the species level, between these two matching traits. However, in our study, mean sugar production is significantly correlated with mean nectar tube depth of plant species visited by each pollinator species ($r = 0.69$, $p\text{-value} < 2.2\text{e-}16$), and mean dry body mass of pollinator species was also significantly related to mean nectar tube depth of plant species they interact with. Consequently, larger pollinators may interact with flower harder to access due

to a deeper nectar tube and producing more sugar. Both nectar tube depth and sugar production have been already highlighted to be at the core of trait matching between plant and pollinators (Klumpers et al., 2019; Potts et al., 2004), but in different ecosystems and less pollinator or plant species than in our study (Mediterranean area and bees only for Potts et al., 2004; Colorado, USA and only Asteraceae in Klumpers et al., 2019). Furthermore, a higher mean total flower cover of the sampled community was linked to larger pollinator species. Larger pollinators may look for higher patchy reward to maximise their energy uptake without travelling long distance between flowers due to high energy cost of flight. However, we may also expect that smaller pollinators will look for patchy resource and inhabit near them due to their smaller flight distance ability. Another explanation could come from sociality level of pollinator species which is not taken into account in this study, but could increase the abundance social species (mainly bumblebees which are also parts of the larger pollinator in our study along with some Lepidoptera and Syrphidae species) on patchy reward due to their ability to communicate reward location (e.g. Ratnieks and Shackleton, 2015).

Larger pollinator also interacted on average with plant having shorter FU. This result is opposed to the result of Venjakob et al. (2016) who found small bees going on shorter FU, particularly when plant taxonomic richness is high. They interpreted this result by an increase in complementarity when plant taxonomic richness increases. In our study, mean FU height and mean nectar tube depth of plant visited by pollinator species were negatively correlated ($r = 0.56$, $p\text{-value} < 2.2e-16$), consequently they were exploited by larger species likely due to a correlation between body size and mouthpart length at least for some pollinator taxa (Cariveau et al., 2016).

Lastly, the latter pollinator species were sampled, the smaller they were. Our results could be in congruence with the temporal Bergmann's rule as validated for bees in Mediterranean zone and in congruence with thermoregulatory hypothesis, i.e. larger pollinators are more able to maintain internal heat due to a smaller surface/volume ratio (Osorio-Canadas et al., 2016).

4.2. Functional diversity, CWM of pollinators and pollinator taxonomic richness

Functional diversity of pollinator body mass was not related to functional diversity of floral traits, while CWM of body mass was significantly related to CWM of sugar production, CWM of nectar tube depth and total flower cover. Hence, on the basis of matching traits we measured in this study, pollinator body mass in communities we followed could be more explained by the mass

ratio hypothesis, i.e. when the most abundant species drive ecosystem functioning (Díaz et al., 2007), than by niche complementarity. However, it does not mean that niche complementarity was not a main factor affecting plant-pollinator interactions. Indeed, pollinator taxonomic richness was positively influenced by functional richness of sugar production, i.e. the community's range of this floral trait. Hence, independently from flowering plant species richness, an increase in pollinator taxonomic richness could be influenced by an increase in used niche space by plants (Schleuter et al., 2010). A positive influence of diversity of nectar production was found by Potts et al. (2004) for Israeli bee communities, while functional diversity (but not the same index and not same floral traits) on pollinator species richness was found by Junker et al. (2015) in a simulation based study from real data of Junker et al. (2013). However, Fornoff et al. (2017) did not find a positive influence of functional diversity of floral trait on pollinator taxonomic richness, likely due to differences in pollinator taxonomic richness between these studies (low for Fornoff et al., 2017, almost the same than our study for Junker et al., 2015). However, other pollinator matching traits than body mass could explain this better use of niche space from a pollinator point of view. For instance, an increase in sociality level could generate an increase in sugar need to feed both foraging pollinator itself and broods of the colony it belongs (Vaudo et al., 2015). Moreover, our result could be also explained by competition and resource depletion from most competitive pollinators, letting flower producing less sugar to less competitive pollinator species (Henry and Rodet, 2018).

Pollinator taxonomic richness also followed a significant quadratic relation with total flower cover. Total flower cover is generally found to linearly influence pollinator taxonomic richness (e.g. Ebeling et al., 2008; Hudewenz et al., 2012; Fornoff et al., 2017, but see Venjakob et al., 2016). In our study, quadratic relation may come from dominant flowering species when total flower cover is high, like *Ranunculus acris* and *Galium mollugo* which were lowly attractive for pollinators in our study.

4.3. Modularity

Modularity of plant-pollinator interaction networks significantly increased with pollinator taxonomic richness and functional evenness of nectar tube depth. These results may indicate that modularity in our networks is positively influenced by niche complementarity between pollinator species and between plant species on the basis of their nectar tube depth. However, network

sample size is known to greatly influence its structure and properties (Fründ et al., 2015); and our results are likely largely biased by the number of links in each network. Indeed, the positive influence of the FEve of nectar tube depth on modularity was no more significant when we added number of links as an offset in our model, and number of links was highly correlated to pollinator taxonomic richness.

5. Conclusion

In this study, we found trait matching at species level but at a community scale and mass ratio on the basis of sugar production and nectar tube depth as a likely driver of pollinator body mass at a community scale. Functional diversity of pollinator body mass and thus complementarity between pollinators on the basis of this trait was not explained by functional diversity of floral traits. However, pollinator taxonomic richness was positively influenced by functional richness of sugar production, indicating a certain level of complementarity at least between plant species, and likely between pollinator species, yet we were not able to identify mechanisms explaining them. Future studies should incorporate other pollinator matching trait to explain the positive influence of floral trait functional diversity on pollinator taxonomic richness, like sociality level. Modularity of plant-pollinator interaction networks was too highly influenced by number of network links to be ecologically interpreted with enough reliability. Overall, and in concordance with previous studies, our results highlight the main roles of nectar sugar production and nectar tube depth on pollinator communities, but more specially on pollinator body mass at least for their CWM.

Acknowledgements

We thank the farmers for their authorisation to study their grasslands; Marie-Claire Gégout, Juliette Ducrettet, Ophélie Da Silva, Lucie Sépulchre, Catherine Heinrich, Clara Dumon, Clémence Pechinot, Julien Pierre, Alexis Parret, Jodie Thénard and Claude Gallois for collecting data; Anne Vallet, Phil Whitters, David Genoud, André Claude, Jodie Thénard and Christophe Hanot for pollinator identifications. JG received a Ph.D. grant from the French Ministry of Higher Education, Research and Innovation for three years. This research was performed in part in the PSDR ASTRAL project, which was co-financed by the Institut National de la Recherche Agronomique (INRA) and the Great East region of France. Fieldwork was supported in part by young-researcher funding of the scientific pole A2F.

Authors' contributions

JG, AM, SP and CR conceived the idea. JG designed the study, advised by AM. JG led the writing of the manuscript and collected the data. JG and MT analysed the data. JG and CR interpreted the results. All authors contributed critically to the draft and gave final approval for publication.

CHAPITRE 4 : La surface et la pilosité de la face des pollinisateurs influencent positivement la quantité de pollen présente sur cette zone corporelle

Résumé du chapitre 4

Contexte

Au cours des précédents chapitres, nous avons mis en évidence une relation positive entre diversité fonctionnelle des traits floraux et fréquence des interactions plantes-pollinisateurs. Bien que la fréquence des interactions soit associée à la fonction de pollinisation, elle ne prend pas en compte la variabilité d'efficacité des pollinisateurs dans le transport de pollen et donc pour le flux de pollen *per se* au sein des communautés prairiales. Nous avons également montré que le CWM de masse corporelle des pollinisateurs, une mesure de la taille corporelle, était positivement influencé par le CWM de la production de sucre et de la profondeur des tubes à nectar. De récentes études ont montré que la taille corporelle ainsi que la pilosité des pollinisateurs pouvaient expliquer la quantité de pollen transporté ou déposé par interaction par les pollinisateurs, et seraient donc des traits d'effet de la pollinisation. Cependant, ces études ne portaient que sur quelques espèces de plantes cultivées, avec une variabilité morphologique limitée. La transposition de ces connaissances aux plantes prairiales est donc nécessaire car elle permettrait de mieux comprendre et prédire la fonction de pollinisation au sein des prairies permanentes, et notamment l'importance de la diversité des pollinisateurs dans cette dernière.

Objectifs

L'un des objectifs de ce chapitre est de montrer que la taille corporelle et la pilosité, en influençant positivement la quantité de pollen transporté, sont des traits d'effet de la fonction de pollinisation pour un ensemble de plantes sauvages de milieux prairiaux. Un second objectif est d'étudier l'influence de la production de grains de pollen par les fleurs visitées dans les relations entre ces traits morphologiques et la quantité de pollen transporté.

Matériel et méthodes

Au cours de ce chapitre, nous nous sommes focalisés sur la face des pollinisateurs pour mettre en évidence les relations présentées dans les objectifs. Nous avons pris des macrophotographies de la face des pollinisateurs sur un sous jeu de données des insectes pollinisateurs du chapitre 2 et 3. Ce

jeu de données est constitué exclusivement de Diptères et d'abeilles et rassemble 658 insectes appartenant à 126 espèces ayant été en interaction de manière séparée avec 36 espèces de plantes. Nous avons utilisé une approche par imagerie qui nous a permis de calculer l'entropie de la face des pollinisateurs à partir des photographies, que nous avons considérée comme mesure de la pilosité. A partir de ces photographies, nous avons également calculé la surface de la face des pollinisateurs en utilisant le nombre de pixels la constituant. Nous avons également collecté et compté les grains de pollen présents sur la face des pollinisateurs. Enfin, nous avons utilisé un jeu de données de production de grains de pollen par espèce de plantes par fleur unique provenant d'une collaboratrice. Nous avons combiné ces données avec nos propres données de comptage de fleurs uniques par unité florale pour estimer la production de grain de pollen par unité florale et par espèce de plantes.

Résultats et discussions

La surface des pollinisateurs est fortement liée à la masse des pollinisateurs. Cependant, la relation semble saturante chez les bourdons. La quantité de grains de pollen transporté augmente avec la surface et la pilosité de la face des pollinisateurs, bien que cette dernière pourrait essentiellement être issue d'un signal taxonomique. La production de grains de pollen par les fleurs visitées n'explique pas ces relations. Ainsi, une augmentation du CWM de la production de sucre ou de la profondeur des tubes à nectar au sein d'une prairie permanente peut générer une augmentation de la taille corporelle des pollinisateurs (chapitre 3). Il pourrait résulter de cette relation une augmentation de la quantité de pollen transporté à l'échelle de la prairie. De plus, il est possible que quelle que soit l'espèce de plante visitée, plus un pollinisateur est de grande taille et pileux, plus il peut transporter de grains de pollen, et donc plus il sera un bon pollinisateur potentiel pour une espèce de plante donnée. Cependant, ces hypothèses doivent être validées, en incluant notamment d'autres mesures que celles de la seule face des pollinisateurs.

Face surface and hairiness of pollinators visiting semi-natural grassland wild plants predict their face pollen load

Jérémie Goulnik¹, Sylvain Plantureux¹, Colin Van Reeth², Mathilde Baude³, Geoffrey Mesbahi^{1,4}, Alice Michelot-Antalik¹

¹ Université de Lorraine, Inra, LAE, F-54000 Nancy, France

² Centre de Recherches sur les Ecosystèmes d'Altitude (CREA Mont-Blanc), 67 lacets du Belvédère, 74 400 Chamonix Mont-Blanc, France

³ Université d'Orléans, INRA USC 1328, LBLGC EA 1207, 45067 Orléans, France

⁴ Parc Naturel Régional des Vosges du Nord, 67290 La Petite Pierre, France

*correspondence author. E-mail: jeremiegoulnik@gmail.com

Abstract

1. Semi-natural grasslands are major ecosystems regarding the diversity of plants and pollinators they harbor. Among herbaceous plant species found in semi-natural grasslands, numerous of them depend on pollinators to ensure their pollination. However, pollinators face a global decline, with unequal trends depending on pollinator taxa. Consequences of decline on pollination function in natural ecosystems are unknown due to variability in pollinators effectiveness.

2. While pollination effectiveness has been shown to be related to body size and hairiness of pollinators for some cultivated plant species, studies on pollinators interacting with wild plant species are lacking. Hence, it is essential to investigate the importance of body size and hairiness for a wide diversity of pollinator species that interacts with a diversity of wild plant species found in semi-natural grasslands.

3. We thus worked on plant-pollinator interactions recorded in 16 grasslands in Moselle, France. We sampled 658 pollinator individuals belonging to 127 species in interaction with 36 different wild plant species. For each pollinator individual, we measured the surface of the face and its hairiness, as well as face pollen load.

4. We found a positive relationship between pollen load of pollinator face and their face surface as well as hairiness when we considered all pollinators with all plant species they interact with. However, even if larger and hairier pollinators may transport more pollen grain, future studies will be needed to go beyond a proxy of pollen transfer by linking these likely pollinator effect traits to

pollination outcomes.

Keywords pollination function; effect trait; functional trait; pollen load; bees; diptera

1. Introduction

Semi-natural grasslands are main terrestrial ecosystems dominated by herbaceous plants (Huyghe et al., 2014). They can harbor rich plant diversity (Dengler et al., 2014). However, semi-natural grasslands are threatened ecosystems, notably due to agricultural intensification at both landscape and local scale (Gámez-Virués et al., 2015). At landscape scale, agricultural intensification includes changes in land-use (e.g. by grassland plowing), while at local scale (i.e. plot scale) agricultural intensification corresponds to an increase in intensity of agricultural practices (e.g. increases in mowing frequency and earliness, but also nitrogen fertilization; Huyghe et al., 2014). Land-use intensification can lead to a decrease in plant diversity and assemblage (Gaujour et al., 2012), generating potential decrease in grassland quality for livestock like their antioxidant quality, as well as conservation issues (Poutaraud et al., 2017). In parallel, pollinators have also been showed to decline worldwide due to habitat and food resource loss among other factors (Hallmann et al., 2017; Potts et al., 2010; Roulston and Goodell, 2011), while 78.4% of herbaceous plant species depend on them in temperate zone communities to ensure their sexual reproduction (Ollerton et al., 2011).

However, depending on pollinator taxa, decline trends and level of knowledge concerning them are unequal (Hallmann et al., 2017). They are mainly known for bees, but less for other taxa (e.g. for Diptera), yet pollinator taxa seem unequally susceptible to some environmental perturbation behind pollinator decline. For instance, some main Diptera taxa may be less impacted by land-use intensification than other pollinator taxa due to a more adapted thermal niche (Kühnel and Blüthgen, 2015). Response to these filters, either dispersal, environmental or biotic, which drive community assemblage are functional traits (sensus Violle et al., 2007) known as response traits (Lavorel and Garnier, 2002).

Furthermore, pollinators are involved in mutualistic interaction with plants, and links between these two trophic levels are mediated by matching traits (e.g. Le Provost et al., 2017). Indeed, a pollinator ability to detect and exploit efficiently a flower is strongly impacted by their respective matching trait values (Klumpers et al., 2019; Schleuning et al., 2015). As a result, change in community flower matching trait values and diversity in response to land-use intensification (e.g.

Binkenstein, Renoult, & Schaefer, 2013) could also impact pollinator community assembly. Consequently, both pollinator responses to environment and matching ability with local floral traits drive plant-pollinator interactions. Hence, predicting the consequences of pollinator declines or shift in community composition on pollination function (i.e. transfer of pollen grains between stamens and stigma of flowers) requires assessing pollination efficiency of pollinator species in interaction with diverse plant species.

At a community scale, pollination function is studied by two main ways. Firstly, it can be approximated by the simplest measure of pollination function, which is measurement of plant-pollinator interaction frequency (Bartholomé and Lavorel, 2019). However, pollination function can be more accurately studied by measuring or approximating pollen transfer *per se* (Bartholomé and Lavorel, 2019), because pollinators are unequal concerning their pollination efficiency (a term reviewed in Willcox, Aizen, Cunningham, Mayfield, & Rader, 2017). Pollinator pollen load and quantity of pollen deposited per interaction give more insights about pollinator effectiveness than interaction frequency alone (King et al., 2013), yet with evident shortage regarding pollination outcome like differences between self vs outcross pollen transfer (Arceo-Gómez et al., 2019). Differences between pollinators regarding pollen transfer as a component of pollination effectiveness are not yet well established in the current literature. These differences may be explained by pollinator effect traits, i.e. functional traits which determine effects of organisms on ecosystem function (Lavorel & Garnier, 2002). Effect traits are essential to consider in order to understand and predict relationships between the diversity as well as the composition of pollinators visiting flowers and pollination function in communities from natural habitats, notably following anthropic perturbations (Lavorel et al., 2013).

Recent studies have highlighted the potential role of body size and hairiness as effect traits due to their positive relationship with quantity of pollen transported and deposited per interaction (Bartomeus et al., 2018; Phillips et al., 2018; Stavert et al., 2016). The face of pollinators, in particular the region between antennae, has been shown to be a likely safe site, i.e. a body part hardly accessible for grooming (at least for some *Bombus terrestris* and *Apis mellifera* ; Koch et al., 2017). However, the face of pollinators is not the only safe site (Koch et al., 2017), and there is a variability of pollinator body parts where pollen can be essentially deposited depending on flower morphology (see e.g. Harder & Barrett, 1996). Furthermore, quantity of transported pollen grains may also mirror plant adaptation to their main pollinator traits. Indeed, a larger pollinator

exchange surface implies more pollen grains to reach stigma. Following this hypothesis, plants visited mainly by larger pollinators could produce more pollen grain than flowers visited by smaller pollinators as proposed by Cruden (2000). Yet this author did not consider pollinator hairiness which could buffer the impact of pollinator surface, because for a given pollinator head surface, more hair could mean more transported pollen grains.

Studies dealing with pollinator effect traits considered only a limited number of plant species which were often cultivated plants and with roughly same flower morphology (Bartomeus et al., 2018; Phillips et al., 2018; Stavert et al., 2016). Furthermore, these studies focus on a relatively limited number of pollinator species, with a usual bias toward bees. Hence, these pollinator effect traits for wild plant species and for a larger plant species pool need still to be validated. However, one must keep in mind that groups of pollinators may not visit the same plant partners. Comparison of pollination effectiveness between these pollinator groups may be misleading because different plant species have different pollen limitation or morphology (e.g. Harder & Barrett, 1996; Larson & Barrett, 2000). Consequently, investigating effects traits related to pollination efficiency of a large set of pollinating species interacting with diverse plant species may not allow us to make direct predictions regarding pollination efficiency of different group of species (eg. bees vs flies) due to their wide differences in matching trait value.

We studied a set of pollinator and plant species corresponding to a wide diversity of organisms found in semi-natural grasslands. Our objective was to reveal differences in potential for pollen transports and consequently pollen transfer by pollinators which could be explained by differences in morphological effect traits. Especially, we answered to the following questions: Is pollinator face pollen load positively related to pollinator face surface and hairiness? Can we explain these relationships by pollen production, i.e. number of pollen grains produced per floral unit, of plant species? We hypothesized that pollinator face pollen load increased with pollinator face surface and hairiness, but this increase also mirrored an adaptation of plant species to the increase in pollen dispersion when exchange surface (i.e. pollinator face surface in this study), also increases.

2. Material and Methods

2.1. Study sites

This study took place in 16 semi-natural grasslands in Moselle, France, in a 12 km² radius circle near Sarrebourg (48°73N, 7°05E, 250 m a.s.l.). The climate of our study site is semi-continental and

characterized by a temperature range between winter and summer which is high. Mean daily temperature was 15.3°C and sum of precipitation was 290.9 mm from April to July 2017. All grasslands have relatively homogeneous landscape features with more than 30% of semi-natural habitats in a buffer of 1000 m around grassland centroid (ranging from 32 to 82%), and belong to a local land-use intensification gradient. Details of grasslands characteristics and selection process are available in supplementary material.

2.2. Pollinator sampling and preparation

A unique operator (J.G.) sampled pollinators from May to August 2017, with a sweep net on a 400 m² (100 m long and 4 m wide) transect per grassland. Insects clearly in contact with reproductive parts of plants were sampled and considered as pollinators. Name of each plant species in interaction with each pollinator was noted. Sampling took place between three to five times per grassland all along the season, from 10:00 to 18:00 during shiny days without wind and with temperature above 18°C. Pollinators were sampled for 15 minutes, with chronometer stopped every time a pollinator was caught and manipulated. In the field, pollinators were put in a clean vial and stored at 4°C in a cooler, and then at -20°C in the lab. They were pinned by avoiding contact of pollinator with any surface except pins themselves. To do so, we grabbed pollinators at the basis of their wings, and pinned them directly on a reversed pin with the help of a clamp. Because our dataset was mainly composed by Diptera and Hymenoptera (respectively 40% and 44% of all pollinators sampled), we focused only on these two orders, and exclusively on bees for Hymenoptera. Pollinators were identified by taxonomist specialists (see acknowledgments). We chose a subset of pollinator individuals in order to cover as much as possible the species diversity of insects sampled. Hence, our pollinator dataset is based on 658 individuals belonging to 127 pollinators species (87 Diptera species and 40 bee species) with between 1 and 36 individuals per species (median = 2, mean = 5.2, sd = 7.1), which have been found in interaction with 36 plant species (median of interaction per plant species = 5.5, mean = 18.2, sd = 27.7).

2.3. Pollinator face hairiness and surface

Once pollinators were dried, we took pictures of their face using a 5D Mark IV (Canon, Japan) coupled with a MP-E 65mm f/2.8 1-5x Macro Photo (Canon, Japan) as macro lens. F number was 7.1, exposure time was 1/200 second and ISO was 160. Pictures were taken in a white polystyrene box. We used two flashes (Speedlite 430EX III-RT, Canon, Japan) at 1/4 of their power and coupled

to a transmitter (ST-E2 speedlite, Canon, Japan) as light source. We used an automated motorized rail (Stackshot macro rail package, Cognisys, Traverse City, USA) to take multiple picture of a pollinator face, with a same distance d between each photography. d ranged between 75 μm and 350 μm depending on the magnification which ranged between five times and three times depending on the pollinator face size. Pictures of a same pollinator were stacked using Helicon Focus 7.5.6 software (Helicon Soft, Kharkiv, Ukraine). We computed hairiness measurements of pollinator face using the methodology proposed by Stavert et al. (2016) and MatLab software (v.8.5.0.197613 R2015a). They proposed to compute hairiness as a Shannon entropy index of macro-photography. The more Shannon entropy index was high, the more hairiness was important. However, in our case, cornea of each ommatidia composing compound eyes were often considered wrongly as hair, increasing artificially hairiness index. Consequently, we removed compound eyes using GIMP 2.8 software before computing hairiness index.

We also had to remove some pollinator species with heavily punctured head (e.g. *Halictus tumulorum*, *Lasioglossum pauxillum*) because we failed to make the proper settings on the camera and with the MatLab program to distinguish cuticle texture from hair. Lastly, we removed bumblebees with black cuticle and black hairs (e.g. *Bombus lapidarius* and *Bombus terrestris*) because our settings did not allow algorithm to distinguish hairs probably due to a lack of color contrast, a problem also known in human face recognition techniques (e.g. Laytner, Ling, & Xiao, 2014).

According to Moretti et al. (2017), body size corresponds to the size of the body and includes body length, body width, body mass and body volume. In our study, we only consider face surface of pollinators as a proxy of their body size because we focus on face pollen load. By doing so, we can directly link a surface to pollen grain present on it, which will not be true if we work with total body size. To do so, we used surface of the face of pollinators in pixels which is also computed by the script developed by Stavert et al. (2016) and divided it by the magnification of the lens used when taking pictures.

However, to validate the relationship between face surface and body size, we also weighted dry body mass of pinned pollinators. From the 658 insects which constituted our dataset, only 543 could be directly weighted. We used an analytical balance with an accuracy of 0.1 mg (Sartorius SE2, Sartorius, Göttingen, Germany). All pollinators were dried at ambient temperature during at least one month. We weighted each individual with their pin and subtracted off the mean pin mass

of the corresponding pin types, each pin type mass being previously estimated from 30 weighted pins per pin type. For our 10 different pin types, standard-deviation ranged from 0.05 mg to 0.74 mg, and mean standard-deviation of all pin type was 0.36 mg.

2.4. Pollen load of pollinator face

Once pollinator pictures were taken, we collected pollen grains on pollinator face using small fuchsine jelly blocs following Kearns & Inouye (1993) recipe. To be sure to sample all pollen grains, we used a stereomicroscope at 50 times magnification when collecting them, and gently swabbed pollinator face with fuchsine jelly blocs until no more pollen grains were present. Then, fuchsine jelly blocs were placed on microscopes slides and gently melt at 60°C. Then, they were cooled at ambient temperature with a small piece of metal on them to get a thin two-dimension microscope slides. Pollen grains were count at 50 times magnification using an optic microscope (Leica DM 2500, Leica Microsystems GmbH, Wetzlar, Germany). For slides hard to manually count, we took pictures of slides using an optic microscope at 50 times magnifications and coupled with a camera (Leica EC3, Leica Microsystems GmbH, Wetzlar, Germany). Then, we counted the number of grains on each picture using Fiji software (v1.51j) and cell counter plugin which allow an automatic count of manually selected cell on pictures. We did not identify pollen grain taxa, consequently our measure of pollen load does not make any distinction between mono vs hetero-specific pollen grains.

2.5. Pollen production per floral unit

The quantity of pollen grains produced per flower for a subset of species found in the field (29 in 36 species) was retrieved from a dataset built from species surveyed in the UK. The methodology for pollen extraction and counting is the same of those presented in (Dicks et al., 2015). Newly dehiscent stamens were collected (range 1-460 stamens per tube depending on the species) from flower buds collected in the field and opened in the lab after 24-72h. They were stored in 1.5 mL eppendorf tubes filled with 70% EtOH. Samples were vortexed for 30s and sonicated for 10 min to release the pollen from the anthers and the plant debris were manually removed after four successive rinses with 200-400µL of 70% EtOH. The resultant filtrate was centrifuged for 10 min at rcf 14 to produce a concentrated pellet of pollen which was dried in the oven at 60°C during 30-90 min. The pellet of pollen was re-suspended in a known volume of 70% EtOH (60 to 1000µL depending the species). The number of pollen grains from 1-2 distinct samples was quantified by

two independent visual counts under light microscopy using a counting chamber composed of 144 squares of 0.0125µL (Haemocytometer of the modified Fuchs-Rosenthal). The number of pollen grains per flower was simply scaled-up from the number of pollen grains per stamens, considering the number of stamens per flower (mean number of stamens counted on five flowers or retrieved from the literature).

Floral unit (thereafter FU) is an aggregation of flowers accessible by a pollinator without flying and could be a more relevant scale to study influence of pollen production on pollinator pollen load. Consequently, from permanent grasslands we followed for pollinators catching, we counted single open flower per FU on 10 individuals per species. We computed pollen production per FU by multiplying pollen production per single flower with mean number of single flower per FU.

2.6. Statistical analysis

We performed all our analysis with R v3.5.2 software (R core Team, 2019) and all our graphs using ggplot2 R package (Wickham, 2016).

2.6.1. Relations between face surface of pollinators and their dry body mass

Firstly, we modelled the relationship between pollinator face surface and their dry body mass. To do so, we used a linear mixed model (LMM) with lme4 R package (Bates et al., 2014). We modelled these relations with a second degree polynomials regression following equation 1. We choose a quadratic function due to non-linearity issue and because of the shape of the relationship. We computed orthogonal polynomial terms with poly function in R to avoid correlation between them.

$$(1) Y_i = \alpha + \beta_1 x_{1i} + \beta_2 x_{2i} + b_i + \varepsilon_i$$

$$\text{and } b_{i \text{ iid}} \sim N(0, \sigma_b^2) ; \varepsilon_{i \text{ iid}} \sim N(0, \sigma^2)$$

with: Y being face surface of pollinators; i pollinator species (1 to 109); α y-intercept; x_1 pollinator dry body mass; x_2 pollinator dry body mass²; β_1 and β_2 their associated coefficients; b random term pollinator species; ε residuals.

2.6.2. Differences between Diptera and bees for face surface, hairiness and pollen load

Then, we described differences between Diptera and bees for hairiness and surface of pollinator face using LMM and following equation 2:

$$(2) \quad Y_{ij} = \mu + \alpha_{ij} + b_i + \tilde{b}_j + \varepsilon_{ij}$$

$$\text{and } b_i \sim N(0, \sigma_b^2) ; \tilde{b}_j \sim N(0, \sigma_{\tilde{b}}^2) ; \varepsilon_{ij} \sim N(0, \sigma^2)$$

with: Y being face hairiness or surface of pollinators; i pollinator species (1 to 127); j plant species (1 to 36); μ y-intercept; α_{ij} effect of pollinator taxa (i.e. Diptera or bees); b random term pollinator species; $\tilde{b}$ random term plant species; ε residuals. Random terms are mutually independent.

We also compared face pollen load between Diptera and bees. We used generalized linear mixed models (GLMM) with a negative binomial distribution due to overdispersion issue using lme4 R package and following equation 3. In the rest of our analysis, we had also overdispersion issues and that is why we used negative binomial distribution.

$$(3) \quad Y_{ij} | b_i, \tilde{b}_j \sim \text{NB}(\lambda_{ij}, p)$$

$$\text{with } \log(\lambda_{ij}) = \mu + \alpha_{ij} + b_i + \tilde{b}_j$$

$$\text{and } b_i \sim N(0, \sigma_b^2) ; \tilde{b}_j \sim N(0, \sigma_{\tilde{b}}^2)$$

with: Y being face pollen load while other parameter are the same than in equation 1.

2.6.3. Effects of pollinator hairiness and surface of the face on total face pollen load

For our first research question which dealt with the relationships between face pollen load of pollinators and their face hairiness and surface, we used a GLMM following equation 4.

$$(4) \quad Y_{ij} | b_i, \tilde{b}_j \sim \text{NB}(\lambda_{ij}, p)$$

$$\text{with } \log(\lambda_{ij}) = \alpha + \beta_1 x_{1ij} + \beta_2 x_{2ij} + b_i + \tilde{b}_j$$

$$\text{and } b_i \sim N(0, \sigma_b^2) ; \tilde{b}_j \sim N(0, \sigma_{\tilde{b}}^2)$$

with: Y being face pollen load of pollinators; i pollinator species (1 to 127); j plant species (1 to 36); α y-intercept; x_1 pollinator face surface; x_2 pollinator face hairiness and β_1, β_2 their respective associated coefficients; b random term pollinator species; $\tilde{b}$ random term plant species. Random terms are mutually independent. We could not add an interaction term between pollinator face

surface and hairiness due to model convergence issues. We also studied the same relationships by replacing all pollinators by only bees and only Diptera in two separate models. Model equations stay the same than equation 3 concerning their structure, except that for model with bees only, i become bee species (1 to 39) and j plant species (1 to 23). For model with Diptera only, i become Diptera species (1 to 88) and j plant species (1 to 30).

To test the interaction between pollinator face surface and hairiness on face pollen load, we averaged measurements at the species level. We modelled with a generalized linear mixed model (GLM) following a negative binomial distribution the same relationships except we added an interaction term between the two explanatory variables. To do so, and following equation 5, we used MASS R package (Venables and Ripley, 2002).

$$(5) Y_i \sim \text{NB}(\lambda_i, p)$$

$$\text{with } \log(\lambda_i) = \alpha + \beta_1 x_{1i} * \beta_2 x_{2i}$$

with: Y being rounded mean face pollen load of pollinators; i pollinator species (1 to 127). α y-intercept; x_1 mean pollinator face surface; x_2 mean pollinator face hairiness and β_1, β_2 their respective associated coefficients.

2.6.4. Relations with pollen production per floral unit

Lastly, to test whether pollen production per FU is related to pollinator face hairiness and surface, we first used a LMM following equation 6. However, from 658 insects of our initial dataset, only 460 had their interacting plant available for pollen production.

$$(6) Y_{ij} = \alpha + \beta_1 x_{1ij} + b_i + \tilde{b}_j + \varepsilon_{ij}$$

$$\text{and } b_i \underset{iid}{\sim} N(0, \sigma_b^2) ; \tilde{b}_j \underset{jid}{\sim} N(0, \sigma_{\tilde{b}}^2) ; \varepsilon_{ij} \underset{iid}{\sim} N(0, \sigma^2)$$

with: Y being face hairiness or surface of pollinators; i pollinator species (1 to 110); j plant species (1 to 24); α y-intercept; x_1 pollen production per FU; β_1 , its associated coefficients; b random term pollinator species; $\tilde{b}$ random term plant species. Random terms are mutually independent. ε residuals. Random effects and residuals are mutually independent.

Then we used same equation and same process than for equation 5, except we also averaged

mean pollen production per FU per pollinator species, and modelled with a GLM mean face pollen load of pollinators following equation 7. Indeed, we could not use GLMM due to model assumption issues.

$$(7) Y_i \sim \text{NB}(\lambda_i, p)$$

$$\text{with } \log(\lambda_i) = \alpha + \beta_1 x_{1i} + \beta_2 x_{2i} + \beta_3 x_{3i}$$

with: Y being rounded mean face pollen load of pollinators; i pollinator species (1 to 110). α y-intercept; x_1 mean pollinator face surface; x_2 mean pollinator face hairiness; x_3 mean pollen production per FU of all plant species in interaction with pollinator species i , and $\beta_1, \beta_2, \beta_3$ their respective associated coefficients.

2.6.5. Model selection and validation

For our models, we selected variables by applying a correlation coefficient ($|r|$) of 0.6 as a threshold for collinearity (Dormann et al., 2013). When models showed failure in convergence, we dropped random term provoking convergence failure (Barr et al., 2013). We did the same when model singular fit mirrored variance of random terms near or equal to zero. Model assumptions were assessed following Zuur & Ieno (2016). We performed model selections using BIC, and consequently run our model mixed models using maximum likelihood for parameter estimation (Bates et al., 2014). When $\Delta\text{BIC} < 2$ for nested models, we kept the most parsimonious models. We tested parameter significance using t-test based on Kenward-Roger's methods with the lmerTest R package (Kuznetsova et al., 2017) for linear mixed models and using Wald-test with the lme4 R package (Bates et al., 2014) for generalized linear mixed models. We computed R^2 on final models using MuMIn R package (Bartoń, 2019). It quantifies variance explained by fixed effects (marginal type, thereafter R^2_m) and fixed plus random effects (conditional type, thereafter R^2_c). For GLMM and GLM, we computed pseudo- R^2 with the same R package and with trigramma method due to their logarithmic link function. All plant species are not in interaction with all pollinator species which could lead to a parameter estimation biased toward plant and pollinator species which are well represented in our study.

3. Results

3.1. Relations between face surface of pollinators and their dry body mass

With the 543 pollinators belonging to 109 species we could weight, we found a significant quadratic relationship between dry body mass and face surface of pollinators (**table 1** for model details). Variance explained by both polynomial terms was high with a $R^2m = 0.70$. Relationship between dry body mass and face surface of pollinators was linear until reaching a saturating trend where dry body mass increases but not surface of the face and corresponding essentially to bumblebees (**figure 1**).

3.2. Differences between Diptera and bees for face surface, hairiness and pollen load

Overall, we sampled 658 pollinators belonging to 127 species (**table K.1**). Total face pollen load ranged between 0 and 1655 pollen grains (60.5 ± 178.0 ; mean $\pm$ SD), surface of the face of pollinators between 40581.6 and 2516762.0 pixels (778943.4 ± 553691.1) and hairiness of pollinator face between 14.2 and 161.0 (72.4 ± 27.4). Bees had a higher surface of the face than Diptera (t-value = 4.9, df = 128.1 $P < 2.58e-06$, $R^2m = 0.16$) and showed a bi-modal distribution in our dataset (**figure 2A**). Bees had also a higher hairiness of the face (t-value = 12.1, df = 130.8, $P < 2e-16$, $R^2m = 0.51$, **figure 2B**) a higher face pollen load (z-value = 11.9, df = 654, $P < 2e-16$, $R^2m = 0.13$; **figure 2C**) than Diptera.

Table 1: Results from the main linear mixed models (LMM) and generalised linear mixed models (GLMM).

t-values are for the first model (LMM), z-values for the other models (GLMM).

Dependent variables	predictor	parameter estimate	standard error	t or z-value	P	variance of random term	R ² m	R ² c	df
Pollinator face area (pxl)	Intercept	796300	24990	31.870	< 2e-16	59180000000	0.70	0.94	97
	Pollinator dry mass (mg)	9261000	371400	24.930	< 2e-16				491
	Pollinator dry mass^2 (mg^2)	-2373000	186400	-12.730	< 2e-16				541
	1 pollinator species								
Total face pollen load	Intercept	2.860	0.114	25.156	< 2e-16	0.730	0.18	0.34	653
	Pollinator face area (pxl)	0.723	0.114	6.324	2.54e-10				
	Pollinator face hairiness	0.322	0.098	3.289	0.001				
	1 pollinator species								
Diptera total face pollen load	Intercept	2.237	0.186	12.051	< 2e-16	0.415 0.348	0.05	0.23	424
	Pollinator face area (pxl)	0.433	0.104	4.151	3.31e-05				
	1 pollinator species								
	1 plant species								
	Intercept	4.186	0.204	20.528	< 2e-16				

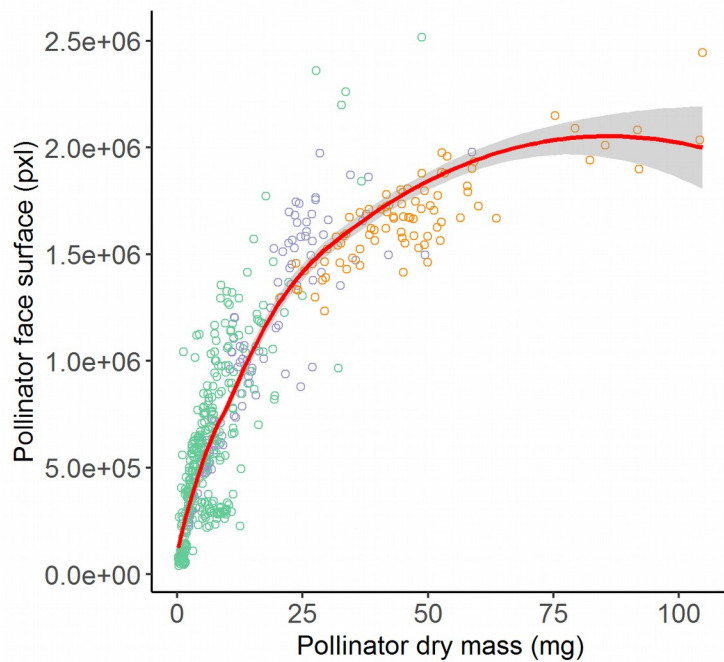


Figure 1: Linear mixed effects model predicted fit of the relationship between pollinator face surface (pxl) and pollinator dry mass (mg).

Fitted values are projected on raw data and take into account random effect of the model. Grey shading around the red line are 95% confidence intervals. Colour circle are raw data (i.e. pollinator individual) categorized by Diptera (green circle), bees except *Bombus* sp. (violet circle) and *Bombus* sp. only (orange circle).

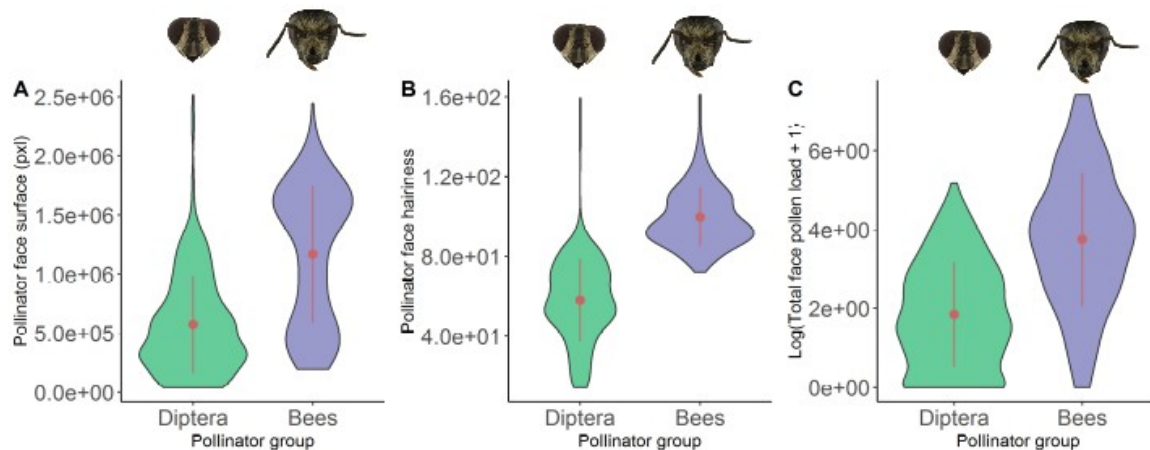


Figure 2: Probability density plots of the pollinator face surface, hairiness and pollen load.

Probability density plots of the pollinator mean (red point) and standard deviation (red lines) according to pollinator group with Diptera (in green) and bees (in violet) of A) pollinator face surface (pxl), B) pollinator face hairiness and C) log(total face pollen load +1) to increase readability. Pollinator pictures are not at the same magnification (five times for *Sarcophaga carnaria*; 4.5 times for *Bombus sylvarum*).

3.3. Effects of pollinator surface and hairiness of the face on total face pollen load

We found a positive relationship between total face pollen load of pollinators and surface of the face of pollinators ($b = 0.723$; $P = 2.54e-10$; **figure 3A**), and hairiness of pollinator face ($b = 0.321$; $P = 0.001$; **figure 3B**; $R^2_m = 0.18$ for the model containing both explanatory variables, **table 1**). However, when we added pollinator taxonomic order as an explanatory variable, hairiness of pollinator face was no more kept in final model after model selection, while surface of the face was still kept ($\Delta BIC = 6.31$ between the model containing all explanatory variables and the model without pollinator face hairiness; but not due to collinearity between pollinator taxonomic order and hairiness) and the positive relation between face pollen load and surface of the face was still significant ($b = 0.647$, $P = 4.69e-09$). This last model also showed a higher R^2_m equals to 0.24. However, deviance explained by pollinator species as random term (which was the only random effect kept in final model due to convergence issue) was high for both models ($R^2_c = 0.34$ and $R^2_c = 0.36$ respectively).

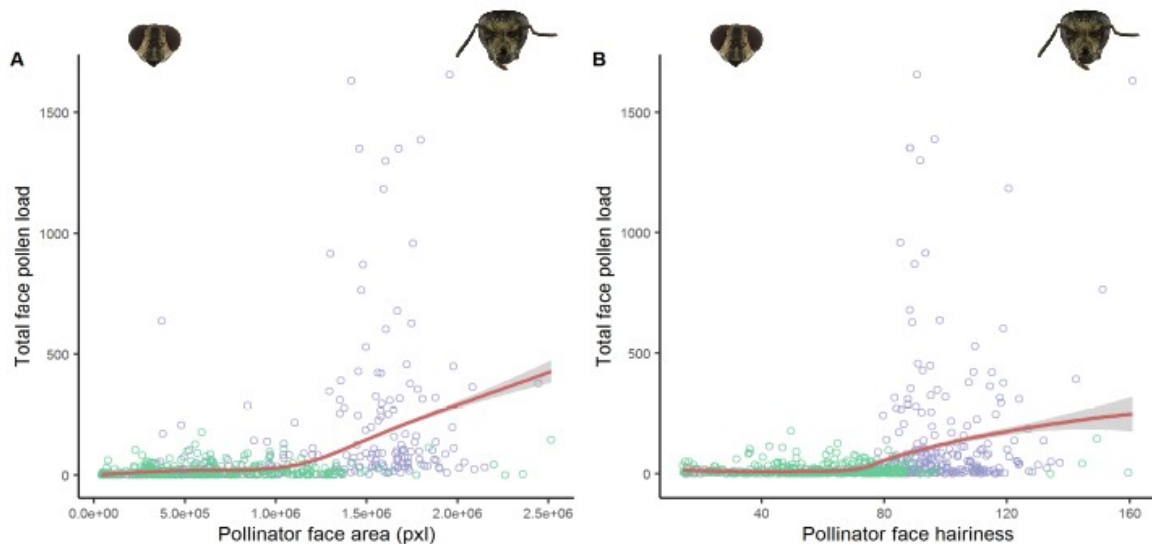


Figure 3: General linear mixed effects model predicted fit of the relation between total face pollen load and A) pollinator face surface (pxl) B) and pollinator face hairiness.

Fitted values are projected on raw data and take into account other covariables and random effect of models. Details of models are in **table 1**. Grey shading around the red line are 95% confidence intervals. Colour circle are raw data (i.e. pollinator individual) categorized by Diptera (green circle) and bees (violet circle). Pollinator pictures are not at the same magnification (5 times for *Sarcophaga carnaria*; 4.5 times for *Bombus sylvarum*).

When dealing solely with Diptera, we still found a positive relationship between total face pollen load of pollinators and surface of the face (for surface of the face: $b = 0.433$, $P = 3.31e-05$; **figure 4A, table 1**) yet with a very low R^2m ($R^2m = 0.05$), but not with hairiness. When dealing with bees, we also found a positive relationship between total face pollen load and surface ($b = 0.811$, $P = 9.66e-06$, $R^2m = 0.17$; **figure 4B, table 1**) but not with hairiness.

The same results were confirmed with data averaged at the pollinator species level regarding the significant positive relationships between mean pollen load and mean face surface as well as mean hairiness, but only between mean pollen load and mean face surface when adding order as covariable. However, interaction term between mean face surface and mean hairiness which was only implemented in GLM was not kept in final model.

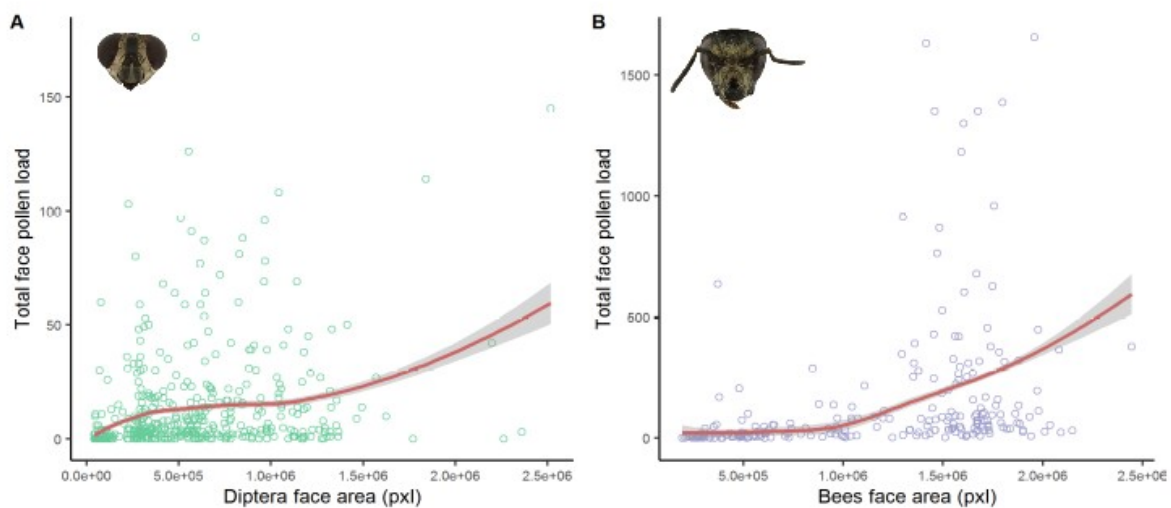


Figure 4: General linear mixed effects models predicted fit of the relation between total face pollen load and A) Diptera face surface (pxl) B) and Bees face area (pxl).

Fitted values are projected on raw data and take into account other covariables and random effect of models. Details of models are in **table 1**. Grey shading around the red line are 95% confidence intervals. Colour circle are raw data (i.e. pollinator individual) categorized by Diptera (green circle) and bees (violet circle).

3.4. Relations with pollen production per floral unit

Surface and hairiness of the face of pollinators were not significantly associated with pollen production per floral unit. Mean face pollen load of pollinators was not significantly related to mean pollen production per FU of all plant species visited by each pollinator species.

4. Discussion

In this study, we showed a positive relationship between surface of the face of pollinators and their

face pollen load for a set of wild plant species. Previous studies found a positive relationship between body size and quantity of pollen deposited per interaction for oilseed rape (*Brassica napus*; Phillips et al., 2018), watermelon (*Citrullus lanatus*but; Bartomeus et al., 2018), but not for blueberry *Vaccinium* sp., nor cranberry *Oxycoccus* sp. and *B. rapa* (Bartomeus et al., 2018; Stavert et al., 2016). In our study, we did not use body size directly, but pollinator face surface as its proxy and which was a better predictor of pollen load (results no shown). Consequently, if face surface is well associated with face pollen load for a set of wild plant species, it could mean that total body size could explain well total pollinator pollen load for this same set of plants. As a result, if pollinator face surface is a good predictor of body size as we showed in **figure 1**, it could mean that face surface can be used as a soft trait (e.g. McGill, Enquist, Weiher, & Westoby, 2006) for pollen load. However, this perspective need still to be validated.

An increase in body size functional diversity inside a same community could improve pollination function due to functional complementarity between pollinator species at the community scale. Indeed, body size and mouthpart length are well correlated at least for bees and mouthpart length is a main determinant of pollinator niche (Cariveau et al., 2016; Klumpers et al., 2019). Body size functional diversity could also increase pollination function even for a same plant species (architectural complementarity; Blüthgen & Klein, 2011; Garibaldi et al., 2015). On the other hand, pollinator body size is also a likely response trait to land-use intensification even if data are not always congruent and causes of this response are unclear (Kühnel, 2015; but see e.g. Bartomeus et al., 2018). Hence, small pollinators may not interact or lowly with same plant species than large pollinators, while different plant species have different pollen limitation level (Larson and Barrett, 2000), which could be driven by pollinator availability (Pellissier et al., 2012). In a context of land-use intensification, even if bigger pollinator could transport and deposit more pollen grains per interaction as we showed and thus realizing a higher pollination function, they could be rarer than smaller pollinators (Kühnel, 2015), and pollination outcome (e.g. seed production; Bartholomée & Lavoire, 2019) could be lower due to pollen limitation. Consequently, future study should incorporate pollen limitation differences between plant species besides pollinator body size to go beyond body size as an effect trait and integrating pollination outcome.

In this study, we also found a positive relationship between face hairiness of pollinator and their face pollen load in agreement with results from Stavert et al. (2016) and Phillips et al. (2018). Larger and hairier pollinators carried globally more pollen grains on their face than smaller ones,

but they also showed the higher variability in pollen load (**figure 3**). For large and hairy pollinators, factors impacting pollen load like behavioral ones could thus be more important to estimate pollen load than for small hairless pollinators. Notably, the pollen load of big hairy pollinators might be more impacted by grooming behavior (which consist in body pollen grains removal by insects) and its frequency which is known to impact pollen carryover and is more present for species harvesting pollen to feed larvae (i.e. female bees in our study; Devaux, Lepers, & Porcher, 2014). However, one must keep in mind that bi-modal distribution of bee face surface in our dataset also indicate a likely better reliability of parameter estimation for small and large bees than for medium bees.

Relationship with hairiness sounds to be mostly explained by a taxonomic signal. Firstly, we found Diptera to be less hairy than bees, a result also found by Kühnel (2015) but using a thorax count. While hairiness could really be responsible of this relationship, other phylogenetic collinear pollinator traits may also be essential to consider. For instance, we may expect that Diptera have a lesser contact between their face and stamen of flower due to their particular behavior on most flower they visit. Indeed, on numerous plant species like those belonging to Apiaceae family or Asteraceae with shallow nectar tube depth and short stamen (e.g. *Jacobaea aquatica*), when they extract nectar or pollen from a flower, they unfold their mouthpart and rarely plunge inside the flower on the contrary to most bees when they collect pollen (personal observation). In our dataset, most Diptera were in interaction with flowers of this morphology (e.g. 52% of interactions with Apiaceae). Consequently, it could be necessary to better consider the site of contact between stamens and pollinator (Harder and Barrett, 1996), especially legs and ventral parts, to improve the relationship between hairiness and pollen load and to assess the pollinator effectiveness (Stavert et al., 2016).

Our model of pollen load based on both surface and hairiness of pollinator faces seemed less predictive than found by Stavert et al. (2016) who modeled pollen load of *B. rapa* by face hairiness of pollinators with the same methodology. A first difference between our study may come from our larger dataset (10 species of pollinators and one plant species in Stavert et al., 2016; 127 pollinator species and 36 plant species in our study). Beside ecological reasons which have been developed previously concerning differences in flower anatomy, methodological reasons could also explain this difference in prediction ability. Firstly, we did not count pollen load of the entire body of pollinator. It could have increased the proportion of very low pollen load in our study, thus flattening the relation between hairiness and pollen load at the first part of the curve. Secondly, we

corrected face hairiness by removing eyes of pollinators which were often considered as hairs by the MatLab program (yet at the cost of decreasing at a higher rate hairiness of pollinator with bigger eyes because removed eyes give an entropy value of zero but hairless cuticles increased always entropy index). We think that keeping eyes for the hairiness measurement could lead to bias in measurements (e.g. *Eristalis tenax* and *Helophilus hochstetteri* have closed hairiness values in Stavert et al., 2016, which could be due to an artifact for *Helophilus hochstetteri* while *Eristalis tenax* compound eyes are really hairy).

In the future, the method proposed by Stavert et al. (2016) could be improved by more accurately dealing with hair length and shape. Indeed, the computation of hairiness index using photographs in two dimensions may fail to consider length of hair and disproportionately integrate flat or curved short hairs at the expense of straight long hairs. New automated photography method based on three dimensions stacking (Ströbel et al., 2018) may overcome this issue even if it implies to modify the current MatLab program. Furthermore, hairiness of pollinators also incorporates hair shape, which can be for instance plumose for bees (without mirroring an adaptation to pollen collection; Michener, 2007), and may impact the exchange surface with stamens. Consequently, it could impact pollen load of pollinators but is not explicitly taken into account by the method of computation we used.

Pollen production per FU was not associated with face pollen load, neither with face surface or hairiness of pollinator species visiting these flowers. We also did not find any relationship when computing same models but with pollen production per single flower instead of FU (results not shown). These relations raise questions about the scale of pollen production we decided to deal with in this study. We choose to work at the FU scale because pollen originating from a given flower seems to be deposited rapidly on the few following flower visited (Cane and Love, 2018). Furthermore, we lacked some main flowering species for their pollen production which impeded us to work at the grassland scale. Yet, we expected that pollinators visiting plants which produce more pollen grains will transport more pollen grains. A reason behind this expected relationship was that quantity of pollen grain produced by a flower has been proposed as an adaptation to exchange surface of the most abundant pollinator species visiting a given plant species (Cruden, 2000). While a mismatch between the pollinator body part we studied and flower morphology could be here again likely, these absences of relation could also be explained by the lack of identification in our study of pollen grain to the species levels.

5. Conclusion

In this study we highlighted two pollinator effect traits that are linked to pollination transfer, a component of pollination function, for a wide diversity of wild pollinator and plant species in permanent grasslands. However, prediction ability of our models may not be high enough to replace pollen load count by effect trait measurement in order to properly estimate pollen transfer in a community, and we still need to validate relationships we showed for other pollinator body parts which may carry more pollen grain. Moreover, future studies should go beyond relationships between these two effect traits and pollination function by including e.g. pollination outcomes. Lastly, another step will be to deal with the potential trade-offs between the different determinants of pollination function which may compensate each other. For instance, by studying trade-off between plant-pollination interaction frequency and pollinator functional traits, we could expect large species which have higher reward needs being less abundant than small ones. Furthermore, by including other component of pollination like gene flow, we may find that social species which are often of big size in Europe (e.g. Bumblebees, *Apis mellifera*) have good ability to communicate rewards position and can thus reach high local density, but may also be less effective than solitary bees which visit sparsely distributed flower patches and increase gene flow.

Acknowledgments

We are thankful to farmers for their authorisation to study their grasslands, to Emilie Thérond, Rémi Thouvenin, Ophélie Da Silva, Jodie Thénard, Aude Fauvet, Lucie Sépulchre, Marie-Claire Gégout, Catherine Heinrich, and Claude Gallois for data collection, to Phil Whitters and Anne Vallet for Diptera identification, to David Genoud for bee identification. J.G. received a Ph.D grant from the French Ministry of Higher Education, Research and Innovation for three years. This work partly took place under the PSDR ASTRAL project which was co-financed by Institut National de la Recherche Agronomique (INRA) and Great East region. Field work was partly supported by young researcher-funding of scientific pole A2F. Plant pollen production dataset has been generated through the Agriland projet (BB/H014934/1) supported by the BBSRC Defra, NERC, the Scottish Government and the Wellcome Trust under the Insect Pollinators Initiative

Contributions of authors

JG, AM and SP conceived the idea. JG designed the study advised by AM. JG led the writing of the manuscript. JG adapted technological methodologies for pollinator trait measurements. JG, CR,

AM, and MB collected the data. JG analysed the data. JG, AM, CR, MB and GM interpreted the results. All authors contributed critically to the drafts and gave final approval for publication.

CHAPITRE 5 : Discussion générale

Ce travail de thèse reposait sur le suivi de 16 prairies permanentes situées en Moselle et appartenant à un gradient d'intensification agricole. Nous avons pu mettre en évidence de multiples relations en concordance avec nos hypothèses, bien que toutes nos hypothèses n'aient pas été validées. Un résumé des principaux résultats de ce travail est illustré en **figure 1** qui reprend la trame de la **figure 15** (cf. Partie introduction). Au cours de cette discussion, nous commencerons par considérer les matériels et méthodes employés au cours de cette thèse, puis nous discuterons les résultats scientifiques obtenus.

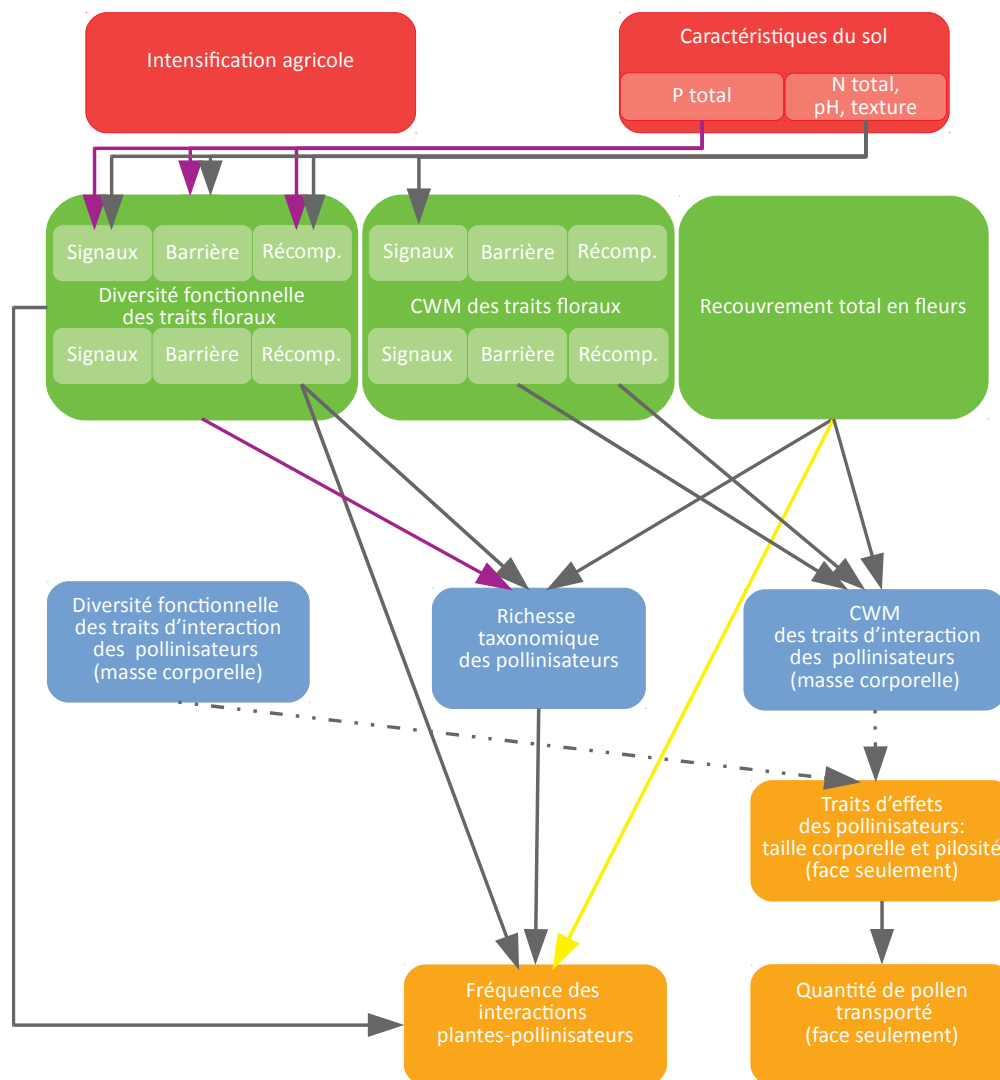


Figure 1 : Schéma général des résultats de cette thèse.

Récom.: récompense. flèche violette : relation négative, flèche grise : relation positive ; flèche jaune : relation non-linéaire. Les flèches en pointillés indiquent une relation probable mais non testée. P : phosphore ; N : Azote ; CWM : *Community Weighted Mean*.

1. Discussion des matériels et des méthodes

1.1. Choix des parcelles

La sélection des 16 parcelles était basée sur un premier filtre de composition paysagère. En effet, nous avons dû limiter le nombre de parcelles pour permettre le suivi de chacune d'entre elles au cours d'une fenêtre temporelle donnée (une semaine dans notre cas), les rendant comparables. Ce nombre restreint de parcelles aurait pu engendrer un découplage délicat entre l'impact des facteurs locaux et ceux paysagers si nous n'avions pas uniformisé la composition paysagère des parcelles sélectionnées. Cependant, cette homogénéité paysagère diminue la généralité de nos résultats. En effet, la qualité de la matrice paysagère affecte la diversité, la composition et l'abondance des pollinisateurs, avec une filtration opérant notamment sur la taille des pollinisateurs (Jauker et al., 2013). Une autre approche pour le suivi des parcelles aurait pu être possible afin d'augmenter le nombre de parcelles dans l'étude. En effet, nous aurions pu choisir d'échantillonner une seule fois les parcelles suivies, avec à chaque session une combinaison de parcelles appartenant à la fois à un gradient d'intensification locale et à un gradient paysager. Cependant, cette approche alternative aurait nécessité un long travail de mise en place du réseau de parcelles en amont de la thèse. De plus, il n'aurait pas permis d'acquérir de répliques temporelles. Or ils sont à la base de notre approche de modélisation par modèles mixtes et permettent de s'affranchir de la variabilité temporelle.

Enfin, en nous concentrant sur 16 parcelles, nous avons pu multiplier les mesures que nous avons espacées tout au long de la thèse, ce qui aurait été compliqué dans le cadre du suivi d'un nombre plus important de parcelles. En effet, le cortège d'espèces prairiales aurait, par exemple, été plus important et donc la mesure de l'ensemble des traits floraux plus chronophage, ce qui aurait été difficilement réalisable dans le temps imparti et aurait empêché l'acquisition d'autres types de données. Ainsi, une originalité de notre travail est d'avoir combiné des mesures de plusieurs variables édaphiques avec des mesures de traits, à l'origine d'une partie de nos résultats.

Enfin, nous nous sommes concentrés sur des prairies de fauche exclusive ou de fauche puis pâture afin de pouvoir suivre plus facilement les parcelles, notamment car la présence du bétail sur les prairies engendre une consommation continue des plantes tout en engendrant un problème de sécurité pour les opérateurs. Cependant, selon le mode de gestion (fauche ou pâture), l'influence de l'intensification agricole sur les communautés végétales n'est pas la même (Gaujour et al. 2012)

ce qui peut limiter la généralité nos résultats à d'autres modes d'utilisation.

1.2. Estimation des recouvrements par espèce de plantes en fleurs

Au cours de cette thèse, nous avons estimé le recouvrement par espèce de plantes en fleurs à l'aide de quadrats de 1 m² par transect de 400 m². Initialement, l'estimation du recouvrement était basée sur 10 quadrats, soit 2,5 % de la surface du transect. Cependant, ce nombre n'a pas pu être maintenu à cause d'un temps d'échantillonnage associé trop long. Ainsi, le recouvrement par espèce de plantes en fleurs a été estimé à partir de 7 quadrats, ce qui représentait le meilleur compromis entre nombre de prairies suivies et précision de l'estimation du recouvrement par espèce. Le recouvrement en fleurs a donc été estimé sur 1,75 % du recouvrement de chaque transect, avec le risque évident de ne pas détecter certaines espèces et, en particulier, les plus rares. Il s'agit d'une limite de notre travail, notamment pour le calcul de certains indices de diversité fonctionnelle (ex : équitabilité fonctionnelle) qui peuvent être fortement impactés par la non prise en compte des espèces, mêmes des plus rares (Taugourdeau, 2014).

1.3. Échantillonnage des pollinisateurs

L'échantillonnage des pollinisateurs était réalisé par capture au filet d'insectes en contact avec les organes reproducteurs des fleurs. Cette approche génère des réseaux visuels qui sont généralement des réseaux sous-échantillonnés menant à des difficultés pour détecter de manière fiable leur structure (Dormann et al., 2017; Fründ et al., 2015). Cependant, cette approche reste la plus simple à mettre en œuvre pour estimer la fréquence des interactions plantes-pollinisateurs, tout en fournissant une bonne estimation de la fonction de pollinisation (ex : Ballantyne et al., 2017; Vázquez et al., 2005).

1.4. Traits d'interaction mesurés

Au cours de cette thèse, nous avons mesuré cinq traits floraux et un trait d'interaction des pollinisateurs. Le choix de ces traits est issu d'un compromis entre bonne représentation des niches des plantes et des pollinisateurs et nombre de dimensions mesurées. Il en résulte un jeu de données conséquent composé uniquement de variables quantitatives continues. Cependant, plusieurs éléments peuvent avoir biaisé nos résultats. Premièrement, nous n'avons considéré la couleur qu'au travers du système visuel d'*Apis mellifera*. Cette approche n'est pas problématique par rapport aux autres espèces d'Apoidea et d'Hyménoptères étant donné que la sensibilité des

photorécepteurs au sein de cet ordre taxonomique est bien conservée. Cependant, les autres ordres de pollinisateurs ne partagent pas le système visuel d'*A. mellifera*, n'ayant pas le même nombre de types de photorécepteurs et avec des sensibilités différentes. L'incidence de ce biais sur le calcul des indices de diversité fonctionnelle n'a pas pu être quantifiée. De plus, nous sommes limités à la vision chromatique, alors que la vision achromatique est également essentielle pour la détection des fleurs, entrant notamment en jeu avant la vision colorée dans la séquence menant de la navigation des pollinisateurs à la détection, puis à l'interaction avec la fleur. Deuxièmement, certains traits floraux n'ont pas pu être mesurés malgré leur importance certaine dans les interactions. De plus, nous n'avons considéré les barrières à l'exploitation que pour l'accès au nectar, alors que la position des étamines aurait également pu être importante à prendre en compte, notamment si nous avions fait la distinction entre les différentes récompenses exploitées par les pollinisateurs au cours des interactions.

Pour les pollinisateurs, nous avons uniquement mesuré la masse corporelle. Ce trait est particulièrement intéressant car il est relié à la dépense énergétique des insectes, à la quantité de pollen consommée au stade larvaire (au moins chez certaines espèces d'abeilles), à la longueur des pièces buccales (au moins chez certains taxons de pollinisateurs), ainsi qu'à d'autres dimensions allant au-delà des seules interactions plantes-pollinisateurs (ex : distance de vol et de dispersion). Cependant, en nous focalisant sur la masse corporelle, nous avons pu négliger certaines dimensions qui pourraient également impacter les abondances locales des pollinisateurs (ex : niveau de socialité, sites de nidifications). Enfin, nous n'avons intégré ni la phénologie des plantes, ni celle des pollinisateurs, alors qu'elles sont des facteurs centraux dans la structure des réseaux d'interactions.

1.5. Traits d'effet mesurés et pollen transporté

Nous avons mis en évidence que la taille corporelle et la pilosité étaient en relation avec la quantité de pollen transporté. Ce résultat repose sur un jeu de données original qui couvre une grande diversité de pollinisateurs (127 espèces) et qui intègre les Diptères dont la capacité de transport de pollen reste méconnue. Cependant, des biais ont pu provenir de plusieurs facteurs. Tout d'abord, seul le pollen de la face des pollinisateurs a été échantillonné, ce qui ne permet pas de garantir que les relations mises en évidence sont valables pour les autres parties du corps, ni que la quantité de pollen transportée sur la face des pollinisateurs soit proportionnelle à celle

transportée sur le reste du corps. Des contraintes de temps nous ont forcés à nous concentrer sur une seule « zone sûre ». Or dans leur étude Stavert et al. (2016) avaient montré une relation positive entre pilosité faciale et quantité de pollen de *B. napus* transportée sur l'ensemble du corps des pollinisateurs. La face pourrait cependant ne pas correspondre à la « zone sûre » de l'ensemble des espèces de plantes suivies. Par exemple, la « zone sûre » située sur la partie supérieure du thorax des insectes pourrait être plus adaptée pour les Lamiacées (Koch et al., 2017), probablement car leurs étamines sont situées au niveau du casque de la fleur (partie supérieure de la fleur). De plus, lors de l'échantillonnage des pollinisateurs, bien que nous ayons gardé les insectes à 4°C et dans le noir afin de ralentir leur activité sur le terrain, certains insectes continuaient à s'agiter, engendrant probablement une perte ou un mélange de grains de pollen provenant d'autres parties du corps. En particulier, certaines abeilles étaient couvertes de pollen provenant des zones de stockage du pollen. Ces insectes ont été éliminés du jeu de données. Un meilleur stockage sur le terrain (ex : -20°C) pourrait s'avérer nécessaire pour améliorer l'étude de la quantité de pollen transportée par les pollinisateurs mais nécessiterait une logistique plus importante.

La mesure de la pilosité par analyse d'image avait l'avantage d'être rapide tout en permettant de couvrir des surfaces larges, ce qui aurait nécessité un temps long par quantification directe (comptage par microscopie) du nombre de poils. Elle présentait donc un avantage en temps conséquent une fois que la maîtrise de la prise des photographies et les réglages étaient assurées. Cependant, cette manière de mesurer la pilosité agrège différentes composantes de la pilosité (densité, longueur, structure) sans en mesurer parfaitement aucune. Elle a donc l'avantage de ses inconvénients, et ne permet pas de distinguer une composante en particulier de la pilosité parmi les autres. Cette méthode présentée par Stavert et al. (2016) comme simple, fiable et reproductible, présente cependant des limites comme la prise en compte des ocelles et ponctuations de la cuticule en tant que poils, ainsi que la difficulté de distinguer les poils noirs. Cette technologie nécessiterait d'être davantage développée sur ces aspects afin de permettre une estimation moins biaisée de la pilosité.

2. Discussion des résultats

2.1. Des facteurs locaux aux traits floraux

La première étape de cette thèse visait à relier les facteurs locaux (intensité des pratiques de gestion et caractéristiques du sol) à la diversité fonctionnelle et au CWM des différents traits floraux mesurés. Il s'agissait plus particulièrement de trois grands types de traits floraux : les signaux au travers de la couleur, de l'aire et de la hauteur des unités florales, les barrières à l'exploitation avec la profondeur des tubes à nectar et enfin, des récompenses avec la production de sucre par unité florale et par jour. Contrairement à nos hypothèses de départ, l'intensification agricole locale n'a pas été identifiée comme étant en relation avec la diversité fonctionnelle, le CWM de l'ensemble des traits floraux ou le recouvrement total en plantes en fleurs au sein des prairies. L'intensification agricole n'avait pas non plus d'effet sur les indices de diversité taxonomique des plantes en fleurs (richesse et indice de Simpson). Cette absence de relations significatives, bien que surprenante au regard des précédentes études (ex : Gaujour et al., 2012; Pakeman et al., 2017), laisse penser que l'intensification agricole n'était pas un facteur prépondérant sur la structure des communautés végétales dans notre étude. Le gradient d'intensification était sans doute trop peu étendu, notamment car constitué de 16 prairies seulement, pour permettre la détection de ces relations et, encore moins, pour permettre la détection des effets de chaque pratique de gestion. En particulier, il est probable que les prairies qui constituaient le gradient ne permettaient pas de découpler suffisamment la productivité qui est augmentée par la fertilisation azotée, de la mortalité liée au taux de défoliation des prairies par an (en incluant fauche et pâturage). Il pourrait en résulter une compensation entre ces deux mécanismes, menant à une absence d'effet sur la diversité des plantes telle que prévue par le modèle d'équilibre dynamique. Pour mieux appréhender cette hypothèse, il aurait été nécessaire d'intégrer directement la productivité des prairies, en plus de la fertilisation azotée, afin de pouvoir les stratifier par niveau de productivité (Huston, 2014). Nous avons réalisé des mesures de biomasse avant la première fauche pour chaque prairie suivie. Cependant, il aurait été nécessaire d'uniformiser ces données afin qu'elles informent sur la biomasse totale produite par an, ce que nous n'avons pas pu réaliser dans le temps imparti de cette thèse.

Cependant, nous avons pu montrer l'importance des caractéristiques du sol dans ces relations. La diversité fonctionnelle totale des traits floraux, mesurée sous la forme de l'entropie fonctionnelle

(i.e. Q de Rao, indicateur corrélé à la fois à richesse et à la divergence fonctionnelle), diminuait lorsque la teneur totale en phosphore du sol augmentait et elle augmentait lorsque l'ensemble de la teneur totale en azote du sol, du pH et de la finesse de la texture du sol augmentait. De plus, nous avons montré une augmentation du CWM de l'aire des unités florales avec cette agrégation des caractéristiques du sol. Ces résultats sont nouveaux dans la littérature. En effet, plusieurs études avaient montré un effet négatif ou positif des différentes caractéristiques du sol sur la diversité taxonomique des plantes et sur la diversité fonctionnelle d'une combinaison de traits de plantes, mais sans jamais prendre en compte les traits floraux. Ainsi, Helsen et al. (2013) ont identifié, sur un ensemble de 279 prairies semi-naturelles situées dans le nord-ouest de l'Europe, un effet négatif de la teneur totale en phosphore et en azote du sol, ainsi qu'un effet positif du pH, sur la richesse taxonomique des plantes et sur l'entropie fonctionnelle (calculée à l'aide d'un Q de Rao) d'une combinaison de traits des plantes (surface foliaire spécifique, hauteur de la plante, type morphologique, masse des graines etc). Cependant, lorsqu'ils corrigeaient l'entropie fonctionnelle par rapport à sa dépendance à la richesse taxonomique, une approche préconisée par différents auteurs afin de capter le réel signal fonctionnel dans ce type d'étude (Swenson, 2014 ; Mouchet et al., 2010), seul l'effet négatif de la teneur totale en azote du sol perdurait. Parmi ces traits de plantes, nous pouvons penser que certains sont probablement corrélés à des traits floraux (ex : hauteur des plantes et hauteur de l'inflorescence). De plus, au cours de cette thèse, nous n'avons pas mis en évidence cet effet négatif de la fertilité des sols (P et N totaux) sur le recouvrement total moyen en plantes en fleurs, bien que cela ait été précédemment décrit pour les plantes à pollinisation entomophiles ou en dicotylédones (ex : Helsen et al., 2013 ; Ceulemans et al., 2013). Enfin, nous n'avons pas pu établir l'origine des différences de quantité de phosphore total dans le sol de nos prairies. Il n'était corrélé à aucune des autres variables, incluant le niveau d'intensité des différentes pratiques agricoles répertoriées.

2.2. Des traits floraux à la fréquence des interactions

Nous avons validé notre seconde hypothèse relative à la relation positive entre diversité fonctionnelle des traits floraux et fonction de pollinisation que nous avons quantifié en estimant la fréquence des interactions plantes-pollinisateurs. En particulier, nous avons montré le rôle central de la diversité fonctionnelle de la production de sucre dans cette relation. Ces résultats sont en concordance avec les relations positives attendues entre biodiversité et fonctionnement des écosystèmes (ex : Schleuning et al., 2015). Cependant, les seules études existantes (au regard de

notre recherche bibliographique) ayant fait le lien entre diversité fonctionnelle des traits floraux et fréquence des interactions plantes-pollinisateurs ont trouvé une relation négative (Fornoff et al., 2017 ; Uyttenbroeck et al., 2017). Ces relations négatives provenaient probablement de communautés de pollinisateurs dominées par quelques espèces généralistes (ex : *Apis mellifera*) alors que ma thèse couvre une plus grande diversité de pollinisateurs. Cependant, ces études ainsi que d'autres travaux avaient souligné un effet du CWM de différents traits floraux (ex : CWM de l'aire des unités florales ; Fornoff et al., 2017 ; Hegland and Totland, 2005) sur la fréquence des interactions plantes-pollinisateurs, alors que nous n'avons pas retrouvé ces résultats.

Alors que nous avons émis l'hypothèse d'une relation linéaire entre recouvrement total des plantes en fleurs et fréquence des interactions plantes-pollinisateurs comme suggéré dans la littérature (Ebeling et al., 2008 ; Huddewenz et al., 2012, mais cf. Venjakob et al., 2016), nous avons mis en évidence une relation cubique entre ces deux variables. Cette relation non-linéaire pourrait s'expliquer par la composition en espèces de plantes lorsque le recouvrement en fleurs est élevé, et notamment par le fort recouvrement en espèces peu attractives pour les pollinisateurs dans notre jeu de données (ex : *Ranunculus acris*, *Galium molugo*). Ce résultat suggère que l'évaluation du niveau d'attractivité d'une prairie pour les pollinisateurs ne peut pas se limiter à l'estimation seule de l'abondance de plantes à pollinisation entomophiles comme rencontrée par exemple dans la typologie nationale des prairies permanentes (variable « valeurs pour les pollinisateurs » ; Michaud et al., 2011).

2.3. De la diversité des plantes à la diversité des pollinisateurs

En plus de la fréquence des interactions, nous avons montré que la diversité taxonomique des pollinisateurs était associée à la fois à la diversité fonctionnelle de la production de nectar de manière positive (calculée par la richesse fonctionnelle), ainsi qu'au recouvrement total en fleurs selon une relation quadratique. Ainsi, nous avons partiellement validé notre hypothèse de complémentarité des pollinisateurs par rapport à l'utilisation des ressources en sucre. Les précédentes études portant sur l'importance de la diversité fonctionnelle de la production en nectar pour expliquer la richesse taxonomique des pollinisateurs apportent des résultats contrastés. Ainsi, Potts et al. (2003 ; 2004) ont montré un effet positif de la variété de combinaisons de volume de nectar-concentration de nectar disponible au sein de la communauté sur la richesse d'abeilles le long d'un gradient post-incendies en Israël. Fornoff et al. (2017) n'ont

quant à eux pas trouvé d'effet en utilisant le Q de Rao. Cependant, nos résultats ne confirment que partiellement notre hypothèse de complémentarité, car la complémentarité fonctionnelle de la masse corporelle des pollinisateurs n'était pas le facteur explicatif de ces diverses relations. En effet, les différents indices de diversité fonctionnelle de la masse corporelle des pollinisateurs n'étaient pas liés à la diversité fonctionnelle des traits floraux, ni au recouvrement total en fleurs. Enfin, le niveau de modularité des réseaux, bien que certainement biaisé par notre effort d'échantillonnage, n'était pas associé à la diversité fonctionnelle de la masse des pollinisateurs mais à leur seule richesse taxonomique. Ainsi, d'autres traits des pollinisateurs que la masse corporelle devraient être pris en compte pour mieux comprendre la complémentarité entre pollinisateurs (cf. 1.4.).

De plus, la modularité des réseaux interactions plantes-pollinisateurs peuvent refléter des déplacements de niches par compétition entre pollinisateurs (Dormann et al., 2017). Par exemple, de récents résultats montrent l'exclusion compétitive par *Apis mellifera* d'abeilles sauvages visitant du romarin à cause de la déplétion des ressources liée à l'activité d'*A. Mellifera*, engendrant une exclusion plus importante des abeilles de grandes tailles (Henry and Rodet, 2018) et donc probablement de masse importante (Kendall et al., 2019). Sur la base de cet exemple, un indice fondé sur la diversité fonctionnelle de la masse corporelle ne pourrait pas capter un signal de modularité, car l'interaction avec une fleur ne serait pas la résultante d'un niveau de correspondance entre ce trait et un trait floral, mais le résultat de la capacité pour une espèce de pollinisateur à s'accaparer les ressources les plus intéressantes.

Cependant, nous avons pu montrer que plus les espèces de pollinisateurs ont une taille corporelle importante (ici mesurée par la masse corporelle sèche), plus elles vont en moyenne sur des fleurs basses et produisant beaucoup de sucre, mais aussi ayant des tubes à nectar plus profonds, ces deux derniers traits étant corrélés dans notre étude. Une stratification selon la hauteur des plantes et la taille des pollinisateurs a déjà été montrée par Venjakob et al. (2016) au sein de micro-parcelles du site expérimental de Jena . Dans cette étude, les insectes pollinisateurs de petite taille exploitent préférentiellement les espèces fleuries de plus faible hauteur en particulier lorsque la richesse taxonomique des plantes en fleurs est élevée (la complémentarité spatio-temporelle entre groupes fonctionnels de pollinisateurs étant de manière générale plus élevée dans cette étude lorsque la richesse taxonomique des plantes en fleurs augmente). De plus, le niveau de correspondance entre longueur de langue des pollinisateurs (qui est liée à la taille corporelle des

pollinisateurs) et profondeur des tubes à nectar, ainsi que production de sucre, a récemment été souligné par Klumpers et al. (2019) pour des Asteraceae dans les Montagnes Rocheuses (Colorado, Etats-Unis). Ainsi, Klumpers et al. (2019) ont pu montrer que le choix des pollinisateurs pour l'exploitation d'une fleur dépend de son efficacité pour l'exploiter. Cette efficacité diminue lorsque la longueur des pièces buccales est plus faible que la profondeur du tube à nectar à cause d'un temps de manipulation plus long, mais diminue également lorsque les pièces buccales sont plus longues que la profondeur du tube à nectar car le taux d'extraction de sucre diminue.

Nous avons également montré que le CWM de la masse corporelle des pollinisateurs était positivement associé au CWM de la production moyenne de sucre, ainsi qu'au CWM de la profondeur moyenne des tubes à nectar, les deux étant fortement corrélées entre eux. Ces résultats montrent que la valeur des traits floraux des espèces de plantes dominantes dans les communautés prairiales est un déterminant majeur de la valeur de la masse des pollinisateurs fourrageant au sein de ces communautés. Ces résultats s'inscrivent donc dans l'hypothèse d'effet de masse où les espèces les plus abondantes déterminent le fonctionnement de l'écosystème (Díaz et al., 2007).

2.4. Traits d'effet des pollinisateurs

Nous avons montré au cours de cette thèse que la masse corporelle des pollinisateurs est positivement liée à la surface de la face des pollinisateurs. Cette dernière, ainsi que la pilosité faciale des pollinisateurs, sont positivement associées à la quantité de grains de pollen transportée sur cette partie du corps des pollinisateurs, sans relation apparente avec la quantité de grains de pollen produite par les fleurs visitées. Il s'agit des premiers résultats qui confirment ces relations pour un ensemble de plantes sauvages, alors que de précédentes études avaient souligné (ou infirmé) l'importance de ces traits d'effet des pollinisateurs pour certaines plantes cultivées (Stavert et al., 2016 ; Bartomeus et al., 2018 ; Phillips et al., 2018). Ces résultats (malgré les limites présentées en 1.5) ainsi que ceux précédemment présentés et en concordance avec l'hypothèse d'effet de masse, laissent prévoir qu'une augmentation du CWM de la production de sucre au sein d'une prairie pourrait générer une augmentation de la quantité de pollen transportée à l'échelle de la prairie du fait d'une augmentation de la taille corporelle des pollinisateurs. De plus, nos résultats suggèrent que quelque soit l'espèce de plante visitée et bien que nous nous sommes focalisés sur la face des pollinisateurs, plus un pollinisateur est de grande taille et pileux, plus il peut transporter

de grains de pollen, et donc plus il sera un bon pollinisateur potentiel pour une espèce de plante donnée.

Cependant, le rôle positif de la pilosité dans le transport de grains de pollen pourrait avant tout être expliqué par une différence phylogénétique avec, d'une part, les Diptères peu pileux et transportant peu de pollen et, d'autre part, les abeilles fortement soyeuses et transportant plus de pollen. De plus, nos résultats ne permettent pas pour autant d'affirmer que les abeilles sont de meilleurs pollinisateurs que les Diptères, car nous n'avons pas pu modéliser ces différences pour une même espèce de plante à cause d'effectifs de pollinisateurs par espèce de plantes trop faibles. Enfin, l'absence d'identification des grains de pollen peut avoir majorer la capacité réelle de transport des grains.

CHAPITRE 6 : Perspectives générales

1. Perspectives scientifiques

Bien que nous ayons montré une influence des caractéristiques du sol sur la diversité fonctionnelle des traits floraux, il reste nécessaire de généraliser ces résultats à des gradients de caractéristiques du sol plus importants. En effet, les valeurs prises par nos prairies pour la teneur totale en azote et en phosphore du sol ne couvrent que la moitié inférieure des valeurs rencontrées à l'échelle des prairies Européennes (ex : Janssens et al., 1998). En outre, l'étude de très grands échantillons de prairies dans des situations très diversifiées pourrait permettre de décorréliser les variables. De plus, l'acquisition de données sur un nombre plus important de prairies permettra d'utiliser les indices de diversité fonctionnelle couvrant de manière séparée les différentes facettes de cette dernière (i.e. richesse, équitabilité et divergence ; Mason et al., 2005). Enfin, il sera également nécessaire de faire le lien entre traits de réponse des plantes et traits floraux pour comprendre les mécanismes expliquant les effets des caractéristiques du sol sur les traits floraux.

En effet, au cours de nos travaux, nous avons suggéré un effet de la compétition exclusive pour l'accès à la lumière afin d'expliquer la baisse de la diversité fonctionnelle des traits floraux avec l'augmentation de la teneur totale en phosphore dans les sols. Cependant, cette explication reste à être démontrée en employant notamment des traits végétatifs en relation avec la compétition pour la lumière (ex : surface spécifique foliaire). Si les traits floraux ne sont pas corrélés aux traits de réponse des plantes, d'autres mécanismes pourraient également expliquer l'impact des caractéristiques du sol sur la diversité fonctionnelle des traits floraux, avec par exemple une filtration des pollinisateurs qui engendrerait par la suite une filtration des plantes sur la base de leurs traits floraux, un mécanisme notamment proposé par Pellissier et al. (2012). Cependant, un rôle direct de la teneur en phosphore du sol comme filtre pour les espèces de pollinisateurs reste peu probable, et ne fait par exemple pas partie des variables décrites par Michener (2007) et qui conditionnent la disponibilité en sites de nidification des abeilles. Cependant, il reste possible que le niveau de fertilité des sols soit corrélé à d'autres variables impactant les sites de nidification des abeilles sauvages, dont 75 % des espèces seraient terricoles (Westrich, 1996). Une future étape de notre travail est d'intégrer à la fois les variables environnementales et les variables de traits (floraux et des pollinisateurs) aux matrices d'interaction plantes-pollinisateurs afin de mieux comprendre l'impact des différents facteurs environnementaux et biotiques dans l'assemblage des

communautés de pollinisateurs dans les prairies permanentes. Ce type d'approche peut être réalisé à l'aide de différents outils tels que la méthode des RLQ et des fourth-corner qui visent à croiser plusieurs types de matrices. Dans notre cas, il s'agirait d'une matrice R contenant les caractéristiques environnementales des communautés (variables d'intensité agricole, caractéristiques des sols, variables climatiques et temporelles, variables construites à partir des traits floraux comme des CWM ou des FD), d'une matrice L correspondant à l'abondance des différentes espèces de pollinisateurs au sein des communautés et d'une matrice Q intégrant les traits des pollinisateurs. La méthode RLQ permet de résumer les structures communes entre les trois tables, la méthode des fourth-corner permet elle d'associer chacun des traits des pollinisateurs à chacune des variables environnementales (Dray et al., 2014).

C'est en intégrant l'ensemble de ces composantes biotiques, abiotiques et temporelles qu'il sera possible de mieux appréhender les menaces auxquelles sont confrontés les pollinisateurs sauvages. En effet, de manière plus générale, mon travail de thèse visait également à contribuer aux connaissances sur l'état de conservation des populations de pollinisateurs. Ces dernières sont encore particulièrement lacunaires, bien que le rôle des modifications des caractéristiques environnementales, du déclin des ressources alimentaires et de leur diversité soient des facteurs clés dans le déclin de différentes espèces de pollinisateurs (Roulston and Goodell, 2011). Par exemple, notre jeu de données, une fois croisé avec la Liste Rouge Européenne, comporte 63 espèces dont le statut de conservation n'est pas préoccupant, mais une espèce de pollinisateur vulnérable (*Bombus confusus*) qui dépend de la présence de trèfles, et deux espèces de pollinisateurs proches de la vulnérabilité (*Andrena ovatula* et *Lasioglossum costulatum*). *Andrena ovatula* subirait l'intensification agricole avec le retournement de ses sites de nidification, et *Lasioglossum costulatum*, une espèce oligolectique inféodée au genre *Campanula*, subirait des pressions anthropiques encore mal définies (Nieto et al., 2014). Cependant, notre jeu de données est aussi constitué de 14 espèces dont les données de suivi sont insuffisantes pour avoir un statut de conservation défini, et 167 espèces qui ne sont pas encore intégrées à la Liste Rouge Européenne en 2017, la majorité d'entre elles étant des Diptères. Ainsi, les preuves soutenant un déclin des pollinisateurs à différentes échelles spatiales sont suffisantes pour attester de la véracité de ce dernier, ainsi que le rôle prépondérant de l'intensification agricole pour l'expliquer (Ollerton, 2017). Cependant, nous manquons encore de données et de statuts de conservation pour de nombreux taxons.

Outre l'état de conservation des populations de pollinisateurs, l'évaluation de la qualité des habitats qui abritent ces pollinisateurs est encore à améliorer, et notamment celle des prairies permanentes. Cette évaluation passe par le développement d'outils adéquats pour décrire au mieux les différentes facettes de ces milieux. Cette étape est fondamentale pour la transition agroécologique, car elle permettra de mieux appréhender les différents services écosystémiques et fonctions rendus par les prairies permanentes, et de les mettre en relation avec leur niveau de production de biens agricoles. Ainsi, mon travail de thèse pourrait être appliqué pour l'amélioration des indicateurs qui permettent d'évaluer simplement la fonction de pollinisation, et ainsi de fournir des pistes de leviers plus précises pour les gestionnaires afin d'accroître son niveau. Les indicateurs actuels sont principalement basés sur l'abondance des plantes entomophiles, comme dans des récents travaux de typologie des prairies permanentes (ex : Michaud et al., 2011). Ces typologies pourraient gagner en précision en intégrant les traits floraux (qui n'ont pas tous été inclus au cours de cette thèse, ex : niveau de production de molécules impliquées dans la toxicité du pollen) des plantes à pollinisation entomophile présentes au sein des prairies qu'elles visent à évaluer. Par exemple, au vu de nos résultats, un trait floral qui semble apporter une information complémentaire par rapport au recouvrement fleuri est la production de sucre par le nectar dont la diversité fonctionnelle influence positivement la fréquence des interactions. Cependant, la mesure de ce trait floral est très coûteuse en temps. S'il s'agit simplement d'estimer la quantité de sucre produite par une prairie et pas sa diversité, une estimation du nombre de fleurs par prairie pourrait être suffisante (Hicks et al., 2016). Cependant, dans le cadre d'une évaluation plus fonctionnelle de l'attractivité des prairies permanentes, une approche par la mesure directe des traits floraux pourrait être plus pertinente. Une étape d'acquisition massive de données est encore nécessaire pour atteindre cet objectif, et soulève également la question de la variabilité intra-spécifique des traits floraux qui peut fortement influencer sur l'identité des pollinisateurs en interaction avec les fleurs même à de petites échelles spatiales (ex : Gomez et al., 2008).

Une approche plus simple consisterait à rassembler l'ensemble des réseaux d'interaction plantes-pollinisateurs disponibles à l'échelle Européenne et ayant été réalisés sur des plantes prairiales (incluant donc par exemple des bandes fleuries). De cette manière, il serait possible de donner des scores d'attractivité aux espèces de plantes prairiales par grand type de pollinisateurs, mais aussi de mettre en évidence les espèces les plus attractives. Ainsi, sur l'ensemble de notre jeu de données, huit espèces de plantes représentaient plus de 75 % des interactions (*Daucus carotta* :

15.0%, *Trifolium repens* : 13.2%, *Silaum silaus* : 8.2%, *Ranunculus acris* : 7.4%, *Lotus corniculatus* : 6.7%, *Jacobea aquatica* : 6.1% et *Trifolium pratense* : 5.1%). Cependant, la généricité de ce type de résultat implique d'intégrer le plus de données possibles, notamment car l'attractivité supposée de certaines espèces de plantes pour certains types de pollinisateurs (ex : *Trifolium* sp. et bourdons) pourrait être moins établie qu'initialement prévue (ex : Nichols et al., 2019). Il en résulterait un affranchissement de la généricité qu'apporte l'écologie fonctionnelle et son approche mécaniste (ex : telle plante pourrait attirer tel pollinisateur car ils ont telles valeurs de traits d'interaction) par une généricité qu'apporte une approche plus probabiliste (au vu de l'ensemble des interactions répertoriées, telle plante a tant de chance d'être visitée par tel groupe de pollinisateurs). En combinant les deux approches, il serait possible de préconiser des leviers pour les gestionnaires souhaitant augmenter la fonction de pollinisation au sein d'une prairie. Il pourrait ainsi être préconisé de sursemencer sur les prairies des espèces ayant un fort niveau d'interaction, et présentant une forte diversité de production de sucre. A partir de notre jeu de données, il pourrait s'agir d'un mélange à base de *Daucus carota* (faible niveau de production de sucre), *Lotus corniculatus* (moyen niveau de production), *Trifolium repens* (fort niveau de production), et *Centaurea jacea* (très fort niveau de production).

De plus, en rassemblant ces réseaux d'interactions, il serait possible d'obtenir des données conséquentes sur la phénologie des plantes et des pollinisateurs à l'échelle Européenne. Les prairies permanentes ont comme avantage par rapport à d'autres milieux de production agricole d'abriter des espèces de plantes aux floraisons s'étalant sur l'ensemble de la saison, permettant ainsi d'abriter des espèces de pollinisateurs à complémentarité temporelle plus importante. Dans un contexte d'agroécologie qui vise notamment à diversifier les espèces cultivées et donc potentiellement leur phénologie tout en intégrant des espèces limitant la nécessité d'intrants (ex : légumineuses, Schneider, 2015), les prairies permanentes pourraient servir de réservoir de pollinisateurs pour la pollinisation de ces cultures, soulignant également l'importance de leur préservation.

Enfin, ce travail de thèse visait essentiellement à étudier la fonction de pollinisation, qui consiste au transfert de pollen entre les étamines et les stigmates des fleurs, au sein des prairies permanentes. En montrant une relation positive entre diversité fonctionnelle des traits floraux et fréquence des interactions plantes-pollinisateurs, nous avons contribué au développement des connaissances sur les relations, encore fortement méconnues, entre biodiversité et fonction de

pollinisation dans les prairies permanentes. L'acquisition de connaissances sur les relations entre biodiversité et fonctionnement des écosystèmes est essentielle pour le développement de l'agroécologie, dont l'un des objectifs est d'intégrer les fonctions écologiques dans la production des biens agricoles tout en étant respectueuse de l'environnement. Cependant, comme souligné en 5.1.1., le choix des parcelles et en particulier du contexte paysager pourrait fortement influencer cette relation en impactant la diversité et la composition des communautés de pollinisateurs.

De plus, une contribution de mon travail est d'avoir intégré l'ensemble des taxons de pollinisateurs rencontrés en prairie permanentes. En effet, la majorité des études ayant porté jusqu'à maintenant sur la fonction de pollinisation (tout milieu confondu) n'intègre que la fréquence des interactions plantes-pollinisateurs, et ne porte que sur certains taxons de pollinisateurs. Ainsi, Bartholomée and Lavorel (2019) n'ont relevé que 21 % d'études sur le service écosystémique de pollinisation portant sur l'ensemble des pollinisateurs, et 66 % sur les abeilles au sens large malgré l'importance de plus en plus reconnue des autres groupes de pollinisateurs et en particulier des Diptères (Syrphidae compris) dans la fonction de pollinisation (ex : Diptères et en particuliers Empididae dans les prairies alpines, Lefebvre et al., 2014). En effet, ces derniers jouent un rôle essentiel dans la pollinisation de nombreuses espèces de plantes (Inouye et al., 2015). Ils sont également plus abondants dans les climats froids et en altitude (Lefebvre et al., 2014). En prairies permanentes, les Diptères pourraient posséder une résilience plus importante face aux écarts de températures, les rendant plus adaptés à l'intensification agricole locale (Kühnel and Blüthgen, 2015). De plus, sur l'ensemble des études répertoriées par Bartholomée and Lavorel (2019) et qui portaient sur l'estimation de la fonction de pollinisation, 75 % se limitaient à la seule fréquence des interactions plantes-pollinisateurs, là où notre travail combine la fréquence des interactions et la mise en évidence de traits d'effet associés à la quantité de pollen transporté et donc au flux de pollen *per se*.

Cependant, bien que nous ayons souligné l'effet positif possible de la pilosité sur le transport de pollen, nous n'avons pas pu étudier les relations entre pilosité et traits floraux ou variables environnementales à l'échelle des communautés. Cette étape reste donc à accomplir lors de futurs travaux. De plus, une autre étape de notre travail consistera à étudier les relations entre ces traits d'effet et la vulnérabilité aux perturbations environnementales, nous permettant ainsi d'affiner notre compréhension des relations entre biodiversité et fonctionnement des écosystèmes. Par

exemple, Kühnel (2015) a montré au sein du BEP que l'intensification agricole diminuait la valeur moyenne de la taille corporelle et de la pilosité des pollinisateurs, alors que nous avons montré une augmentation potentielle de la quantité de grain de pollen transporté avec l'augmentation de ces mêmes traits bien que mesurés différemment. Si parmi les espèces de pollinisateurs, les espèces les plus efficaces pour la fonction de pollinisation sont aussi les plus vulnérables aux perturbations environnementales comme l'intensification agricole, la relation entre diversité des pollinisateurs et fonction de pollinisation pourrait être convexe et pas simplement linéaire (Schleuning et al., 2015) comme nous l'avons montré en prenant uniquement en compte diversité des traits floraux et fréquence des interactions. Les connaissances sur ces relations sont essentielles à développer car elles sont au cœur de la prédiction de la résilience des fonctions écosystémiques face aux aléas environnementaux dont climatiques (Schleuning et al., 2015), et donc essentielles pour le développement de l'agroécologie.

De plus, nous n'avons pas montré les conséquences des changements de niveau de fonction de pollinisation sur l'assemblage des communautés de plantes, ni les conséquences qui en découlent sur les avantages que peuvent en tirer les Hommes, i.e. sur le service écosystémique de pollinisation en prairie permanente. En effet, bien que l'importance du service écosystémique de pollinisation en grandes cultures soit bien établie (Bartholomé and Lavorel, 2019), peu d'éléments sont disponibles sur ce service dans les milieux prairiaux. Parmi les rares études disponibles, certaines portent sur l'absence de pollinisateurs qui impacterait négativement la diversité des communautés de plantes prairiales (Lundgren et al., 2016), ou sur la nécessité d'une complémentarité fonctionnelle entre pollinisateurs pour assurer la reproduction de plantes ayant des combinaisons de traits floraux différentes (Fontaine et al., 2005). Cependant, aucune de ces études n'intègre les conséquences d'une diminution ou d'une suppression de la fonction de pollinisation sur la production ou la qualité du fourrage produit. En particulier, la qualité du fourrage pourrait dépendre de l'abondance des dicotylédones, comme par exemple de celles des fabacées de par leur teneur en protéine élevée (Schneider, 2015). Il en est de même pour la souplesse de l'exploitation des prairies. En effet, les Poacées présentent une croissance printanière et d'arrière-saison, alors que de nombreuses dicotylédones ont une croissance à la fin du printemps et en été. Ainsi, les prairies permanentes les plus diverses pourraient également être plus résilientes aux aléas climatiques. Cependant, l'abondance des dicotylédones pouvant également être impactée par l'intensification agricole, et il est encore nécessaire de développer

nos connaissances sur ces aspects multi-services qui sont également centraux dans le concept d'agroécologie.

2. Perspectives méthodologiques

Ce travail de thèse repose sur l'étude de plusieurs composantes des déterminants biophysiques de la fonction de pollinisation : richesse taxonomique des plantes et des pollinisateurs, fréquence des interactions plantes-pollinisateurs, traits d'interaction impliqués, traits d'effets des pollinisateurs et quantité de pollen transporté. L'échantillonnage de l'ensemble de ces composantes demande un investissement important en termes de temps et de budget. Cependant, l'échantillonnage de la plupart de ces composantes est fondé sur des actions répétitives de classification (taxonomique ou de parties corporelles) suivies de mesures, et donc potentiellement automatisables. Avec le développement des techniques informatiques et notamment celles du *deep learning* (ou apprentissage profond en référence à l'utilisation de différentes couches de représentation des données d'entrée ; Chollet, 2018), il est possible d'imaginer un futur proche où l'écologie de la pollinisation pourra se servir de ces méthodes, les ponts entre intelligence artificielle et ses nombreux champs d'applications possibles restant encore largement à faire (Chollet, 2018). En effet, dans le cadre de la classification d'images ou de sons, les méthodes de *deep learning* permettent à partir d'exemples de données d'entrée (ex : photographies d'insectes dans le cas d'un objectif de classification d'images) et d'exemples de résultats attendus (ex : identification taxonomique de l'insecte) d'apprendre à transformer de nouvelles données d'entrée afin d'obtenir un résultat sensé de classification. Le but de cette sous-section est d'en présenter quelques applications, bien qu'il soit nécessaire de garder à l'esprit que l'une des limites des méthodes de *deep learning* est de nécessiter des jeux de données particulièrement volumineux et fiables pour entraîner les algorithmes (Chollet, 2018). Une première phase importante d'acquisition et de vérification de données par l'Homme est donc un préalable au développement de ces méthodes. L'utilisation des méthodes que nous proposons ici s'inscrit donc dans une démarche à long terme.

2.1. Effort d'échantillonnage des interactions plantes-pollinisateurs

En plus des limites mentionnées en 5.1., la qualité de l'acquisition des données lors de l'échantillonnage des interactions plantes-pollinisateurs dépend actuellement fortement de l'opérateur. En particulier, l'aptitude d'un opérateur à reconstituer le plus fidèlement possible le réseau d'interactions plantes-pollinisateurs qu'il échantillonne dépend de son acuité visuelle, de

son habilité à capturer les insectes, de son niveau de concentration, l'ensemble de ces paramètres étant fortement impacté par les conditions environnementales (notamment la chaleur). Les approches numériques ainsi que l'automatisation de l'acquisition des données à l'aide de systèmes robotisés reste donc une voie intéressante à explorer. Par rapport à l'écologie de la pollinisation, plusieurs axes peuvent être dégagés.

2.1.1. Échantillonnage des plantes en fleurs

L'utilisation de méthode d'imagerie à l'aide par exemple de caméras placées au-dessus et sur le côté d'un quadrat pourrait permettre d'estimer le recouvrement par espèces de plantes en fleurs, et même d'en estimer la hauteur. Des plateformes mobiles de phénotypage sont actuellement existantes par exemple pour l'étude de plantes cultivées (Phénomobile de la plateforme Pheno 3C du site INRA de Crouël), et leur adaptations au suivie des plantes prairiales pourrait être envisageables avec cependant certaines limites : un coût financier très important, gérer la stratification de la végétation qui est bien plus importante qu'en monoculture, mais aussi d'avoir suffisamment de résolution pour repérer et identifier les fleurs les plus petites. Cependant, l'utilisation de photographies pour la reconnaissance de plantes a connu un fort engouement ces dernières années auprès du public (ex : avec l'application PlantNet). Il est donc concevable que des photographies de haute résolution couplées à des méthodes de *deep learning* puissent permettre l'identification des plantes en fleurs.

2.1.2. Échantillonnage des pollinisateurs : de l'approche fleur-robot à la bio-acoustique

Plusieurs méthodes d'échantillonnage permettant d'augmenter l'effort d'échantillonnage des interactions plantes-pollinisateurs ont été proposées ces dernières années. Elles incluent notamment les approches de *metabarcoding* (Pornon et al., 2017). Une des limites de ces approches tient au manque de génomes de référence disponibles, qu'il s'agisse des pollens des plantes ou des espèces d'insectes (avec une variabilité selon les taxons).

Afin de dépasser ces limites, il est nécessaire de développer des méthodes qui permettraient :

- D'échantillonner les interactions plantes-pollinisateurs sans intervention humaine afin d'éviter les biais humains, tout en échantillonnant en continu et donc sans contrainte temporelle ou météorologique
- De permettre l'identification des pollinisateurs

Ces dernières années ont vu l'accès de matériaux informatiques et électroniques fiables et peu coûteux. Ces derniers ont permis le développement de systèmes embarqués *open source*, notamment en écologie (e.g. prises de photographies automatisées de la faune sauvage). Récemment, Kuusela and Lämsä (2016) ont proposé un système de fleur-robot qui permet la détection automatique des interactions entre des fleurs synthétiques et des bourdons lors d'expériences comportementales. Ce dernier repose sur un détecteur de mouvement situé dans la fleur synthétique et couplé à un micro-ordinateur (Arduino) qui se déclenche lorsque la langue d'un pollinisateur passe devant le détecteur. En s'inspirant de ce procédé, il serait possible de développer des fleurs-robots en milieu naturel qui imiteraient une grande diversité de forme de fleurs en utilisant des imprimantes 3D. La détection d'une interaction déclencherait en plus une photographie de l'insecte, ce qui permettrait son identification à un niveau taxonomique à définir à l'aide d'algorithmes de *deep learning*. Il serait aussi aisé d'intégrer différents capteurs environnementaux (ex : thermomètre, pluviomètre, luxmètre) ainsi qu'une horloge interne qui permettraient de définir les conditions d'activité des différents taxons de pollinisateurs. Enfin, ces fleurs-robots seraient couplées à des enregistreurs sonores qui permettraient de constituer des bases de données de signatures bio-acoustiques des pollinisateurs, qui plus est sur différentes formes de fleurs. L'acquisition d'une vaste base de données couplant signature acoustique et identité des pollinisateurs pourrait ainsi elle-même être obtenue en utilisant des méthodes automatiques. Ces données pourraient ensuite être utilisées pour des approches d'échantillonnage uniquement par bio-acoustique qui nécessitent l'enregistrement des signaux spécifiques des différentes espèces de pollinisateurs pour nourrir des algorithmes de *deep learning* utilisés pour la classification de sons. Il suffirait alors, pour reconstituer des réseaux d'interactions plantes-pollinisateurs fondés sur des plantes réelles, de positionner des enregistreurs sonores à proximité de différentes espèces d'une prairie. Du fait d'un coût économique faible, il serait possible de suivre en continu un nombre important de plantes et de prairies. Cependant, comme tout système embarqué, la conception de ces méthodologies doit s'appuyer sur une prise en compte de nombreux facteurs tels que l'étanchéité des appareils, leur autonomie énergétique, la manière dont sont gérées les données (ex : envoi quotidien par wifi, stockage interne sur carte SD) ou encore la fréquence d'activité des capteurs (ex : continue, actif toutes les secondes, toutes les cinq secondes etc.). Enfin, une limite majeure de ce type de système est le risque de dégradation du matériel par des humains ou animaux.

2.2. Quantification des traits des pollinisateurs : plateforme de phénotypage

Le phénotypage des insectes pollinisateurs reste une activité coûteuse en temps malgré l'apport de nouvelles techniques comme le calcul de la pilosité utilisé au cours de cette thèse. L'utilisation de méthodes d'imagerie est de plus en plus présente en écologie. Par exemple, en océanographie, des outils ont été développés permettant l'acquisition d'images des particules présentes dans un échantillon ou in situ. Les métriques associées (ex : taille, transparence) peuvent être automatiquement calculées (Gorsky et al., 2010). A partir de macrophotographies 3D comme celles proposées par Ströbel et al. (2018), il serait possible de mesurer efficacement et de manière standardisée la plupart des traits fonctionnels morphologiques des insectes pollinisateurs, tels que la taille corporelle et celle des différentes parties du corps des insectes (ex : longueur des ailes et longueur des pièces buccales si ces dernières sont préalablement préparées) ainsi que la pilosité. De plus, ces macrophotographies pourraient alimenter un algorithme de *deep learning* permettant d'identifier et de mesurer automatiquement ces différentes parties corporelles, ainsi que d'assigner à un taxon les insectes échantillonnés. Dans un contexte d'une forte limitation en expert en taxonomie et une forte spécialisation par taxon chez ces derniers, la classification automatique des pollinisateurs pourrait représenter un réel avantage, même si elle ne permettrait dans un premier temps qu'une classification à des niveaux taxonomiques élevés (ex : famille), permettant ainsi une orientation vers les experts taxonomistes appropriés. Cependant, l'une des limites de ces approches rejoindrait celle rencontrée au cours de notre travail sur la pilosité avec les insectes de couleurs sombres qui présentent trop peu de contraste pour permettre une classification correcte. L'utilisation de méthodes d'imagerie peut aussi être envisagée pour la quantification grains de pollen transportés par les pollinisateurs. Il peut s'agir de méthodes basées sur des solutions (cytométrie), ou sur des photographies de lames sous microscope. L'identification des grains peut également être simplifiée en utilisant des méthodes d'imagerie, avec un intérêt important dans un contexte où les experts en palynologie sont rares.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Au cours de cette thèse, nous avons utilisé une approche fonctionnelle afin de mettre en évidence les effets en cascade de l'intensification agricole et des caractéristiques environnementales locales sur la fonction de pollinisation en prairies permanentes en intégrant les traits d'interaction des plantes et des pollinisateurs. Nous avons validé au moins partiellement la plupart des étapes de cette cascade d'effets. Ainsi, nous avons montré dans nos conditions des relations entre caractéristiques du sol et diversité fonctionnelle des traits floraux pour les 16 prairies étudiées. Ce résultat est probablement lié à des phénomènes de compétitivité n'impliquant pas les interactions plantes-pollinisateurs. Si ce résultat se généralise dans d'autres conditions, il sera nécessaire de prendre en compte ces caractéristiques édaphiques dans le cadre d'une modification ou d'une restauration de prairies permanentes dans l'optique d'en maximiser le fonctionnement écologique et suggère qu'il est nécessaire de prendre en compte ces caractéristiques dans le cadre d'une modification ou restauration de prairies permanentes dans l'optique d'en maximiser le fonctionnement écologique. Notre deuxième résultat principal est que nous avons montré pour la première fois (à notre connaissance) une relation positive entre biodiversité des traits floraux et fréquence des interactions plantes-pollinisateurs, proxy de la fonction de pollinisation. Outre un apport nouveau au cadre conceptuel biodiversité-fonctionnement des écosystèmes qui est central dans le concept d'agroécologie, ce résultat montre également que les prairies permanentes pourraient permettre de concilier fonction écosystémique et préservation de la biodiversité, deux éléments centraux de la transition agroécologique. En effet, nous avons également montré que la diversité fonctionnelle d'un trait floral, la production de sucre par unité florale, avait un effet positif sur la richesse taxonomique des pollinisateurs à l'heure où les pollinisateurs sauvages connaissent un déclin à différentes échelles spatiales. En augmentant cette diversité fonctionnelle au sein des prairies permanentes, les gestionnaires pourraient contribuer à limiter ce déclin. En outre, ces résultats pourraient trouver une application dans l'amélioration des outils visant à élaborer des indicateurs pour évaluer simplement la fonction pollinisation. Enfin, nous avons montré pour la première fois pour un ensemble de plantes sauvages une relation entre taille corporelle des pollinisateurs ainsi que pilosité faciale et quantité de pollen transporté. Alors que la quantité moyenne de sucre produite par les unités florales influençaient positivement la valeur moyenne de la taille des pollinisateurs, l'ensemble de ces résultats suggèrent qu'en augmentant la production moyenne de sucre par unité florale au sein des prairies, par exemple en sursemant des espèces

ayant les niveaux de production le plus élevé (ex : *Centaurea jacea*, *Knautia arvensis*), il serait possible d'augmenter le transfert de pollen au sein de ces dernières. L'ensemble de ces résultats apporte donc de nouvelles connaissances et une compréhension plus précise de la fonction de pollinisation en prairie permanente ainsi que les relations avec ses déterminants biophysiques. Enfin, ces résultats sont également de nouveaux arguments en faveur de la nécessité de préserver les prairies permanentes, et montrent de possibles leviers sur lesquels jouer pour influencer le niveau de fonction de pollinisation au sein de ces dernières.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Arceo-Gómez, G., Schroeder, A., Albor, C., Ashman, T.-L., Knight, T.M., Bennett, J.M., Suarez, B., Parra-Tabla, V., 2019. Global geographic patterns of heterospecific pollen receipt help uncover potential ecological and evolutionary impacts across plant communities worldwide. *Sci Rep* 9, 8086. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-44626-0>
- Armbruster, W.S., 2017. The specialization continuum in pollination systems: diversity of concepts and implications for ecology, evolution and conservation. *Functional Ecology* 31, 88–100. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12783>
- Ballantyne, G., Baldock, K.C.R., Rendell, L., Willmer, P.G., 2017. Pollinator importance networks illustrate the crucial value of bees in a highly speciose plant community. *Scientific Reports* 7. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-08798-x>
- Barr, D.J., Levy, R., Scheepers, C., Tily, H.J., 2013. Random effects structure for confirmatory hypothesis testing: Keep it maximal. *Journal of Memory and Language* 68, 255–278. <https://doi.org/10.1016/j.jml.2012.11.001>
- Bartholomée, O., Lavorel, S., 2019. Disentangling the diversity of definitions for the pollination ecosystem service and associated estimation methods. *Ecological Indicators* 107, 105576. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2019.105576>
- Bartomeus, I., Cariveau, D.P., Harrison, T., Winfree, R., 2018. On the inconsistency of pollinator species traits for predicting either response to land-use change or functional contribution. *Oikos* 127, 306–315. <https://doi.org/10.1111/oik.04507>
- Bartoń, K., 2019. MuMIn: Multi-Model Inference.
- Bates, D., Mächler, M., Bolker, B., Walker, S., 2014. Fitting Linear Mixed-Effects Models using lme4. *arXiv:1406.5823 [stat]*.
- Baude, M., Kunin, W.E., Boatman, N.D., Conyers, S., Davies, N., Gillespie, M.A.K., Morton, R.D., Smart, S.M., Memmott, J., 2016. Historical nectar assessment reveals the fall and rise of floral resources in Britain. *Nature* 530, 85–88. <https://doi.org/10.1038/nature16532>
- Binkenstein, J., Renoult, J.P., Schaefer, H.M., 2013. Increasing land-use intensity decreases floral

colour diversity of plant communities in temperate grasslands. *Oecologia* 173, 461–471. <https://doi.org/10.1007/s00442-013-2627-6>

Blüthgen, N., Dormann, C.F., Prati, D., Klaus, V.H., Kleinebecker, T., Hölzel, N., Alt, F., Boch, S., Gockel, S., Hemp, A., Müller, J., Nieschulze, J., Renner, S.C., Schöning, I., Schumacher, U., Socher, S.A., Wells, K., Birkhofer, K., Buscot, F., Oelmann, Y., Rothenwöhrer, C., Scherber, C., Tschardt, T., Weiner, C.N., Fischer, M., Kalko, E.K.V., Linsenmair, K.E., Schulze, E.-D., Weisser, W.W., 2012. A quantitative index of land-use intensity in grasslands: Integrating mowing, grazing and fertilization. *Basic and Applied Ecology* 13, 207–220. <https://doi.org/10.1016/j.baae.2012.04.001>

Blüthgen, N., Klein, A.-M., 2011. Functional complementarity and specialisation: The role of biodiversity in plant–pollinator interactions. *Basic and Applied Ecology* 12, 282–291. <https://doi.org/10.1016/j.baae.2010.11.001>

Botta-Dukát, Z., 2005. Rao’s quadratic entropy as a measure of functional diversity based on multiple traits. *Journal of Vegetation Science* 16, 533–540. <https://doi.org/10.1111/j.1654-1103.2005.tb02393.x>

Brosi, B.J., Briggs, H.M., 2013. Single pollinator species losses reduce floral fidelity and plant reproductive function. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 110, 13044–13048. <https://doi.org/10.1073/pnas.1307438110>

Brown, J.H., Gillooly, J.F., Allen, A.P., Savage, V.M., West, G.B., 2004. Toward a metabolic theory of ecology. *Ecology* 85, 1771–1789. <https://doi.org/10.1890/03-9000>

Burkle, L.A., Alarcon, R., 2011. The future of plant-pollinator diversity: Understanding interaction networks across time, space, and global change. *American Journal of Botany* 98, 528–538. <https://doi.org/10.3732/ajb.1000391>

Burkle, L.A., Delphia, C.M., O’Neill, K.M., 2017. A dual role for farmlands: food security and pollinator conservation. *Journal of Ecology* 105, 890–899. <https://doi.org/10.1111/1365-2745.12784>

Burnham, K.P., Anderson, D.R., Burnham, K.P., 2002. Model selection and multimodel inference: a practical information-theoretic approach, 2nd ed. ed. Springer, New York.

- Busch, V., Klaus, V.H., Penone, C., Schäfer, D., Boch, S., Prati, D., Müller, J., Socher, S.A., Niinemets, Ü., Peñuelas, J., Hölzel, N., Fischer, M., Kleinebecker, T., 2017. Nutrient stoichiometry and land use rather than species richness determine plant functional diversity. *Ecology and Evolution* 8, 16. <https://doi.org/10.1002/ece3.3609>
- Cadotte, M.W., Tucker, C.M., 2017. Should Environmental Filtering be Abandoned? *Trends in Ecology & Evolution* 32, 429–437. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2017.03.004>
- Cane, J.H., Love, B., 2018. Pollen carryover between sequential foraging trips by a solitary bee: implications for distant outcrossing. *JPE* 24. [https://doi.org/10.26786/1920-7603\(2018\)15](https://doi.org/10.26786/1920-7603(2018)15)
- Cane, J.H., Tepedino, V.J., 2017. Gauging the Effect of Honey Bee Pollen Collection on Native Bee Communities: Apis pollen depletion and native bees. *Conservation Letters* 10, 205–210. <https://doi.org/10.1111/conl.12263>
- Cariveau, D.P., Nayak, G.K., Bartomeus, I., Zientek, J., Ascher, J.S., Gibbs, J., Winfree, R., 2016. The Allometry of Bee Proboscis Length and Its Uses in Ecology. *PLOS ONE* 11, e0151482. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0151482>
- Ceulemans, T., Merckx, R., Hens, M., Honnay, O., 2013. Plant species loss from European semi-natural grasslands following nutrient enrichment - is it nitrogen or is it phosphorus?: Does N or P drive species loss? *Global Ecology and Biogeography* 22, 73–82. <https://doi.org/10.1111/j.1466-8238.2012.00771.x>
- Ceulemans, T., Merckx, R., Hens, M., Honnay, O., 2011. A trait-based analysis of the role of phosphorus vs. nitrogen enrichment in plant species loss across North-west European grasslands: Trait-based analysis of the role of P vs. N enrichment. *Journal of Applied Ecology* 48, 1155–1163. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2664.2011.02023.x>
- Ceulemans, T., Stevens, C.J., Duchateau, L., Jacquemyn, H., Gowing, D.J.G., Merckx, R., Wallace, H., van Rooijen, N., Goethem, T., Bobbink, R., Dorland, E., Gaudnik, C., Alard, D., Corcket, E., Muller, S., Dise, N.B., Dupré, C., Diekmann, M., Honnay, O., 2014. Soil phosphorus constrains biodiversity across European grasslands. *Global Change Biology* 20, 3814–3822. <https://doi.org/10.1111/gcb.12650>
- Chalmandrier, L., Albouy, C., Pellissier, L., 2017. Species pool distributions along functional trade-offs shape plant productivity–diversity relationships. *Scientific Reports* 7.

<https://doi.org/10.1038/s41598-017-15334-4>

Chittka, L., Raine, N.E., 2006. Recognition of flowers by pollinators. *Current Opinion in Plant Biology* 9, 428–435. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2006.05.002>

Chollet, F., 2018. *Deep learning with Python*. Manning Publications Co, Shelter Island, New York.

Corbet, S., Bee, J., Dasmahapatra, K., Gale, S., Gorringer, E., La Ferla, B., Moorhouse, T., Treveil, A., Van Bergen, Y., Vorontsova, M., 2001. Native or Exotic? Double or Single? Evaluating Plants for Pollinator-friendly Gardens. *Annals of Botany* 87, 219–232. <https://doi.org/10.1006/anbo.2000.1322>

Corbet, S.A., 2003. Nectar sugar content: estimating standing crop and secretion rate in the field. *Apidologie* 34, 1–10. <https://doi.org/10.1051/apido:2002049>

Cornu, A., Farruggia, A., Leppik, E., Pinier, C., Fournier, F., Genoud, D., Frérot, B., 2015. Trapping the Pasture Odorscape Using Open-Air Solid-Phase Micro Extraction, a Tool to Assess Grassland Value. *PLoS one* 10, e0140600.

Cruden, R.W., 2000. Pollen grains: Why so many? *Plant Systematics and Evolution* 222, 143–165. <https://doi.org/10.1007/BF00984100>

De Palma, A., Kuhlmann, M., Roberts, S.P.M., Potts, S.G., Börger, L., Hudson, L.N., Lysenko, I., Newbold, T., Purvis, A., 2015. Ecological traits affect the sensitivity of bees to land-use pressures in European agricultural landscapes. *Journal of Applied Ecology* 52, 1567–1577. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.12524>

Dengler, J., Janišová, M., Török, P., Wellstein, C., 2014. Biodiversity of Palaearctic grasslands: a synthesis. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 182, 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2013.12.015>

Devaux, C., Lepers, C., Porcher, E., 2014. Constraints imposed by pollinator behaviour on the ecology and evolution of plant mating systems. *Journal of Evolutionary Biology* 27, 1413–1430. <https://doi.org/10.1111/jeb.12380>

Díaz, S., Fargione, J., Iii, F.S.C., Tilman, D., 2006. Biodiversity Loss Threatens Human Well-Being. *PLoS Biology* 4, 6.

- Díaz, S., Lavorel, S., de Bello, F., 2007. Incorporating plant functional diversity effects in ecosystem service assessments. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 104, 6. <https://doi.org/10.1073/pnas.0704716104>
- Dicks, L.V., Baude, M., Roberts, S., Phillips, J., Green, M., Carvell, C., 2015. How much flower-rich habitat is enough for wild pollinators? Answering a key policy question with incomplete knowledge. *Ecological Entomology* 40, 14. <https://doi.org/10.1111/een.12226>
- Dormann, C.F., Elith, J., Bacher, S., Buchmann, C., Carl, G., Carré, G., Marquéz, J.R.G., Gruber, B., Lafourcade, B., Leitão, P.J., Münkemüller, T., McClean, C., Osborne, P.E., Reineking, B., Schröder, B., Skidmore, A.K., Zurell, D., Lautenbach, S., 2013. Collinearity: a review of methods to deal with it and a simulation study evaluating their performance. *Ecography* 36, 27–46. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0587.2012.07348.x>
- Dormann, C.F., Fründ, J., Schaefer, H.M., 2017. Identifying Causes of Patterns in Ecological Networks: Opportunities and Limitations. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 48, 559–584. <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-110316-022928>
- Dormann, C.F., Gruber, B., Fründ, J., 2008. Introducing the bipartite Package: Analysing Ecological Networks. *R News* 8, 4.
- Dormann, C.F., Strauss, R., 2014. A method for detecting modules in quantitative bipartite networks. *Methods in Ecology and Evolution* 5, 90–98. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12139>
- Dray, S., Choler, P., Dolédec, S., Peres-Neto, P.R., Thuiller, W., Pavoine, S., ter Braak, C.J.F., 2014. Combining the fourth-corner and the RLQ methods for assessing trait responses to environmental variation. *Ecology* 95, 14–21. <https://doi.org/10.1890/13-0196.1>
- Ebeling, A., Klein, A.-M., Schumacher, J., Weisser, W.W., Tschardtke, T., 2008. How does plant richness affect pollinator richness and temporal stability of flower visits? *Oikos* 117, 1808–1815. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2008.16819.x>
- Eurostat, 2007. Permanent grassland: number of farms and areas by agricultural size of farm (UAA) and size of permanent grassland area.
- Filipiak, M., 2018. A Better Understanding of Bee Nutritional Ecology Is Needed to Optimize

Conservation Strategies for Wild Bees—The Application of Ecological Stoichiometry. *Insects* 9, 85. <https://doi.org/10.3390/insects9030085>

Filipiak, M., Kuszewska, K., Asselman, M., Denisow, B., Stawiarz, E., Woyciechowski, M., Weiner, J., 2017. Ecological stoichiometry of the honeybee: Pollen diversity and adequate species composition are needed to mitigate limitations imposed on the growth and development of bees by pollen quality. *PLOS ONE* 12, e0183236. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0183236>

Fischer, M., Bossdorf, O., Gockel, S., Hänsel, F., Hemp, A., Hessenmöller, D., Korte, G., Nieschulze, J., Pfeiffer, S., Prati, D., Renner, S., Schöning, I., Schumacher, U., Wells, K., Buscot, F., Kalko, E.K.V., Linsenmair, K.E., Schulze, E.-D., Weisser, W.W., 2010. Implementing large-scale and long-term functional biodiversity research: The Biodiversity Exploratories. *Basic and Applied Ecology* 11, 473–485. <https://doi.org/10.1016/j.baae.2010.07.009>

Fontaine, C., Dajoz, I., Meriguet, J., Loreau, M., 2005. Functional Diversity of Plant–Pollinator Interaction Webs Enhances the Persistence of Plant Communities. *PLoS Biology* 4, e1. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0040001>

Fornoff, F., Klein, A.-M., Hartig, F., Benadi, G., Venjakob, C., Schaefer, H.M., Ebeling, A., 2017. Functional flower traits and their diversity drive pollinator visitation. *Oikos*. <https://doi.org/10.1111/oik.03869>

Fowler, R.E., Rotheray, E.L., Goulson, D., 2016. Floral abundance and resource quality influence pollinator choice. *Insect Conservation and Diversity* 9, 481–494. <https://doi.org/10.1111/icad.12197>

Fründ, J., Dormann, C.F., Holzschuh, A., Tscharntke, T., 2013. Bee diversity effects on pollination depend on functional complementarity and niche shifts. *Ecology* 94, 2042–2054.

Fründ, J., Linsenmair, K.E., Blüthgen, N., 2010. Pollinator diversity and specialization in relation to flower diversity. *Oikos* 119, 1581–1590. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2010.18450.x>

Fründ, J., McCann, K.S., Williams, N.M., 2015. Sampling bias is a challenge for quantifying specialization and network structure: lessons from a quantitative niche model. *Oikos* 125, 30. <https://doi.org/10.1111/oik.02256>

Fuller, R.J., Norton, L.R., Feber, R.E., Johnson, P.J., Chamberlain, D.E., Joys, A.C., Mathews, F.,

Stuart, R.C., Townsend, M.C., Manley, W.J., Wolfe, M.S., Macdonald, D.W., Firbank, L.G., 2005. Benefits of organic farming to biodiversity vary among taxa. *Biol. Lett.* 1, 431–434. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2005.0357>

Gámez-Virués, S., Perović, D.J., Gossner, M.M., Börschig, C., Blüthgen, N., de Jong, H., Simons, N.K., Klein, A.-M., Krauss, J., Maier, G., Scherber, C., Steckel, J., Rothenwöhrer, C., Steffan-Dewenter, I., Weiner, C.N., Weisser, W., Werner, M., Tcharntke, T., Westphal, C., 2015. Landscape simplification filters species traits and drives biotic homogenization. *Nature Communications* 6. <https://doi.org/10.1038/ncomms9568>

Garibaldi, L.A., Bartomeus, I., Bommarco, R., Klein, A.M., Cunningham, S.A., Aizen, M.A., Boreux, V., Garratt, M.P.D., Carvalheiro, L.G., Kremen, C., Morales, C.L., Schüepp, C., Chacoff, N.P., Freitas, B.M., Gagic, V., Holzschuh, A., Klatt, B.K., Krewenka, K.M., Krishnan, S., Mayfield, M.M., Motzke, I., Otieno, M., Petersen, J., Potts, S.G., Ricketts, T.H., Rundlöf, M., Sciligo, A., Sinu, P.A., Steffan-Dewenter, I., Taki, H., Tcharntke, T., Vergara, C.H., Viana, B.F., Woyciechowski, M., 2015. EDITOR'S CHOICE: REVIEW: Trait matching of flower visitors and crops predicts fruit set better than trait diversity. *Journal of Applied Ecology* 52, 1436–1444. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.12530>

Garnier, E., Lavorel, S., Ansquer, P., Castro, H., Cruz, P., Dolezal, J., Eriksson, O., Fortunel, C., Freitas, H., Golodets, C., Grigulis, K., Jouany, C., Kazakou, E., Kigel, J., Kleyer, M., Lehsten, V., Leps, J., Meier, T., Pakeman, R., Papadimitriou, M., Papanastasis, V.P., Quested, H., Quetier, F., Robson, M., Roumet, C., Rusch, G., Skarpe, C., Sternberg, M., Theau, J.-P., Thebault, A., Vile, D., Zarovali, M.P., 2007. Assessing the Effects of Land-use Change on Plant Traits, Communities and Ecosystem Functioning in Grasslands: A Standardized Methodology and Lessons from an Application to 11 European Sites. *Annals of Botany* 99, 967–985. <https://doi.org/10.1093/aob/mcl215>

Garnier, E., Navas, M.-L., 2012. A trait-based approach to comparative functional plant ecology: concepts, methods and applications for agroecology. A review. *Agronomy for Sustainable Development* 32, 365–399. <https://doi.org/10.1007/s13593-011-0036-y>

Gaujour, E., Amiaud, B., Mignolet, C., Plantureux, S., 2012. Factors and processes affecting plant biodiversity in permanent grasslands. A review. *Agronomy for Sustainable Development* 32, 133–160. <https://doi.org/10.1007/s13593-011-0015-3>

Geslin, B., Gauzens, B., Thébault, E., Dajoz, I., 2013. Plant pollinator networks along a gradient of urbanisation. *PloS one* 8, e63421.

Gomez, J.M., Bosch, J., Perfectti, F., Fernandez, J.D., Abdelaziz, M., Camacho, J.P.M., 2008. Spatial variation in selection on corolla shape in a generalist plant is promoted by the preference patterns of its local pollinators. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 275, 2241–2249. <https://doi.org/10.1098/rspb.2008.0512>

González, A.L., Dézerald, O., Marquet, P.A., Romero, G.Q., Srivastava, D.S., 2017. The Multidimensional Stoichiometric Niche. *Frontiers in Ecology and Evolution* 5. <https://doi.org/10.3389/fevo.2017.00110>

Gorsky, G., Ohman, M.D., Picheral, M., Romagnan, B., Cawood, A., 2010. Digital zooplankton image analysis using the ZooScan integrated system 32, 19.

Goulson, D., 2019. The insect apocalypse, and why it matters. *Current Biology* 29, R967–R971. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2019.06.069>

Goulson, D., 2010. *Bumblebees: behaviour, ecology, and conservation*, 2nd ed. ed. Oxford University Press, Oxford.

Grace, J.B., Anderson, T.M., Seabloom, E.W., Borer, E.T., Adler, P.B., Harpole, W.S., Hautier, Y., Hillebrand, H., Lind, E.M., Pärtel, M., Bakker, J.D., Buckley, Y.M., Crawley, M.J., Damschen, E.I., Davies, K.F., Fay, P.A., Firn, J., Gruner, D.S., Hector, A., Knops, J.M.H., MacDougall, A.S., Melbourne, B.A., Morgan, J.W., Orrock, J.L., Prober, S.M., Smith, M.D., 2016. Integrative modelling reveals mechanisms linking productivity and plant species richness. *Nature* 529, 390–393. <https://doi.org/10.1038/nature16524>

Greenleaf, S.S., Williams, N.M., Winfree, R., Kremen, C., 2007. Bee foraging ranges and their relationship to body size. *Oecologia* 153, 589–596. <https://doi.org/10.1007/s00442-007-0752-9>

Grime, J.P., 2007. Plant strategy theories: a comment on Craine (2005). *Journal of Ecology* 95, 227–230. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2006.01163.x>

Grime, J.P., 1998. Benefits of plant diversity to ecosystems: immediate, filter and founder effects. *Journal of Ecology* 86. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2745.1998.00306.x>

Hallmann, C.A., Sorg, M., Jongejans, E., Siepel, H., Hofland, N., Schwan, H., Stenmans, W.,

Müller, A., Sumser, H., Hörren, T., Goulson, D., de Kroon, H., 2017. More than 75 percent decline over 27 years in total flying insect biomass in protected areas. *PLoS ONE* 12, e0185809. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0185809>

Harder, L.D., Barrett, S.C.H., 1996. Pollen Dispersal and Mating Patterns in Animal-Pollinated Plants, in: *Floral Biology*. Springer, Boston, MA, pp. 140–190.

Hector, A., 1999. Plant Diversity and Productivity Experiments in European Grasslands. *Science* 286, 1123–1127. <https://doi.org/10.1126/science.286.5442.1123>

Hegland, S.J., Totland, Ø., 2005. Relationships between species' floral traits and pollinator visitation in a temperate grassland. *Oecologia* 145, 586–594. <https://doi.org/10.1007/s00442-005-0165-6>

Helsen, K., Ceulemans, T., Stevens, C.J., Honnay, O., 2014. Increasing Soil Nutrient Loads of European Semi-natural Grasslands Strongly Alter Plant Functional Diversity Independently of Species Loss. *Ecosystems* 17, 169–181. <https://doi.org/10.1007/s10021-013-9714-8>

Hempel de Ibarra, N., Langridge, K.V., Vorobyev, M., 2015. More than colour attraction: behavioural functions of flower patterns. *Current Opinion in Insect Science* 12, 64–70. <https://doi.org/10.1016/j.cois.2015.09.005>

Henry, M., Rodet, G., 2018. Controlling the impact of the managed honeybee on wild bees in protected areas. *Scientific Reports* 8. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-27591-y>

Hicks, D.M., Ouvrard, P., Baldock, K.C.R., Baude, M., Goddard, M.A., Kunin, W.E., Mitschunas, N., Memmott, J., Morse, H., Nikolitsi, M., Osgathorpe, L.M., Potts, S.G., Robertson, K.M., Scott, A.V., Sinclair, F., Westbury, D.B., Stone, G.N., 2016. Food for Pollinators: Quantifying the Nectar and Pollen Resources of Urban Flower Meadows. *PLOS ONE* 11, e0158117. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0158117>

Hooper, D.U., Adair, E.C., Cardinale, B.J., Byrnes, J.E.K., Hungate, B.A., Matulich, K.L., Gonzalez, A., Duffy, J.E., Gamfeldt, L., O'Connor, M.I., 2012. A global synthesis reveals biodiversity loss as a major driver of ecosystem change. *Nature* 486, 105–108. <https://doi.org/10.1038/nature11118>

Hudewenz, A., Klein, A.-M., Scherber, C., Stanke, L., Tschardtke, T., Vogel, A., Weigelt, A., Weisser, W.W., Ebeling, A., 2012. Herbivore and pollinator responses to grassland management

intensity along experimental changes in plant species richness. *Biological Conservation* 150, 42–52. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2012.02.024>

Huston, M.A., 2014. Disturbance, productivity, and species diversity: empiricism vs. logic in ecological theory. *Ecology* 95, 2382–2396. <https://doi.org/10.1890/13-1397.1>

Huyghe, C., De Vlieghe, A., van Gils, B., Peeters, A., 2014. Grasslands and herbivore production in Europe and effects of common policies, 1st ed. Editions Quae, Versailles, France.

Inouye, D.W., Larson, B.M., Ssymank, A., Kevan, P.G., 2015. Flies and flowers III: ecology of foraging and pollination. *J. Pollinat. Ecol* 16, 115–133.

IPCC, 2019. Climate Change and Land An IPCC Special Report on climate change, desertification, land degradation, sustainable land management, food security, and greenhouse gas fluxes in terrestrial ecosystems.

Janssens, F., Peeters, A., Tallowin, J.R.B., Bakker, J.P., Bekker, R.M., Fillat, F., Oomes, M.J.M., 1998. Relationship between soil chemical factors and grassland diversity. *Plant and soil* 202, 69–78.

Jauker, B., Krauss, J., Jauker, F., Steffan-Dewenter, I., 2013. Linking life history traits to pollinator loss in fragmented calcareous grasslands. *Landscape Ecol* 28, 14. <https://doi.org/DOI10.1007/s10980-012-9820-6>

Jong, F.M.W. de, Voet, E. van der, Canters, K.J., Harle, N., 1991. The side-effects of airborne pesticides on fungi and vascular plants. Centre of Environmental Science, Leiden University, Leiden.

Junker, R.R., Blüthgen, N., Brehm, T., Binkenstein, J., Paulus, J., Martin Schaefer, H., Stang, M., 2013. Specialization on traits as basis for the niche-breadth of flower visitors and as structuring mechanism of ecological networks. *Functional Ecology* 27, 329–341. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12005>

Junker, R.R., Blüthgen, N., Keller, A., 2015. Functional and phylogenetic diversity of plant communities differently affect the structure of flower-visitor interactions and reveal convergences in floral traits. *Evolutionary Ecology* 29, 437–450. <https://doi.org/10.1007/s10682-014-9747-2>

Junker, R.R., Parachnowitsch, A.L., 2015. Working towards a holistic view on flower traits—how floral scents mediate plant–animal interactions in concert with other floral characters. *Journal of the Indian Institute of Science* 95, 43–68.

Jürgens, A., Bischoff, M., 2017. Changing odour landscapes: the effect of anthropogenic volatile pollutants on plant-pollinator olfactory communication. *Functional Ecology* 31, 56–64. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12774>

Kämper, W., Weiner, C., Kühnel, S., Storm, C., Eltz, T., Blüthgen, N., 2017. Evaluating the effects of floral resource specialisation and of nitrogen regulation on the vulnerability of social bees in agricultural landscapes. *Apidologie* 48, 371–383. <https://doi.org/10.1007/s13592-016-0480-4>

Kearns, C.A., Inouye, D.W., 1993. *Techniques for pollination biologists*. University press of Colorado.

Kendall, L.K., Rader, R., Gagic, V., Cariveau, D.P., Albrecht, M., Baldock, K.C.R., Freitas, B.M., Hall, M., Holzschuh, A., Molina, F.P., Morten, J.M., Pereira, J.S., Portman, Z.M., Roberts, S.P.M., Rodriguez, J., Russo, L., Sutter, L., Vereecken, N.J., Bartomeus, I., 2019. Pollinator size and its consequences: Robust estimates of body size in pollinating insects. *Ecology and Evolution* 9, 13. <https://doi.org/DOI: 10.1002/ece3.4835>

Kevan, P., Giurfa, M., Chittka, L., 1996. Why are there so many and so few white flowers? *Trends in Plant Science* 1, 252.

King, C., Ballantyne, G., Willmer, P.G., 2013. Why flower visitation is a poor proxy for pollination: measuring single-visit pollen deposition, with implications for pollination networks and conservation. *Methods in Ecology and Evolution* 4, 811–818. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12074>

Klumpers, S.G.T., Stang, M., Klinkhamer, P.G.L., 2019. Foraging efficiency and size matching in a plant-pollinator community: the importance of sugar content and tongue length. *Ecology Letters* 22, 469–479. <https://doi.org/10.1111/ele.13204>

Koch, L., Lunau, K., Wester, P., 2017. To be on the safe site – Ungroomed spots on the bee’s body and their importance for pollination. *PLoS ONE* 12, e0182522. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0182522>

- Kraft, N.J.B., Adler, P.B., Godoy, O., James, E.C., Fuller, S., Levine, J.M., 2015. Community assembly, coexistence and the environmental filtering metaphor. *Functional Ecology* 29, 592–599. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12345>
- Krenn, H.W., Plant, J.D., Szucsich, N.U., 2005. Mouthparts of flower-visiting insects. *Arthropod Structure & Development* 34, 1–40. <https://doi.org/10.1016/j.asd.2004.10.002>
- Kühnel, S., 2015. Pollinator trait diversity: functional implications at different land-use intensities and environmental conditions (PhD dissertation). Department of Biology, Technische Universität Darmstadt, Darmstadt, Germany, Darmstadt, Germany.
- Kühnel, S., Blüthgen, N., 2015. High diversity stabilizes the thermal resilience of pollinator communities in intensively managed grasslands. *Nature Communications* 6, 7989. <https://doi.org/10.1038/ncomms8989>
- Kuusela, E., Lämsä, J., 2016. A low-cost, computer-controlled robotic flower system for behavioral experiments. *Ecol Evol* 6, 2594–2600. <https://doi.org/10.1002/ece3.2062>
- Kuznetsova, A., Brockhoff, P.B., Christensen, R.H.B., 2017. **lmerTest** Package: Tests in Linear Mixed Effects Models. *Journal of Statistical Software* 82. <https://doi.org/10.18637/jss.v082.i13>
- Laliberté, E., Legendre, P., Shipley, B., 2014. Package ‘FD.’
- Laliberté, E., Zemanek, G., Turner, B.L., 2014. Environmental filtering explains variation in plant diversity along resource gradients. *Science* 345, 1602–1605. <https://doi.org/10.1126/science.1256330>
- Larson, B.M.H., Barrett, S.C.H., 2000. A comparative analysis of pollen limitation in flowering plants. *Biological Journal of the Linnean Society* 69, 503–520. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.2000.tb01221.x>
- Larue, A.-A.C., Raguso, R.A., Junker, R.R., 2016. Experimental manipulation of floral scent bouquets restructures flower-visitor interactions in the field. *Journal of Animal Ecology* 85, 396–408. <https://doi.org/10.1111/1365-2656.12441>
- Lavorel, S., Garnier, É., 2002. Predicting changes in community composition and ecosystem functioning from plant traits: revisiting the Holy Grail. *Functional ecology* 16, 545–556.

- Lavorel, S., Storkey, J., Bardgett, R.D., de Bello, F., Berg, M.P., Le Roux, X., Moretti, M., Mulder, C., Pakeman, R.J., Díaz, S., Harrington, R., 2013. A novel framework for linking functional diversity of plants with other trophic levels for the quantification of ecosystem services. *Journal of Vegetation Science* 24, 942–948. <https://doi.org/10.1111/jvs.12083>
- Laytner, P., Ling, C., Xiao, Q., 2014. Robust face detection from still images, in: 2014 IEEE Symposium on Computational Intelligence in Biometrics and Identity Management (CIBIM). Presented at the 2014 IEEE Symposium on Computational Intelligence in Biometrics and Identity Management (CIBIM), IEEE, Orlando, FL, USA, pp. 76–80. <https://doi.org/10.1109/CIBIM.2014.7015446>
- Le Provost, G., Gross, N., Börger, L., Deraison, H., Roncoroni, M., Badenhauer, I., 2017. Trait-matching and mass effect determine the functional response of herbivore communities to land-use intensification. *Functional Ecology* 31, 1600–1611. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12849>
- Lê, S., Josse, J., Husson, F., 2008. **FactoMineR** : An R Package for Multivariate Analysis. *Journal of Statistical Software* 25. <https://doi.org/10.18637/jss.v025.i01>
- Lefebvre, V., Fontaine, C., Villemant, C., Daugeron, C., 2014. Are empidine dance flies major flower visitors in alpine environments? A case study in the Alps, France. *Biol. Lett.* 10, 20140742. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2014.0742>
- Leonard, A.S., Dornhaus, A., Papaj, D.R., 2011. Why are floral signals complex? An outline of functional hypotheses, in: Patiny, S. (Ed.), *Evolution of Plant-Pollinator Relationships*. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 279–300. <https://doi.org/10.1017/CBO9781139014113.010>
- Leonard, A.S., Masek, P., 2014. Multisensory integration of colors and scents: insights from bees and flowers. *Journal of Comparative Physiology A* 200, 463–474. <https://doi.org/10.1007/s00359-014-0904-4>
- Lunau, K., Maier, E.J., 1995. Innate colour preferences of flower visitors. *Journal of Comparative Physiology A* 177. <https://doi.org/10.1007/BF00243394>
- Lundgren, R., Totland, Ø., Lázaro, A., 2016. Experimental simulation of pollinator decline causes community-wide reductions in seedling diversity and abundance. *Ecology* 97, 1420–1430.

- Mamdani, E.H., Assilian, S., 1975. An Experiment in Linguistic Synthesis with a Fuzzy Logic Controller. *International journal of man-machine studies* 7, 1–13.
- Mason, N.W.H., de Bello, F., Mouillot, D., Pavoine, S., Dray, S., 2013. A guide for using functional diversity indices to reveal changes in assembly processes along ecological gradients. *Journal of Vegetation Science* 24, 794–806. <https://doi.org/10.1111/jvs.12013>
- Mason, N.W.H., Mouillot, D., Lee, W.G., Wilson, J.B., 2005. Functional richness, functional evenness and functional divergence: the primary components of functional diversity. *Oikos* 111, 7. <https://doi.org/10.1111/j.0030-1299.2005.13886.x>
- Mcgill, B., Enquist, B., Weiher, E., Westoby, M., 2006. Rebuilding community ecology from functional traits. *Trends in Ecology & Evolution* 21, 178–185. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2006.02.002>
- Michaud, A., Plantureux, S., Pottier, E., Farrière, J.-P., Launay, F., Baumont, R., 2011. Une typologie nationale des prairies permanentes : un outil pour caractériser leur potentiel fourrager et leur intérêt environnemental. *Renc. Rech. Ruminants* 18.
- Michener, C.D., 2007. *The bees of the world*, 2nd ed. ed. Johns Hopkins University Press, Baltimore.
- Moretti, M., Dias, A.T.C., de Bello, F., Altermatt, F., Chown, S.L., Azcárate, F.M., Bell, J.R., Fournier, B., Hedde, M., Hortal, J., Ibanez, S., Öckinger, E., Sousa, J.P., Ellers, J., Berg, M.P., 2017. Handbook of protocols for standardized measurement of terrestrial invertebrate functional traits. *Funct Ecol* 31, 558–567. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12776>
- Mouchet, M.A., Villéger, S., Mason, N.W.H., Mouillot, D., 2010. Functional diversity measures: an overview of their redundancy and their ability to discriminate community assembly rules: Functional diversity measures. *Functional Ecology* 24, 867–876. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2010.01695.x>
- Müller, A., Diener, S., Schnyder, S., Stutz, K., Sedivy, C., Dorn, S., 2006. Quantitative pollen requirements of solitary bees: Implications for bee conservation and the evolution of bee–flower relationships. *Biological Conservation* 130, 604–615. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2006.01.023>

- Nakagawa, S., Schielzeth, H., 2013. A general and simple method for obtaining R^2 from generalized linear mixed-effects models. *Methods in Ecology and Evolution* 4, 133–142. <https://doi.org/10.1111/j.2041-210x.2012.00261.x>
- Nichols, R.N., Goulson, D., Holland, J.M., 2019. The best wildflowers for wild bees. *J Insect Conserv.* <https://doi.org/10.1007/s10841-019-00180-8>
- Nicolson, Thornburg, 2007. Nectar chemistry, in: *Nectaries and Nectar*. Springer, pp. 215–264.
- Nieto, A., Roberts, S.P.M., Kemp, J., Rasmont, P., Kuhlmann, M., García Criado, M., Biesmeijer, J.C., Bogusch, P., Dathe, H.H., De la Rúa, P., De Meulemeester, T., Dehon, M., Dewulf, A., Ortiz-Sánchez, F.J., Lhomme, P., Pauly, A., Potts, S.G., Praz, C., Quaranta, M., Radchenko, V.G., Scheuchl, E., Smit, J., Straka, J., Terzo, M., Tomozii, B., Window, J., Michez, D., European Commission, Directorate-General for the Environment, IUCN (International Union for Conservation of Nature), 2014. European red list of bees. Publications Office, Luxembourg.
- Ollerton, J., 2017. Pollinator Diversity: Distribution, Ecological Function, and Conservation. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 48, 353–376. <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-110316-022919>
- Ollerton, J., Winfree, R., Tarrant, S., 2011. How many flowering plants are pollinated by animals? *Oikos* 120, 321–326. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2010.18644.x>
- Orford, K.A., Murray, P.J., Vaughan, I.P., Memmott, J., 2016. Modest enhancements to conventional grassland diversity improve the provision of pollination services. *Journal of Applied Ecology* 53, 906–915. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.12608>
- Osorio-Canadas, S., Arnan, X., Rodrigo, A., Torné-Noguera, A., Molowny, R., Bosch, J., 2016. Body size phenology in a regional bee fauna: a temporal extension of Bergmann’s rule. *Ecology Letters* 19, 1395–1402. <https://doi.org/10.1111/ele.12687>
- Pakeman, R.J., Hewison, R.L., Riach, D., Fisher, J.M., Hurskainen, S., Fielding, D.A., Mitchell, R.J., 2017. Long-term functional structure and functional diversity changes in Scottish grasslands. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 247, 352–362. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2017.06.033>
- Papanikolaou, A.D., Kühn, I., Frenzel, M., Kuhlmann, M., Poschlod, P., Potts, S.G., Roberts, S.P.M.,

- Schweiger, O., 2017. Wild bee and floral diversity co-vary in response to the direct and indirect impacts of land use. *Ecosphere* 8, e02008. <https://doi.org/10.1002/ecs2.2008>
- Pellissier, L., Alvarez, N., Guisan, A., 2012. Pollinators as drivers of plant distribution and assemblage into communities. *Evolution of Plant-Pollinator Relationships. Systematics Association Special Volume Series* 392–413.
- Phillips, B.B., Williams, A., Osborne, J.L., Shaw, R.F., 2018. Shared traits make flies and bees effective pollinators of oilseed rape (*Brassica napus* L.). *Basic and Applied Ecology* 32, 66–76. <https://doi.org/10.1016/j.baae.2018.06.004>
- Pornon, A., Andalo, C., Burrus, M., Escaravage, N., 2017. DNA metabarcoding data unveils invisible pollination networks. *Sci Rep* 7, 16828. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-16785-5>
- Potts, S.G., Biesmeijer, J.C., Kremen, C., Neumann, P., Schweiger, O., Kunin, W.E., 2010. Global pollinator declines: trends, impacts and drivers. *Trends in Ecology & Evolution* 25, 345–353. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2010.01.007>
- Potts, S.G., Vulliamy, B., Dafni, A., Ne’Eman, G., Willmer, P., 2003. LINKING BEES AND FLOWERS: HOW DO FLORAL COMMUNITIES STRUCTURE POLLINATOR COMMUNITIES? 84, 15.
- Potts, S.G., Vulliamy, B., Roberts, S., O’Toole, C., Dafni, A., Ne’eman, G., Willmer, P.G., 2004. Nectar resource diversity organises flower-visitor community structure. *Entomologia experimentalis et applicata* 113, 103–107.
- Potts, S.G., Woodcock, B.A., Roberts, S.P.M., Tscheulin, T., Pilgrim, E.S., Brown, V.K., Tallowin, J.R., 2009. Enhancing pollinator biodiversity in intensive grasslands. *Journal of Applied Ecology* 46, 369–379. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2664.2009.01609.x>
- Poutaraud, A., Michelot-Antalik, A., Plantureux, S., 2017. Grasslands: A Source of Secondary Metabolites for Livestock Health. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 65, 6535–6553. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b00425>
- Praz, C.J., Müller, A., Dorn, S., 2008. Specialized bees fail to develop on non-host pollen: do plants chemically protect their pollen. *Ecology* 89, 795–804. <https://doi.org/10.1890/07-0751.1>
- Pretty, J., 2008. Agricultural sustainability: concepts, principles and evidence. *Phil. Trans. R. Soc. B* 363, 447–465. <https://doi.org/10.1098/rstb.2007.2163>

- Ratnieks, F., Shackleton, K., 2015. Does the waggle dance help honey bees to forage at greater distances than expected for their body size? *Frontiers in Ecology and Evolution* 3, 7.
- Renoult, J.P., Blüthgen, N., Binkenstein, J., Weiner, C.N., Werner, M., Schaefer, H.M., 2015. The relative importance of color signaling for plant generalization in pollination networks. *Oikos* 124, 347–354. <https://doi.org/10.1111/oik.01361>
- Renoult, J.P., Kelber, A., Schaefer, H.M., 2017. Colour spaces in ecology and evolutionary biology: Colour spaces in ecology and evolutionary biology. *Biological Reviews* 92, 292–315. <https://doi.org/10.1111/brv.12230>
- Roger, N., Michez, D., Wattiez, R., Sheridan, C., Vanderplanck, M., 2017. Diet effects on bumblebee health. *Journal of Insect Physiology* 96, 128–133. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2016.11.002>
- Roulston, T.H., Goodell, K., 2011. The Role of Resources and Risks in Regulating Wild Bee Populations. *Annual Review of Entomology* 56, 293–312. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-120709-144802>
- Schleuning, M., Fründ, J., García, D., 2015. Predicting ecosystem functions from biodiversity and mutualistic networks: an extension of trait-based concepts to plant-animal interactions. *Ecography* 38, 380–392. <https://doi.org/10.1111/ecog.00983>
- Schleuter, D., Daufresne, M., Massol, F., Argiliier, C., 2010. A user's guide to functional diversity indices. *Ecology* 80. <https://doi.org/10.1890/08-2225.1>
- Schneider, A., 2015. Les légumineuses pour des systèmes agricoles et alimentaires durables.
- Senapathi, D., Goddard, M.A., Kunin, W.E., Baldock, K.C.R., 2017. Landscape impacts on pollinator communities in temperate systems: evidence and knowledge gaps. *Functional Ecology* 31, 26–37. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12809>
- Shackelford, G., Steward, P.R., Benton, T.G., Kunin, W.E., Potts, S.G., Biesmeijer, J.C., Sait, S.M., 2013. Comparison of pollinators and natural enemies: a meta-analysis of landscape and local effects on abundance and richness in crops: Comparison of pollinators and natural enemies. *Biological Reviews* 88, 1002–1021. <https://doi.org/10.1111/brv.12040>
- Simon, J.-C., Grignani, C., Jacquet, A., Le Corre, L., Pagès, J., 2000. Typologie des bilans d'azote

de divers types d'exploitation agricole: recherche d'indicateurs de fonctionnement. *Agronomie* 20, 175–195. <https://doi.org/10.1051/agro:2000118>

Soons, M.B., Hefting, M.M., Dorland, E., Lamers, L.P.M., Versteeg, C., Bobbink, R., 2017. Nitrogen effects on plant species richness in herbaceous communities are more widespread and stronger than those of phosphorus. *Biological Conservation* 212, 390–397. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2016.12.006>

Spaethe, J., Brockmann, A., Halbig, C., Tautz, J., 2007. Size determines antennal sensitivity and behavioral threshold to odors in bumblebee workers. *Naturwissenschaften* 94, 733–739. <https://doi.org/10.1007/s00114-007-0251-1>

Stang, M., Klinkhamer, P.G.L., 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. <https://doi.org/10.1111/j.0030-1299.2006.14199.x>

Stang, M., Klinkhamer, P.G.L., Waser, N.M., Stang, I., van der Meijden, E., 2009. Size-specific interaction patterns and size matching in a plant–pollinator interaction web. *Annals of Botany* 103, 1459–1469. <https://doi.org/10.1093/aob/mcp027>

Stavert, J.R., Liñán-Cembrano, G., Beggs, J.R., Howlett, B.G., Pattemore, D.E., Bartomeus, I., 2016. Hairiness: the missing link between pollinators and pollination. *PeerJ* 4, e2779. <https://doi.org/10.7717/peerj.2779>

Steffan-Dewenter, I., Münzenberg, U., Bürger, C., Thies, C., Tscharntke, T., 2002. Scale-dependent effects of landscape context on three pollinator guilds. *Ecology* 83, 1421–1432.

Ströbel, B., Schmelzle, S., Blüthgen, N., Heethoff, M., 2018. An automated device for the digitization and 3D modelling of insects, combining extended-depth-of-field and all-side multi-view imaging. *ZooKeys* 759, 1–27. <https://doi.org/10.3897/zookeys.759.24584>

Swenson, N.G., 2014. *Functional and Phylogenetic Ecology in R, Use R!* Springer New York, New York, NY. <https://doi.org/10.1007/978-1-4614-9542-0>

Taugourdeau, S., 2014. Effects of management and climate on the plant functional diversity related to ecosystem services of permanent grasslands in Europe. Université de Lorraine.

Tibi, A., Thérond, O., 2017. Evaluation des services écosystémiques rendus par les écosystèmes

- agricoles. Une contribution au programme EFES. (Synthèse du rapport d'étude). INRA, France.
- Tilman, D., Reich, P.B., Knops, J.M.H., 2006. Biodiversity and ecosystem stability in a decade-long grassland experiment. *Nature* 441, 629–632. <https://doi.org/10.1038/nature04742>
- Uyttenbroeck, R., Piqueray, J., Hatt, S., Mahy, G., Monty, A., 2017. Increasing plant functional diversity is not the key for supporting pollinators in wildflower strips. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 249, 144–155. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2017.08.014>
- van der Kooi, C.J., Dyer, A.G., Kevan, P.G., Lunau, K., 2018. Functional significance of the optical properties of flowers for visual signalling. *Annals of Botany*. <https://doi.org/10.1093/aob/mcy119>
- van Rijn, P.C.J., Kooijman, J., Wäckers, F.L., 2013. The contribution of floral resources and honeydew to the performance of predatory hoverflies (Diptera: Syrphidae). *Biological Control* 67, 32–38. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2013.06.014>
- Vaudo, A.D., Tooker, J.F., Grozinger, C.M., Patch, H.M., 2015. Bee nutrition and floral resource restoration. *Current Opinion in Insect Science* 10, 133–141. <https://doi.org/10.1016/j.cois.2015.05.008>
- Vázquez, D.P., Chacoff, N.P., Cagnolo, L., 2009. Evaluating multiple determinants of the structure of plant–animal mutualistic networks. *Ecology* 90, 2039–2046.
- Vázquez, D.P., Morris, W.F., Jordano, P., 2005. Interaction frequency as a surrogate for the total effect of animal mutualists on plants. *Ecology Letters* 8, 1088–1094.
- Veen, P., Jefferson, R., De Smidt, J., Van den Straaten, J., 2009. Grasslands in Europe of high nature value. KNNV Publishing, the Netherlands.
- Venables, W.N., Ripley, B.D., 2002. *Modern Applied Statistics with S*, Fourth Edition. ed. Springer, New York.
- Venjakob, C., Klein, A.-M., Ebeling, A., Tschardt, T., Scherber, C., 2016. Plant diversity increases spatio-temporal niche complementarity in plant-pollinator interactions. *Ecology and Evolution* 6, 2249–2261. <https://doi.org/10.1002/ece3.2026>
- Villéger, S., Mason, N.W.H., Mouillot, D., 2008. New multidimensional functional diversity

indices for a multifaceted framework in functional ecology. *Ecology* 89, 2290–2301. <https://doi.org/10.1890/07-1206.1>

Violle, C., Navas, M.-L., Vile, D., Kazakou, E., Fortunel, C., Hummel, I., Garnier, E., 2007. Let the concept of trait be functional! *Oikos* 116, 882–892. <https://doi.org/10.1111/j.0030-1299.2007.15559.x>

Weiner, C.N., 2016. Diversity and resource choice of flower-visiting insects in relation to pollen nutritional quality and land use (PhD dissertation). Department of Biology, Technische Universität Darmstadt, Darmstadt, Germany, Darmstadt, Germany.

Weiner, C.N., Hilpert, A., Werner, M., Linsenmair, K.E., Blüthgen, N., 2010. Pollen amino acids and flower specialisation in solitary bees. *Apidologie* 41, 476–487. <https://doi.org/10.1051/apido/2009083>

Weiner, C.N., Werner, M., Linsenmair, K.E., Blüthgen, N., 2014. Land-use impacts on plant–pollinator networks: interaction strength and specialization predict pollinator declines. *Ecology* 95, 466–474.

Weiner, C.N., Werner, M., Linsenmair, K.E., Blüthgen, N., 2011. Land use intensity in grasslands: Changes in biodiversity, species composition and specialisation in flower visitor networks. *Basic and Applied Ecology* 12, 292–299. <https://doi.org/10.1016/j.baae.2010.08.006>

Wester, P., Lunau, K., 2017. Plant–Pollinator Communication, in: *Advances in Botanical Research*. Elsevier, pp. 225–257. <https://doi.org/10.1016/bs.abr.2016.10.004>

Westrich, P., 1996. Habitat requirements of central European bees and the problems of partial habitats. *Linnean Society Symposium Series*, Academic Press Limited 1–16.

Wezel, A., Casagrande, M., Celette, F., Vian, J.-F., Ferrer, A., Peigné, J., 2014. Agroecological practices for sustainable agriculture. A review. *Agron. Sustain. Dev.* 34, 1–20. <https://doi.org/10.1007/s13593-013-0180-7>

Wickham, H., 2016. *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*, Springer-Verlag. New York.

Wilcock, C., Neiland, R., 2002. Pollination failure in plants: why it happens and when it matters. *Trends in Plant Science* 7, 270–277. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(02\)02258-6](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(02)02258-6)

- Willcox, B.K., Aizen, M.A., Cunningham, S.A., Mayfield, M.M., Rader, R., 2017. Deconstructing pollinator community effectiveness. *Current Opinion in Insect Science* 21, 98–104. <https://doi.org/10.1016/j.cois.2017.05.012>
- Wilson, J.B., Peet, R.K., Dengler, J., Pärtel, M., 2012. Plant species richness: the world records. *Journal of Vegetation Science* 23, 796–802. <https://doi.org/10.1111/j.1654-1103.2012.01400.x>
- Wintermantel, D., Odoux, F., Chadœuf, J., Bretagnolle, V., 2019. Organic farming positively affects honeybee colonies in a flower-poor period in agricultural landscapes. *Journal of Applied Ecology* 12.
- Woodcock, T.S., Larson, B.M., Kevan, P.G., Inouye, D.W., Lunau, K., 2014. Flies and flowers II: Floral attractants and rewards. *Journal of Pollination Ecology* 12, 63–94.
- Zulka, K.P., 2014. Species richness in dry grassland patches of eastern Austria: A multi-taxon study on the role of local, landscape and habitat quality variables. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 182, 12. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2013.11.016>
- Zuur, A.F., Ieno, E.N., 2016. A protocol for conducting and presenting results of regression-type analyses. *Methods in Ecology and Evolution* 7, 636–645. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12577>

ANNEXES

Annexe A. Grassland description

Table A.1: Characteristics of the 16 grasslands studied and their soils (g.kg⁻¹ of dry soil): coordinates (latitude, longitude); percentage of semi-natural habitats in a 1000 m buffer around the centroid of each grassland (%SNH); First defoliation event (°C): earliness of the first defoliation event (degree days at the first mowing event during the sampling year, starting from 1 February and with a maximum value of 18°C); Nitrogen fertilisation (kg.ha⁻¹.year⁻¹) during the year of sampling (inorganic and organic fertilisation, animal deposition); Defoliation regime (%): percentage of grass defoliated during the year of sampling by mowing or grazing; Land-use intensity index: see below; Total phosphorus (P₂O₅ with the Olsen-P method), nitrogen (dry combustion), and carbon (dry combustion) contents; Total clay, silt, and sand contents (all obtained from five-fraction texture analysis after decarbonation).

Grassland ID	Longitude	Latitude	%SNH	First defoliation event	Nitrogen fertilization	Defoliation regime	Land-use intensity index	Total phosphorus	Total carbon	Total nitrogen	pH	Total clay	Total silt	Total sand
03	6°56'11.5501" E	48°43'44.0814" N	0.66	1137.15	66.67	273.76	1.00	0.06	39.77	4.06	6.21	269.33	670.33	60.33
12	6°57'41.9476" E	48°39'52.8174" N	0.79	1065.15	100.00	300.00	1.00	0.03	46.90	4.62	7.34	429.00	471.67	37.33
16	7°05'1.5120" E	48°38'31.4088" N	0.81	1817.55	0.00	200.00	0.00	0.05	17.43	1.71	5.85	168.33	535.33	296.33
19	6°56'16.9458" E	48°38'6.2380" N	0.69	1338.75	21.12	176.35	0.23	0.02	58.90	5.48	6.54	483.67	486.67	29.67
20	7°2'15.4457" E	48°40'24.6209" N	0.82	1338.75	78.00	200.00	0.72	0.05	12.80	1.28	6.52	164.67	629.00	206.33
27	7°3'56.0376" E	48°46'6.5597" N	0.76	1374.75	0.00	200.00	0.50	0.04	78.23	7.77	6.90	581.00	369.33	41.67
30	6°56'51.3064" E	48°51'25.1860" N	0.75	1374.75	0.00	200.00	0.50	0.03	51.30	4.77	7.06	475.00	371.33	127.67
40	6°51'32.1674" E	48°48'4.7747" N	0.39	1338.75	43.25	176.52	0.36	0.05	44.80	4.32	6.90	428.33	400.00	149.67
41	6°57'58.6098" E	48°51'22.5810" N	0.32	1695.90	0.00	100.00	0.00	0.01	25.40	2.44	7.08	264.33	583.00	146.33
53	6°51'32.7024" E	48°46'16.3693" N	0.81	1517.15	0.00	200.00	0.16	0.03	63.03	6.37	7.24	666.33	235.67	87.33
56	7°1'29.4802" E	48°50'46.7747" N	0.78	1338.75	0.00	200.00	0.50	0.05	45.17	4.51	6.71	444.00	475.67	62.00
N1	6°55'15.2062" E	48°39'57.0067" N	0.72	1428.10	0.00	200.00	0.37	0.02	38.03	3.70	6.57	243.00	635.67	111.67
N2	6°57'22.2883" E	48°45'7.9319" N	0.49	1173.15	11.50	200.00	0.50	0.03	43.47	4.11	6.68	394.67	565.33	40.00
N3	7°0'24.0847" E	48°44'40.5287" N	0.56	1553.15	0.00	100.00	0.00	0.02	56.77	5.35	7.58	611.00	317.33	32.00
N5	7°1'50.5067" E	48°47'15.4655" N	0.52	1517.15	17.30	200.00	0.16	0.05	39.40	3.93	6.23	358.67	457.00	183.00
T1	6°57'8.0975" E	48°44'12.7028" N	0.66	922.00	98.80	289.16	1.00	0.06	47.73	4.47	6.37	455.67	469.67	74.67

Annexe B. Land-use intensity index

We defined agricultural intensification as a function of three descriptors based on expert knowledge. The first, defoliation regime, was the percentage of grass defoliated during the year of sampling by mowing and grazing. It was calculated using the equation of Gaujour et al. (2013). It ranged from 100-300% (mean = 201.0%; standard deviation (SD) = 54.5%). The second one was nitrogen fertilisation during the year of sampling, which included inorganic and organic fertilisation by farmers and animal deposition. It ranged from 0-100 kg N.ha⁻¹.year⁻¹ (mean = 27.29 kg N.ha⁻¹.year⁻¹; SD = 37.53 kg N.ha⁻¹.year⁻¹). The third one was earliness of the first defoliation event, which corresponded to degree days of the first mowing event during the sampling year. It ranged from 922.0-1817.6°C (mean = 1370.7°C; SD = 227.6°C). Conceptually, the land-use intensity index was a function $y=f(x_1, x_2, x_3)$ that mapped these descriptors to a value that quantified agricultural pressure. Since agricultural intensification itself cannot be measured, this function could not be obtained directly from data. Instead, it was based on human expertise, which had to be captured and formalised. We needed a technique that manages and combines inputs expressed using linguistic classes (e.g. “high”, “medium” or “low”) to produce numerical output.

Fuzzy inference systems (FIS) are artificial intelligence techniques (Mamdani & Assilian, 1975). They map a set of numerical input values to a numerical output value using non-numerical knowledge. Numerical input values are first transformed into linguistic classes represented as fuzzy sets (the “fuzzification” step). Then, a set of if-then rules assigns a linguistic class to the output variable (the inference step) (e.g. “if defoliation regime is low and nitrogen fertilisation is low and earliness of first defoliation event is high then land-use intensification is low”). Finally, the output variable is transformed into a numerical value (the “defuzzification” step). FIS has been used widely to represent and manage expert knowledge in all its aspects, including imprecision (e.g. Coulon-Leroy et al., 2012). We designed an FIS that represents agricultural intensification using FisPro (Guillaume & Charnomordic, 2011).

Fuzzification step: defining fuzzy sets and membership functions

For each input variable x_i and for the output variable y , we defined three fuzzy sets that represent the three classes “low”, “medium”, and “high”; and three membership functions that mapped a numerical value for x_i to membership degrees on the fuzzy sets. This allowed the fuzzification step to be performed: a given numerical value for x_i is transformed into three membership degrees in

the “low”, “medium” and “high” fuzzy sets.

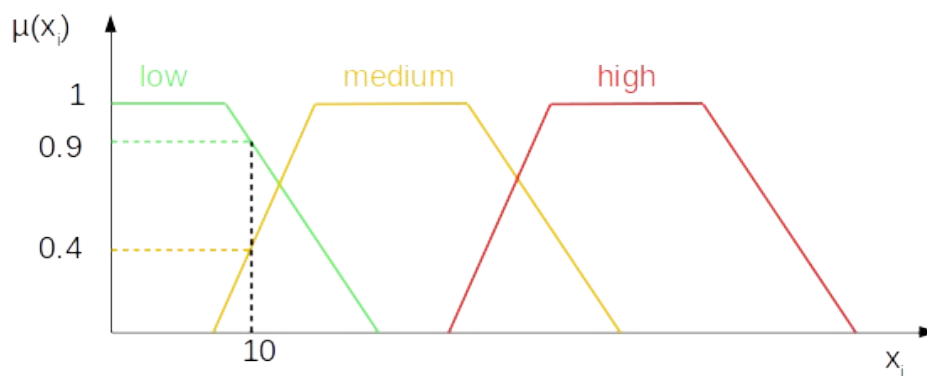


Figure B.1: Fuzzy sets and membership functions for the variable x_i

For example, a numerical value (e.g. 10) can be transformed into three membership degrees: 0.9, 0.4, and 0 in the “low”, “medium” and “high” classes, respectively (**Figure B.1**).

Inference step: defining rules

We formalised expert knowledge using decision rules.

These rules, combined with membership degrees of input variables resulting from the fuzzification step, produced membership degrees of the output variable.

As an example, for two input variables (x_1 and x_2) and three rules (R1-R3), let the fuzzification step produce the following membership degrees: $\mu_{\text{low}}(x_1)=0.8$, $\mu_{\text{medium}}(x_1)=0.8$, $\mu_{\text{high}}(x_1)=0$, $\mu_{\text{low}}(x_2)=0$, $\mu_{\text{medium}}(x_2)=0.9$, $\mu_{\text{high}}(x_2)=0.1$, and let the three rules be:

R1: if x_1 is low and x_2 is low then y is high

R2: if x_1 is low and x_2 is medium then y is high

R3: if x_1 is low and x_2 is high then y is medium

Next, membership degrees for output variable y are inferred from decision rules and membership degrees of input variables (**Figure B.2**). For each rule, the membership degree in the output class is the minimum of the membership degrees for the input classes:

$$\begin{aligned}
R1 \text{ infers } \mu_{\text{high}}(y) &= \min(\mu_{\text{low}}(x_1), \mu_{\text{low}}(x_2)) &= \min(0.8, 0) = 0 \\
R2 \text{ infers } \mu_{\text{high}}(y) &= \min(\mu_{\text{low}}(x_1), \mu_{\text{medium}}(x_2)) &= \min(0.8, 0.9) = 0.8 \\
R3 \text{ infers } \mu_{\text{medium}}(y) &= \min(\mu_{\text{low}}(x_1), \mu_{\text{high}}(x_2)) &= \min(0.8, 0.1) = 0.1
\end{aligned}$$

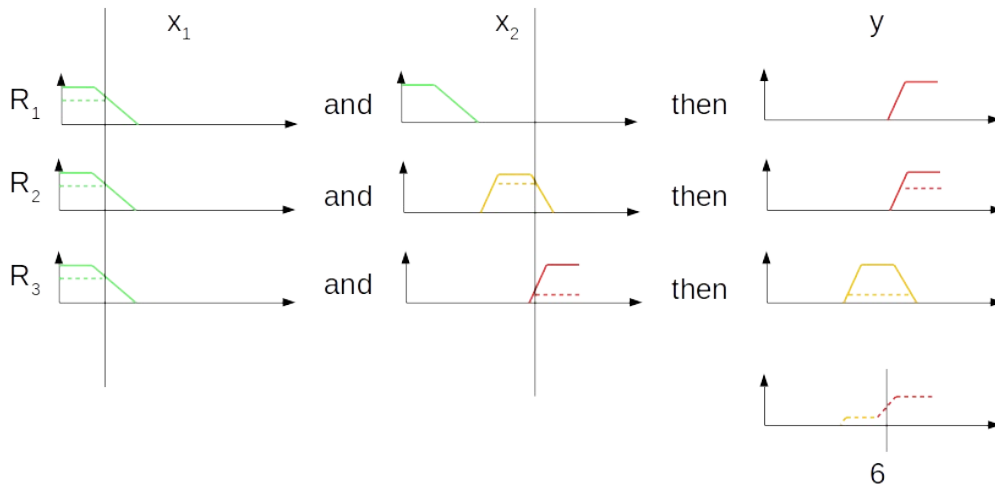


Figure B.2: Inference step of the fuzzy inference system

These results are aggregated by taking the maximum membership degree for each output class:
 $\mu_{\text{low}}(y) = 0$, $\mu_{\text{medium}}(y) = 0.1$, $\mu_{\text{high}}(y) = \max(0, 0.8) = 0.8$

Finally, the defuzzification step converts these membership degrees to a numerical value, here 6, using the centroid-of-area approach (i.e. by calculating the coordinates of the centroid of the area under the dotted curve).

References

- Mamdani, E. H., & Assilian, S. (1975). An experiment in linguistic synthesis with a fuzzy logic controller. *International Journal of Man-Machine studies*, 7(1), 1-13.
- Guillaume, S., & Charnomordic, B. (2011). Learning interpretable fuzzy inference systems with FisPro. *Information Sciences*, 181(20), 4409-4427.
- Coulon-Leroy, C., Charnomordic, B., Rioux, D., Thiolllet-Scholtus, M., & Guillaume, S. (2012). Prediction of vine vigor and precocity using data and knowledge-based fuzzy inference systems. *OENO One*, 46(3), 185-205.

Annexe C. Principal component analysis of soil variables

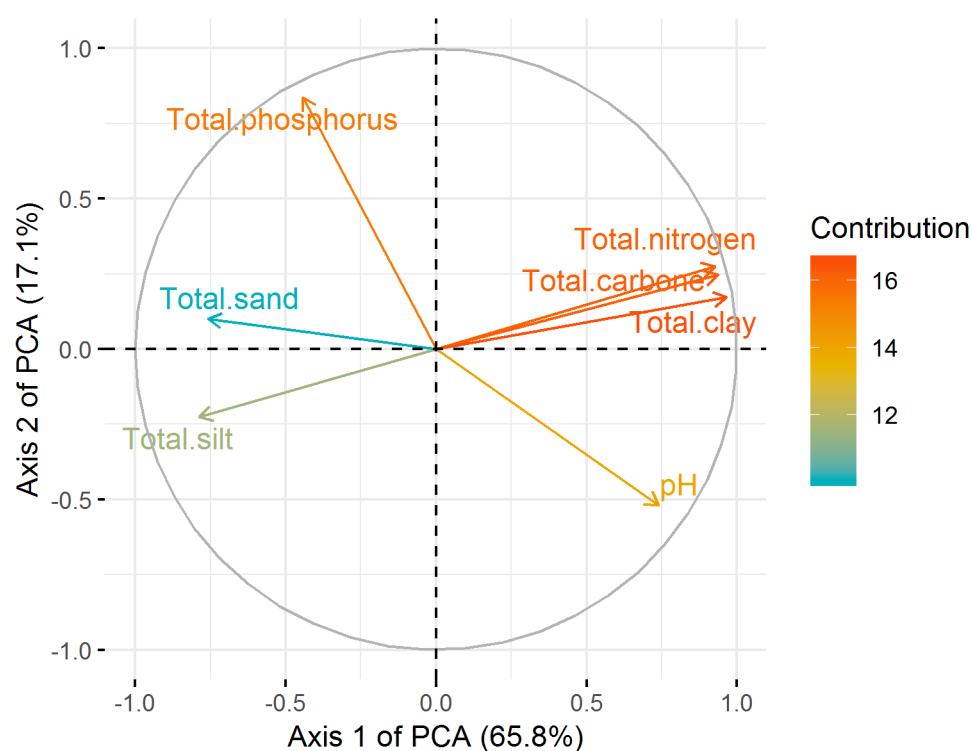


Figure C.1: Factorial plane of the principal component analysis (PCA) of soil variables in **Table A.1**, generated using the FactoExtra package (Kassambara, 2017) of R software. The first axis (explaining 65.8% of the variance) included soil pH, total nitrogen, total carbon and texture (clay, silt and sand contents). The second axis (explaining 17.1% of the variance) and was formed mainly by total phosphorus.

Annexe D. Floral reflectance

We measured reflectance of flowers for 10 individuals per species (except *Veronica chamaedrys* with $N = 4$, *Campanula rapunculus* with $N = 2$, and *Crepis capillaris* with $N = 1$). We measured reflectance of leaves of the most abundant plant species (including Poaceae and Juncaceae, and representing 80% of the total plant cover estimated in three 0.25 m² quadrats per grassland) before the first mowing event of each grassland in order to determine the colour background (Renoult et al., 2015). For these measurements, we sampled flowers and leaves, stored them at 4°C in portable vases we constructed, and then measured their reflectance less than 24 h after sampling (Reverté, Retana, Gómez, & Bosch, 2016), ensuring that flowers were not damaged or withered. We measured reflectance using a fibre-optic spectrometer (AvaSpec 3648; Avantes, Apeldoorn, Netherlands) and a standardised deuterium halogen light source of 300-700 nm (DH-2000; Ocean Optics, Amersham, UK). We measured reflectance at an angle of 90°. Reflectance is the proportion of light reflected every 1 nm by flowers or leaves placed on a black velvet background. The spectrometer was regularly calibrated using a certified white reflectance standard (Spectralon® Wavelength Calibration Standards, Labsphere, New Hampshire, USA). The light source was always placed at the same distance from the organ measured, but without crushing the latter, with the help of a black chamber around the fibre. When petals naturally overlapped each other on a single flower (e.g. *Bellis perennis*), we measured reflectance on a pile of petals to imitate this process.

Next, we calculated colour distance from a background between each pair of plant species by considering pollinator perception, based only on chromatic signal. Using the pavo package (Maia, Eliason, Bitton, Doucet, & Shawkey, 2013) of R software, we averaged floral reflectance spectra by species to obtain a single spectrum per species. When a flower had two main colours (e.g. *Leucanthemum vulgare*), we averaged both colours together. To describe the colour background, we averaged all spectra of all species' vegetative parts into one single background spectrum (Renoult et al., 2015). We then calculated quantum captures at each photoreceptor using photoreceptors of *Apis mellifera* and the average spectrum of vegetation as the background. Finally, we calculated colour distance using the receptor-noise-limited model (Renoult, Kelber, & Schaefer, 2017) for the visual system of *A. mellifera*, based on the sensitivity and density of its photoreceptors (Hempel de Ibarra, Langridge, & Vorobyev, 2015). For Hymenoptera, the visual system is phylogenetically conserved, but for other pollinators, the visual system we used may not

be adequate (Briscoe & Chittka, 2001). However, we were unable to find photoreceptor density for all pollinator orders.

References

Briscoe, A. D., & Chittka, L. (2001). The evolution of color vision in insects. *Annual Review of Entomology*, 46(1), 471–510.

Hempel de Ibarra, N., Langridge, K. V., & Vorobyev, M. (2015). More than colour attraction: behavioural functions of flower patterns. *Current Opinion in Insect Science*, 12, 64–70. doi: 10.1016/j.cois.2015.09.005

Kassambara, A. (2017). *Practical guide to cluster analysis in R: Unsupervised machine learning* (Vol. 1). STHDA.

Maia, R., Eliason, C. M., Bitton, P.-P., Doucet, S. M., & Shawkey, M. D. (2013). pavo : an R package for the analysis, visualization and organization of spectral data. *Methods in Ecology and Evolution*, n/a-n/a. doi: 10.1111/2041-210X.12069

Renoult, J. P., Blüthgen, N., Binkenstein, J., Weiner, C. N., Werner, M., & Schaefer, H. M. (2015). The relative importance of color signaling for plant generalization in pollination networks. *Oikos*, 124(3), 347–354. doi: 10.1111/oik.01361

Renoult, J. P., Kelber, A., & Schaefer, H. M. (2017). Colour spaces in ecology and evolutionary biology: Colour spaces in ecology and evolutionary biology. *Biological Reviews*, 92(1), 292–315. doi: 10.1111/brv.12230

Reverté, S., Retana, J., Gómez, J. M., & Bosch, J. (2016). Pollinators show flower colour preferences but flowers with similar colours do not attract similar pollinators. *Annals of Botany*, 118(2), 249–257. doi: 10.1093/aob/mcw103

van der Kooij, C. J., Dyer, A. G., Kevan, P. G., & Lunau, K. (2018). Functional significance of the optical properties of flowers for visual signalling. *Annals of Botany*. doi: 10.1093/aob/mcy119

Annexe E. Relation between CWM of floral traits and local environment variables

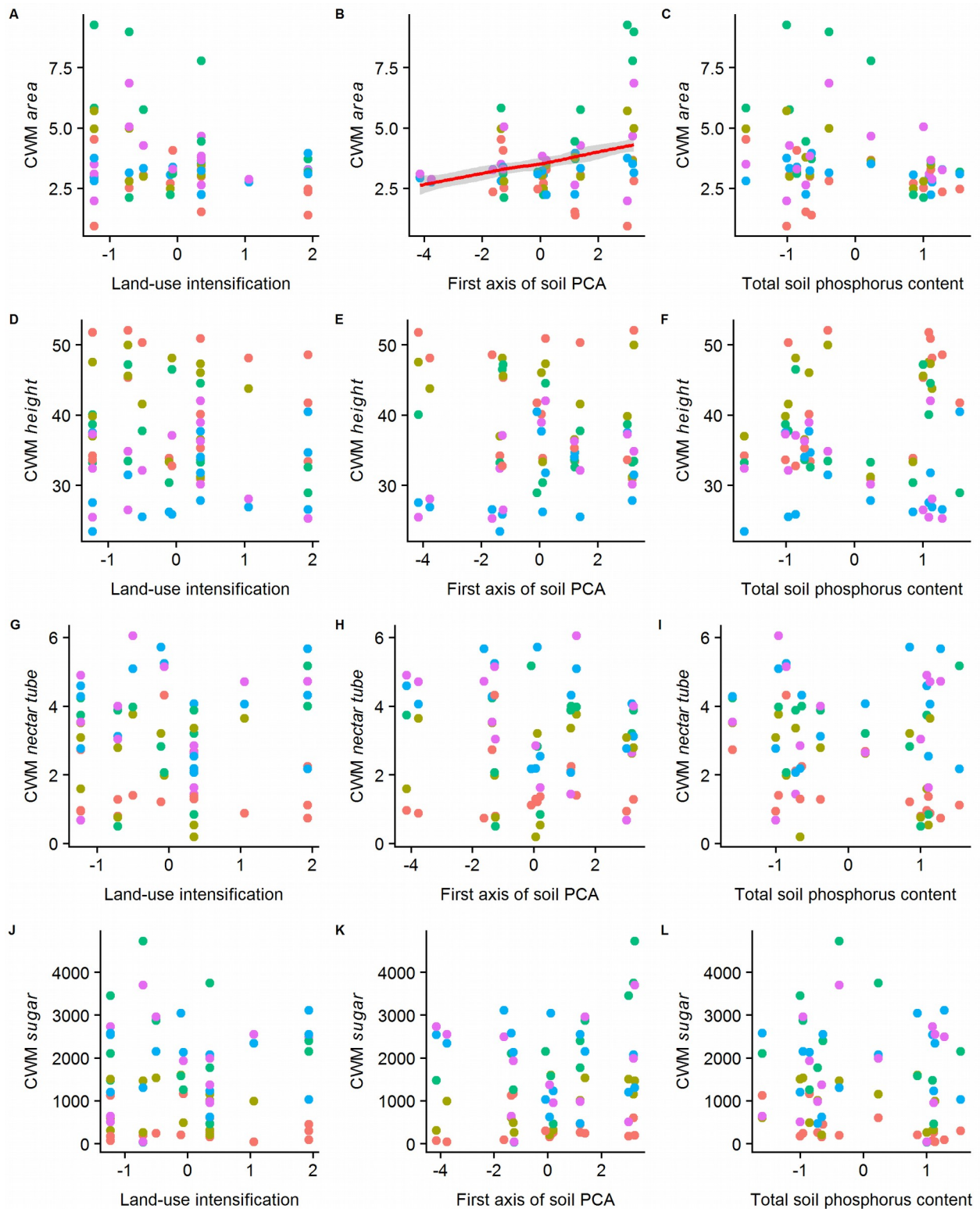


Figure E.1: Predicted fit of linear mixed-effects models of the relation between community-weighted means (CWM) of floral traits and local environment variables (soil characteristics and land-use intensification index). Details of the models are in **Table 1** of the article. Red lines: fitted

values projected on raw data by considering other covariables and random effects of final models. Grey shading around the red line: 95% confidence intervals. The absence of a red line indicates the absence of significant relation between the dependent and explanatory variable. Explanatory variables are standardised. Coloured dots are raw data categorised by sampling session. Pink dots: mid-May; Mustard dots: early June; Green dots: mid-June; Blue dots: early July; Violet dots: early August.

Annexe F. Validation of model quality using simulations

We assessed model quality using simulations by generating model predictions that considered both fixed and random terms. We generated 200 predictions per model, which allowed them to tend toward the theoretical marginal distribution of the model's dependent variable. Finally, we compared the theoretical marginal distribution to the distribution observed in our sample. We inspected model quality visually: if our sample overlapped the model predictions, we assumed a high goodness of fit.

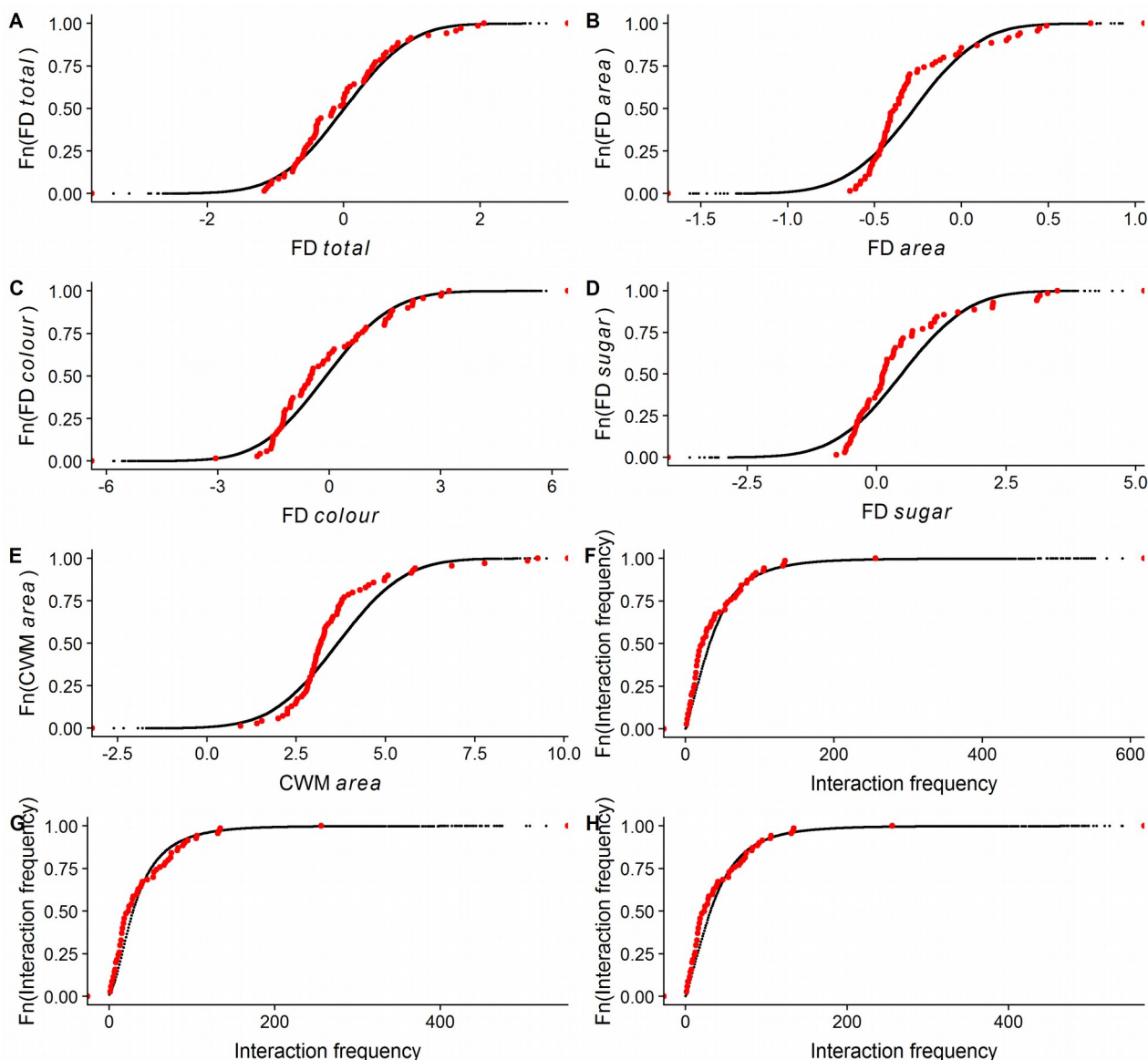


Figure F.1: Theoretical marginal distribution of A) *FDtotal* and B) *FDarea* expressed as a function of the first axis of the soil PCA and total soil phosphorus content; C) *FDcolour* expressed as a function

of total soil phosphorus content; D) *FDsugar* and E) *CWMarea* expressed as a function of the first axis of the soil PCA. Theoretical marginal distribution of interaction frequency expressed as a function of F) *FDtotal* and total flower cover; G) *FDtotal* and flowering species richness; H) *FDsugar* and total flower cover. Red dots show model predictions.

Annexe G. Heteroscedasticity of linear mixed models

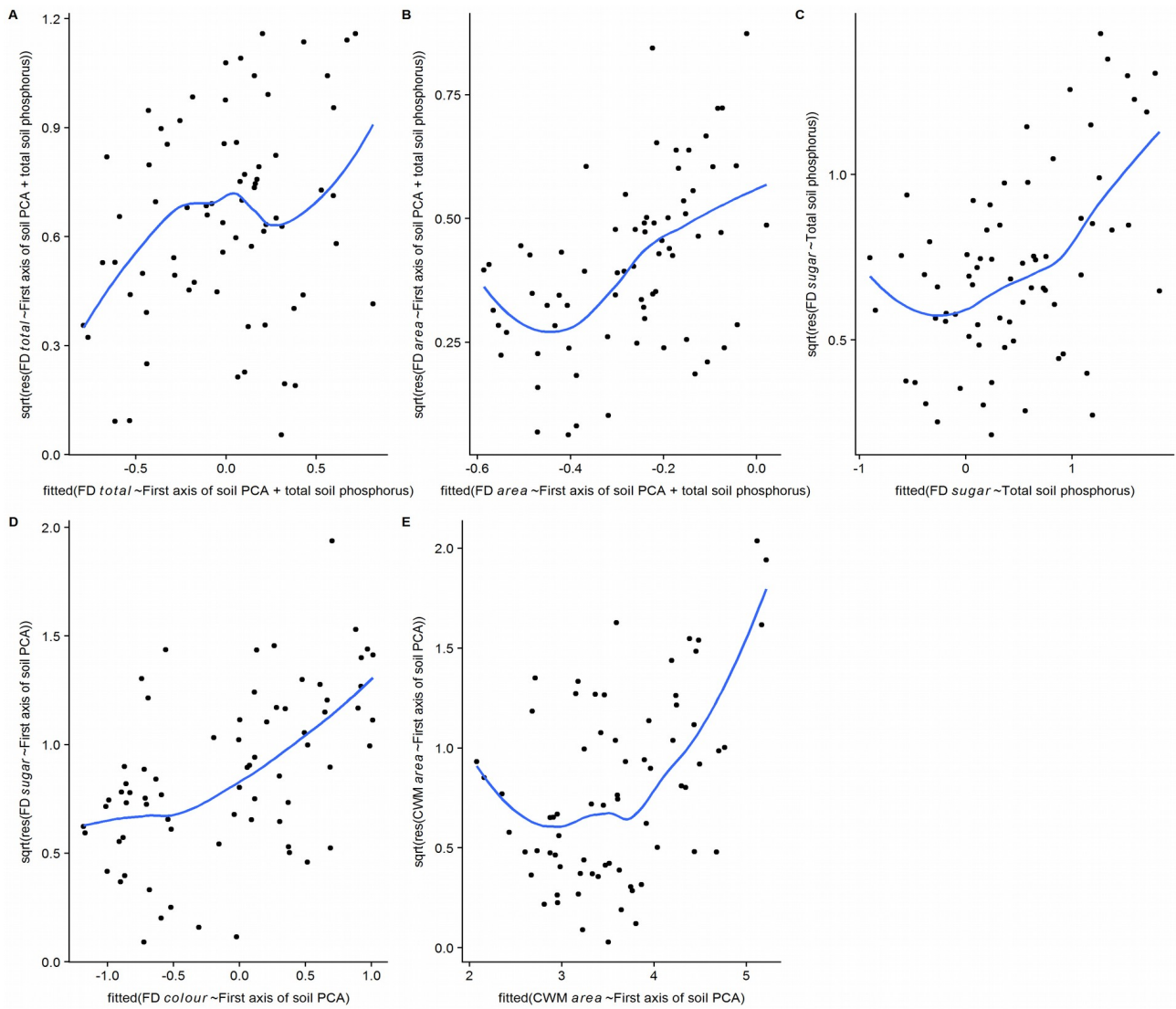


Figure G.1: Scale-location plots of linear mixed models. *FDtotal* and B) *FDarea* expressed as a function of the first axis of the soil PCA and total soil phosphorus content; C) *FDcolour* expressed as a function of total soil phosphorus content; D) *FDsugar* and E) *CWMarea* expressed as a function of the first axis of the soil PCA.

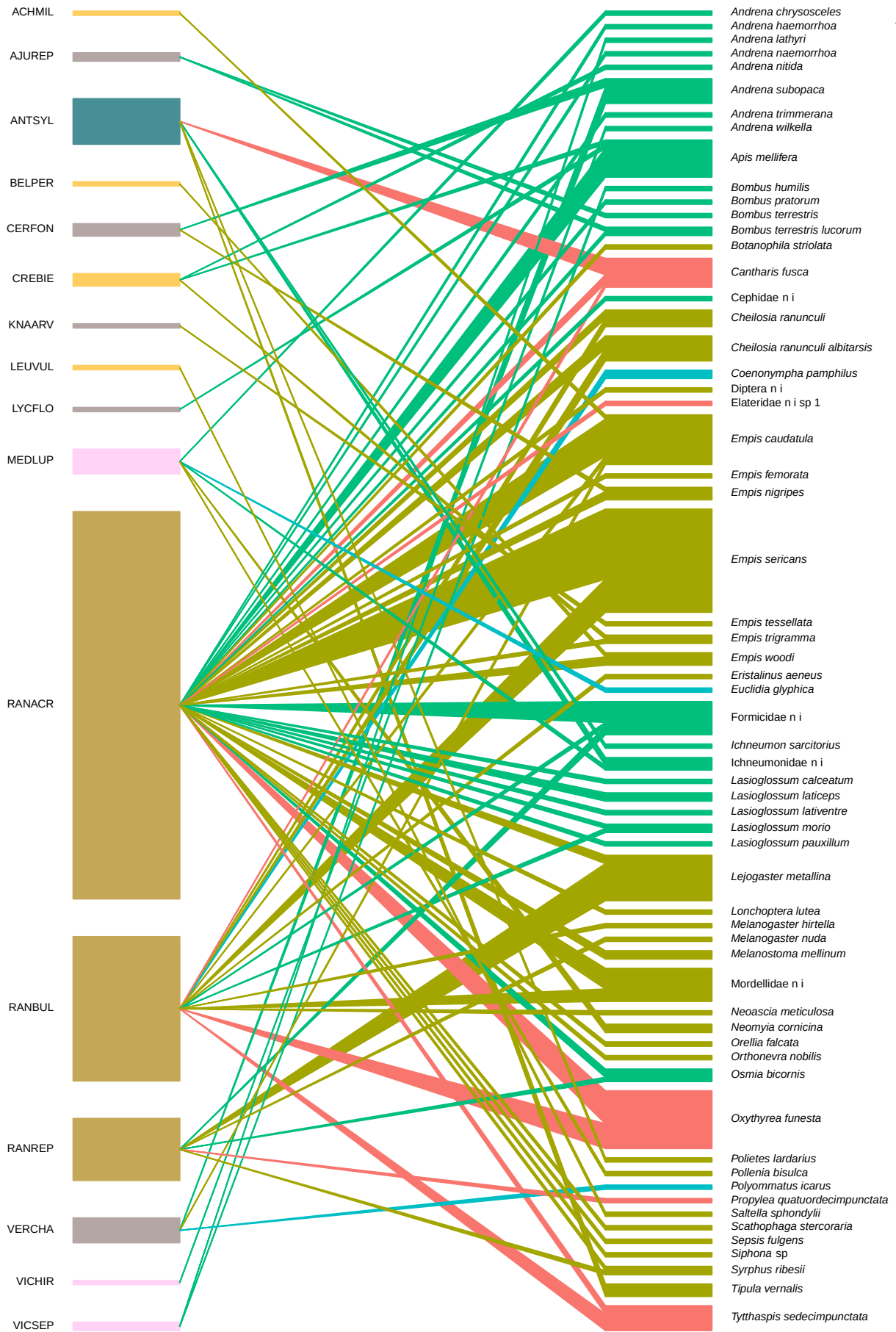
Annexe H. Competition-Stress-Ruderal classification as a function of phosphorus content in the soil

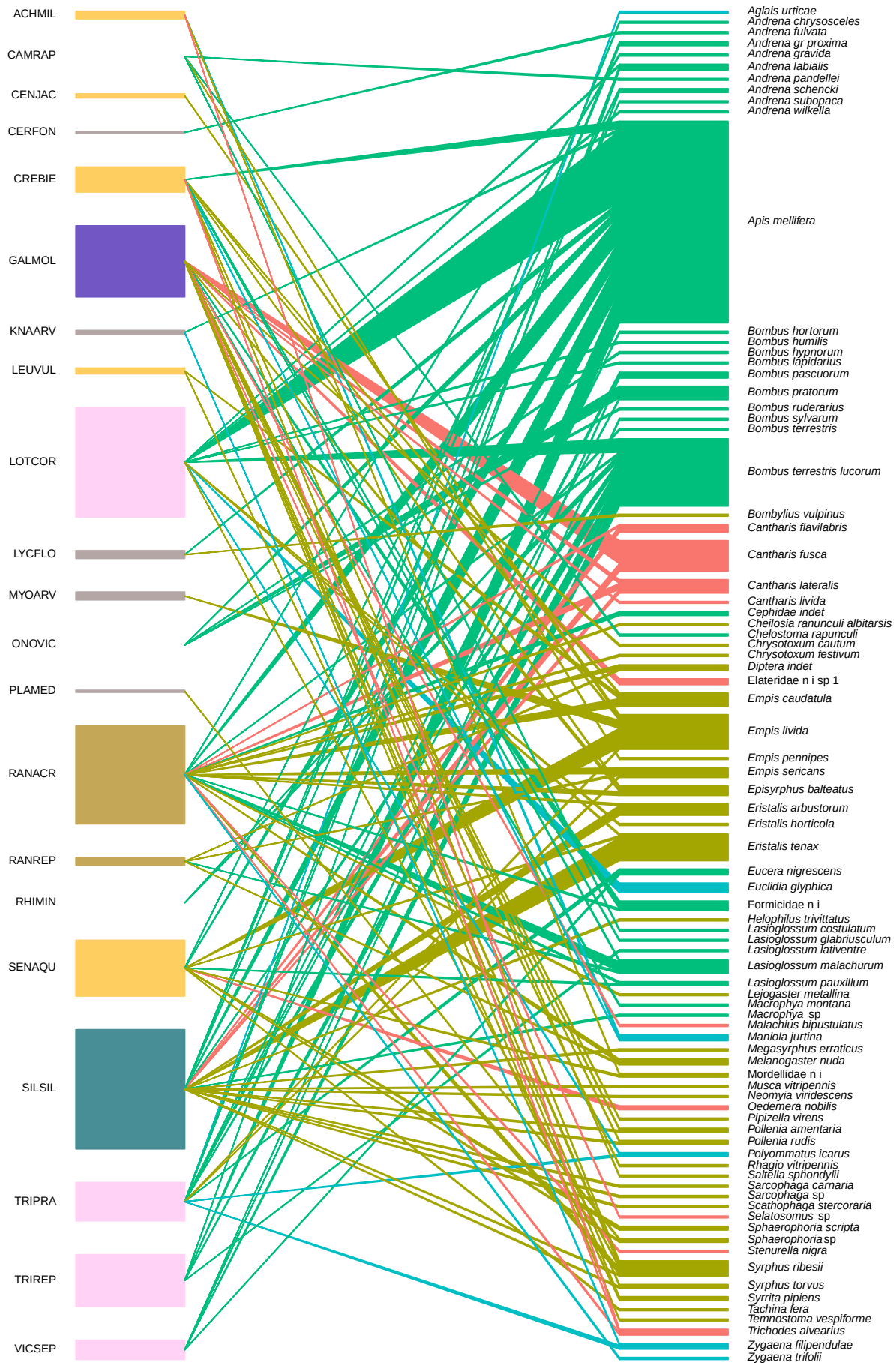


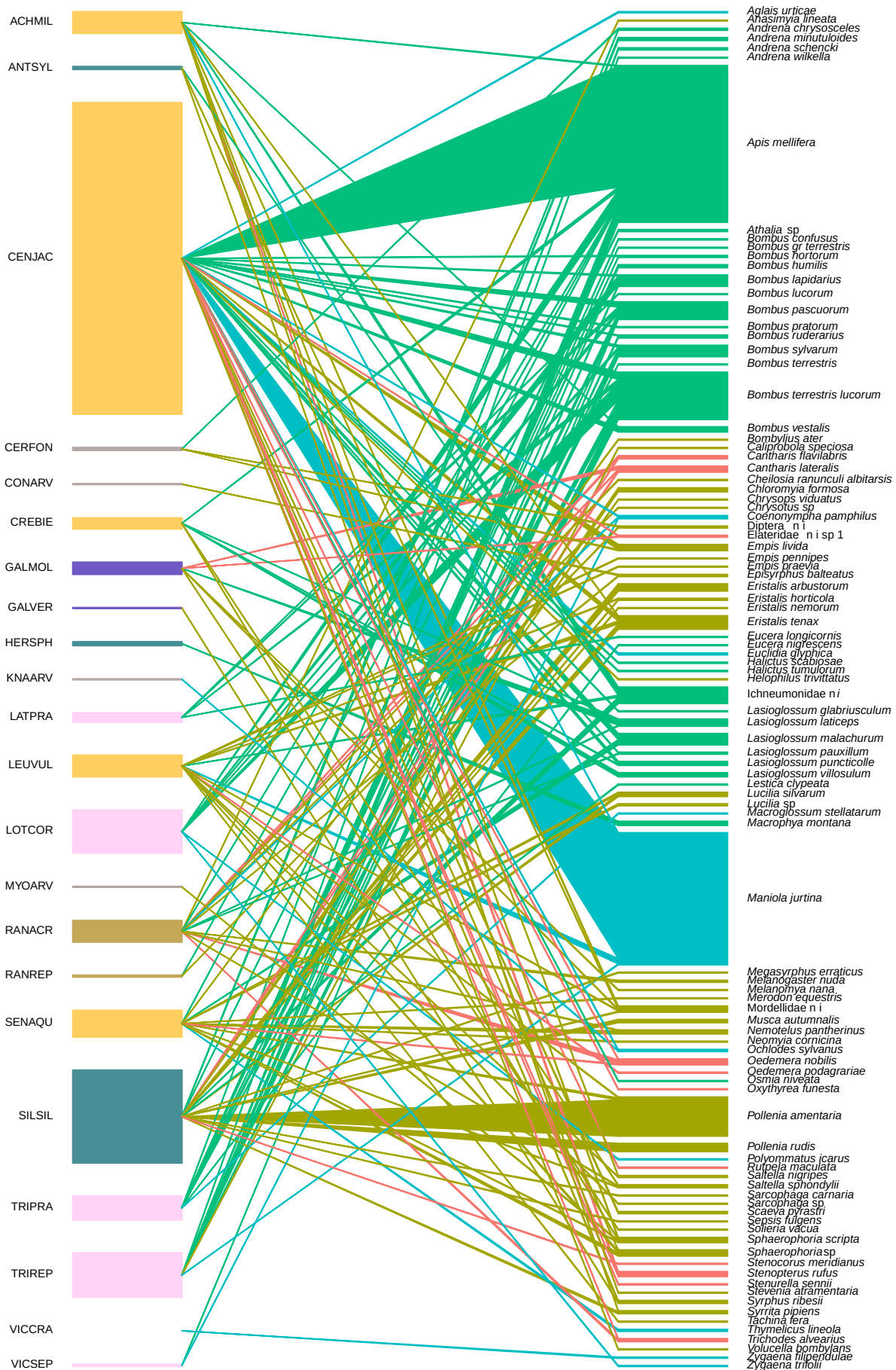
Figure H.1: Number of Competition-Stress-Ruderal (C-S-R) strategies of the most abundant flowering species in each plant community, by total soil phosphorus content. CR: competitive-ruderal, CSR: competitive-stress-tolerant-ruderal, R: ruderal, S: stress-tolerant, SR: stress-tolerant-ruderal. Pink: grasslands with total soil phosphorus content < 0.05 g.kg⁻¹; Blue: grasslands with total soil phosphorus content > 0.05 g.kg⁻¹.

Annexe I: Plots of bipartite networks by sampling session

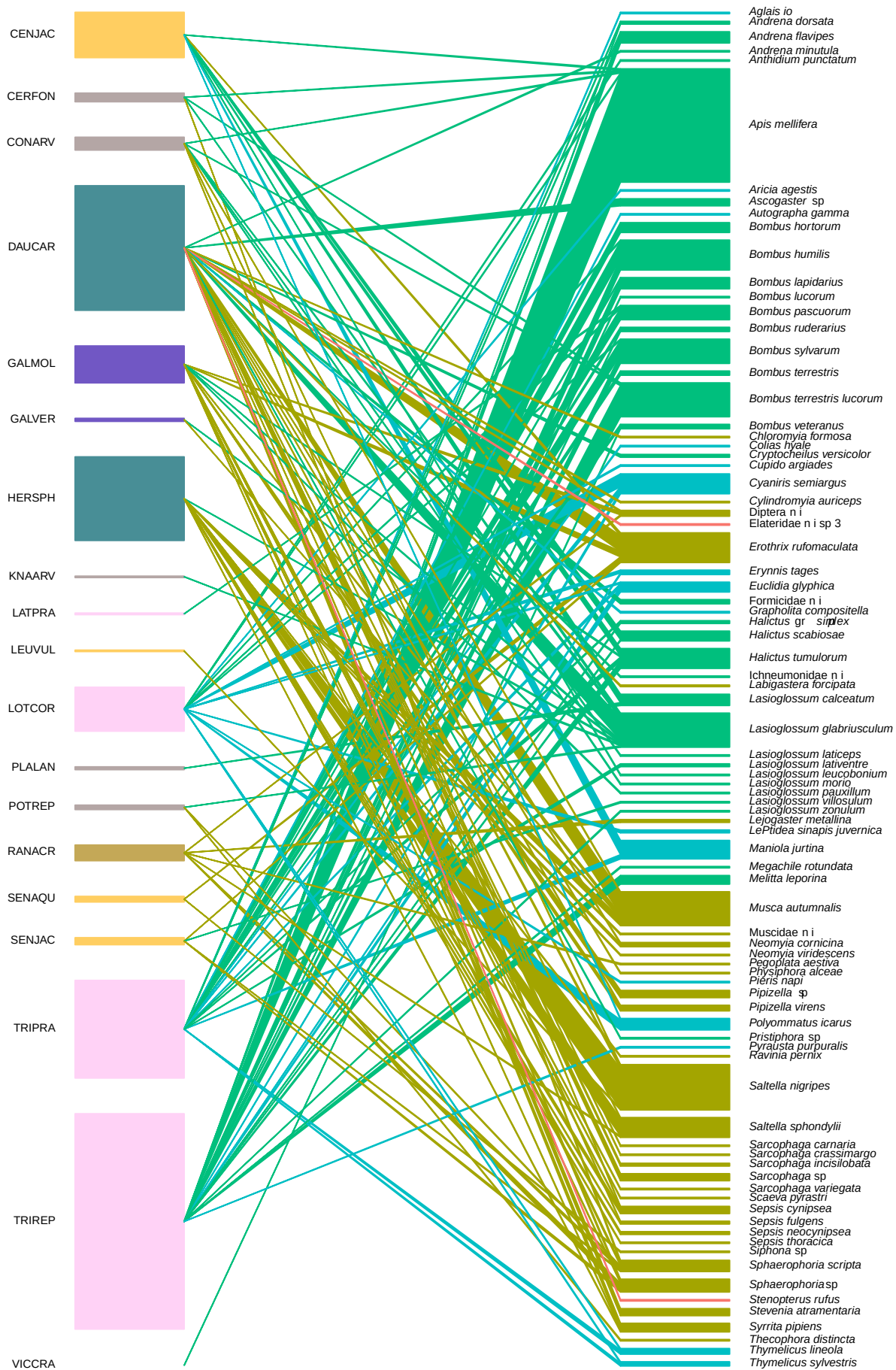
A

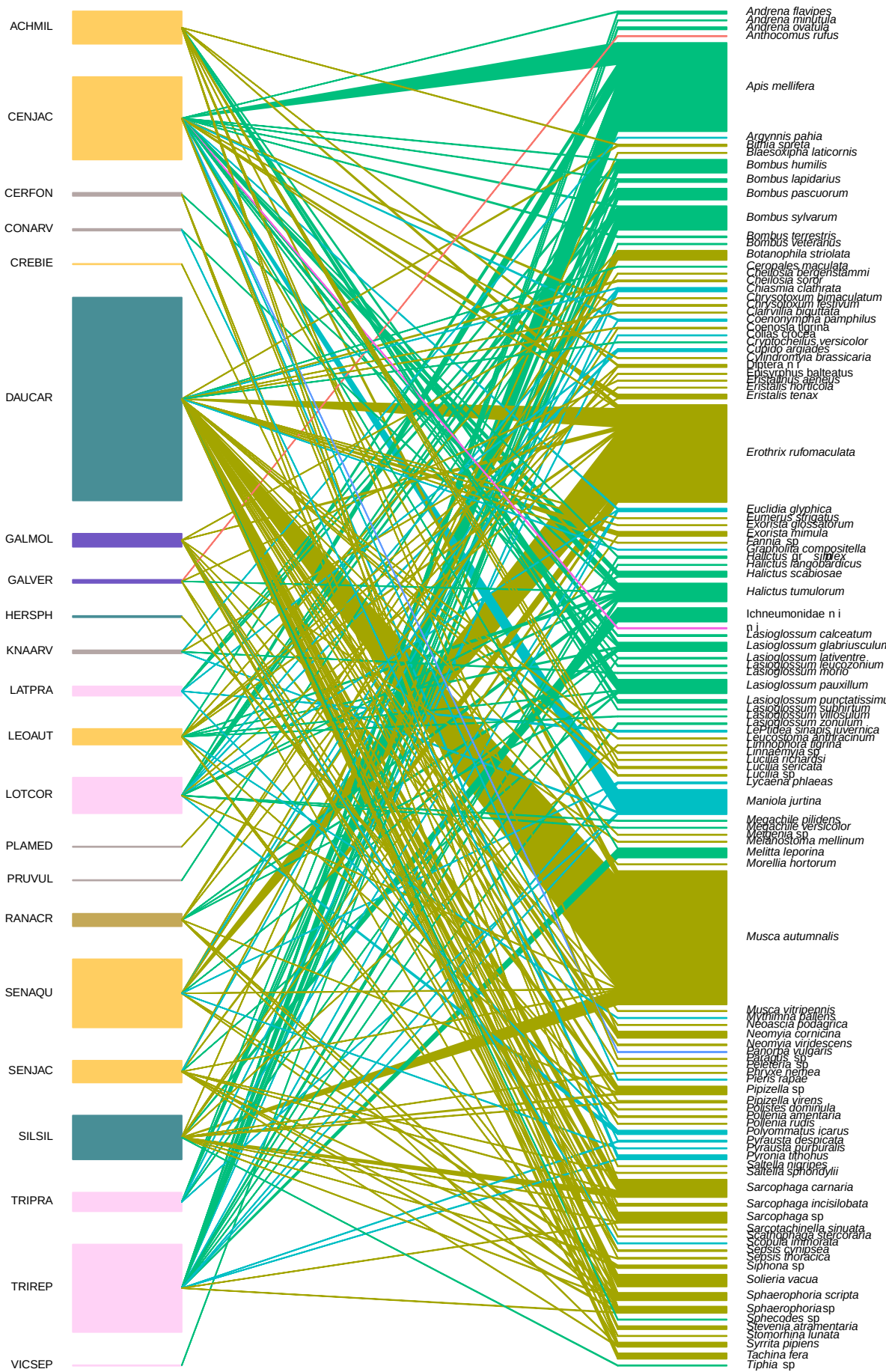






C





E

Figure I.1. Bipartite networks of plant-pollinator interactions sorted by sampling session. A: mid-May; B: early June; C: mid-June; D: early July; E: early August. Five plant families have distinct colours: Dark blue: Apiaceae; Orange: Asteraceae; Pink: Fabaceae; Ranunculaceae: Brown; Rubiaceae: Dark purple. Remaining families are in grey. Plant species are coded as follow: ACHMIL: *Achillea millefolium*; ACHPTA: *Achillea ptarmica*; AJUREP: *Ajuga reptans*; ANTSYL: *Anthriscus sylvestris*; BELPER: *Bellis perennis*; CAMRAP: *Campanula rapunculus*; CENJAC: *Centaurea jacea*; CERFON: *Ceratium fontanum*; CONARV: *Convolvulus arvensis*; CREBIE: *Crepis biennis*; CRECAP: *Crepis capillaris*; DAUCAR: *Daucus carota*; GALAPA: *Galium aparine*; GALMOL: *Galium mollugo*; GALVER: *Galium verum*; HERSPH: *Heracleum sphondylium*; KNAARV: *Knautia arvensis*; LATPRA: *Lathyrus pratensis*; LEOAUT: *Leontodon autumnalis*; LEUVUL: *Leucanthemum vulgare*; LOTCOR: *Lotus corniculatus*; LYCFLO: *Lychnis flos-cuculi*; LYSNUM: *Lysimachia nummularia*; MEDLUP: *Medicago lupulina*; MEDMIN: *Medicago minima*; MYOARV: *Myosotis arvensis*; ONOVIC: *Onobrychis viciifolia*; PLALAN: *Plantago lanceolata*; PLAMED: *Plantago media*; POTREP: *Potentilla reptans*; PRUVUL: *Prunella vulgaris*; RANACR: *Ranunculus acris*; RANBUL: *Ranunculus bulbosus*; RANREP: *Ranunculus repens*; RHIMIN: *Rhinanthus minor*; SANMIN: *Sanguisorba minor*; SENJAC: *Jacobaea vulgaris*; SENAQU: *Jacobaea aquatica*; STEGRA: *Stellaria graminea*; SILSIL: *Silaum silaus*; TRIFRA: *Trifolium fragiferum*; TRIPRA: *Trifolium pratense*; TRIREP: *Trifolium repens*; VERCHA: *Veronica chamaedrys*; VICCRA: *Vicia cracca*; VICHIR: *Vicia hirsuta*; VICSEP: *Vicia sepium*. Pollinator orders are coloured following: Pink: Coleoptera, mustard: Diptera, green: Hymenoptera, pale blue: indet., blue: Lepidoptera, purple: Mecoptera. n.i. : not identified.

Annexe J: List of pollinator species for which body mass has been measured

Table J.1: List of all 247 pollinator species sampled and their frequency in the dataset. n.i.: not identified

Order	Family	Genus	Species	Frequency
Coleoptera	Cantharidae	<i>Cantharis</i>	<i>Cantharis flavilabris</i>	7
Coleoptera	Cantharidae	<i>Cantharis</i>	<i>Cantharis fusca</i>	23
Coleoptera	Cantharidae	<i>Cantharis</i>	<i>Cantharis lateralis</i>	13
Coleoptera	Cantharidae	<i>Cantharis</i>	<i>Cantharis livida</i>	1
Coleoptera	Cerambycidae	<i>Rutpela</i>	<i>Rutpela maculata</i>	1
Coleoptera	Cerambycidae	<i>Stenocorus</i>	<i>Stenocorus meridianus</i>	1
Coleoptera	Cerambycidae	<i>Stenopterus</i>	<i>Stenopterus rufus</i>	6
Coleoptera	Cerambycidae	<i>Stenurella</i>	<i>Stenurella nigra</i>	1
Coleoptera	Cerambycidae	<i>Stenurella</i>	<i>Stenurella sennii</i>	1
Coleoptera	Cetoniidae	<i>Oxythyrea</i>	<i>Oxythyrea funesta</i>	15
Coleoptera	Cleridae	<i>Trichodes</i>	<i>Trichodes alvearius</i>	6
Coleoptera	Coccinellidae	<i>Propylea</i>	<i>Propylea quatuordecimpunctata</i>	1
Coleoptera	Coccinellidae	<i>Tytthaspis</i>	<i>Tytthaspis sedecimpunctata</i>	6
Coleoptera	Elateridae	<i>Elateridae</i>	<i>Elateridae</i> n.i. sp. 1	6
Coleoptera	Elateridae	<i>Elateridae</i>	<i>Elateridae</i> n.i. sp. 3	1
Coleoptera	Elateridae	<i>Selatosomus</i>	<i>Selatosomus</i> sp.	1
Coleoptera	Malachidae	<i>Anthocomus</i>	<i>Anthocomus rufus</i>	1
Coleoptera	Melyridae	<i>Malachius</i>	<i>Malachius bipustulatus</i>	1
Coleoptera	Oedemeridae	<i>Oedemera</i>	<i>Oedemera nobilis</i>	8
Coleoptera	Oedemeridae	<i>Oedemera</i>	<i>Oedemera podagrariae</i>	1
Diptera	Anthomyiidae	<i>Botanophila</i>	<i>Botanophila striolata</i>	16
Diptera	Anthomyiidae	<i>Pegoplata</i>	<i>Pegoplata aestiva</i>	1
Diptera	Bombyliidae	<i>Bombylius</i>	<i>Bombylius ater</i>	1
Diptera	Bombyliidae	<i>Bombylius</i>	<i>Bombylius vulpinus</i>	1
Diptera	Calliphoridae	<i>Lucilia</i>	<i>Lucilia richardsi</i>	1
Diptera	Calliphoridae	<i>Lucilia</i>	<i>Lucilia sericata</i>	3
Diptera	Calliphoridae	<i>Lucilia</i>	<i>Lucilia silvarum</i>	4
Diptera	Calliphoridae	<i>Lucilia</i>	<i>Lucilia</i> sp.	4
Diptera	Calliphoridae	<i>Melanomya</i>	<i>Melanomya nana</i>	1
Diptera	Calliphoridae	<i>Pollenia</i>	<i>Pollenia amentaria</i>	42
Diptera	Calliphoridae	<i>Pollenia</i>	<i>Pollenia bisulca</i>	1
Diptera	Calliphoridae	<i>Pollenia</i>	<i>Pollenia rudis</i>	11
Diptera	Conopidae	<i>Thecophora</i>	<i>Thecophora distincta</i>	1
Diptera	Diptera	Diptera	Diptera n.i.	14
Diptera	Dolichopodidae	<i>Chrysotus</i>	<i>Chrysotus</i> sp.	1
Diptera	Drosophilidae	<i>Melanogaster</i>	<i>Melanogaster hirtella</i>	1
Diptera	Drosophilidae	<i>Melanogaster</i>	<i>Melanogaster nuda</i>	6
Diptera	Empididae	<i>Empis</i>	<i>Empis caudatula</i>	19
Diptera	Empididae	<i>Empis</i>	<i>Empis femorata</i>	1
Diptera	Empididae	<i>Empis</i>	<i>Empis livida</i>	24
Diptera	Empididae	<i>Empis</i>	<i>Empis nigripes</i>	3
Diptera	Empididae	<i>Empis</i>	<i>Empis pennipes</i> gr.	1
Diptera	Empididae	<i>Empis</i>	<i>Empis pennipes</i>	1
Diptera	Empididae	<i>Empis</i>	<i>Empis praevia</i>	1
Diptera	Empididae	<i>Empis</i>	<i>Empis sericans</i>	30
Diptera	Empididae	<i>Empis</i>	<i>Empis tessellata</i>	1
Diptera	Empididae	<i>Empis</i>	<i>Empis trigramma</i>	2
Diptera	Empididae	<i>Empis</i>	<i>Empis woodi</i>	3
Diptera	Fanniidae	<i>Fannia</i>	<i>Fannia</i> sp.	1
Diptera	Lonchopteridae	<i>Lonchoptera</i>	<i>Lonchoptera lutea</i>	1
Diptera	Mordellidae	<i>Mordellidae</i>	<i>Mordellidae</i> n.i.	16
Diptera	Muscidae	<i>Coenosia</i>	<i>Coenosia tigrina</i>	2

Diptera	Muscidae	<i>Limnophora</i>	<i>Limnophora tigrina</i>	1
Diptera	Muscidae	<i>Morellia</i>	<i>Morellia hortorum</i>	1
Diptera	Muscidae	<i>Musca</i>	<i>Musca autumnalis</i>	240
Diptera	Muscidae	<i>Musca</i>	<i>Musca vitripennis</i>	2
Diptera	Muscidae	<i>Muscidae</i>	<i>Muscidae</i> n.i.	1
Diptera	Muscidae	<i>Neomyia</i>	<i>Neomyia cornicina</i>	16
Diptera	Muscidae	<i>Neomyia</i>	<i>Neomyia viridescens</i>	4
Diptera	Muscidae	<i>Polietes</i>	<i>Polietes lardarius</i>	1
Diptera	Muscidae	<i>Polistes</i>	<i>Polistes dominula</i>	1
Diptera	Ragionidae	<i>Rhagio</i>	<i>Rhagio vitripennis</i>	1
Diptera	Rhiniidae	<i>Stomorphina</i>	<i>Stomorphina lunata</i>	1
Diptera	Rhinophoridae	<i>Stevenia</i>	<i>Stevenia atramentaria</i>	11
Diptera	Sarcophagidae	<i>Blaesoxipha</i>	<i>Blaesoxipha laticornis</i>	1
Diptera	Sarcophagidae	<i>Ravinia</i>	<i>Ravinia pernix</i>	1
Diptera	Sarcophagidae	<i>Sarcophaga</i>	<i>Sarcophaga carnaria</i>	31
Diptera	Sarcophagidae	<i>Sarcophaga</i>	<i>Sarcophaga crassimargo</i>	1
Diptera	Sarcophagidae	<i>Sarcophaga</i>	<i>Sarcophaga incisilobata</i>	6
Diptera	Sarcophagidae	<i>Sarcophaga</i>	<i>Sarcophaga</i> sp.	24
Diptera	Sarcophagidae	<i>Sarcophaga</i>	<i>Sarcophaga variegata</i>	1
Diptera	Sarcophagidae	<i>Sarcotachinella</i>	<i>Sarcotachinella sinuata</i>	1
Diptera	Scatophagidae	<i>Scathophaga</i>	<i>Scathophaga stercoraria</i>	3
Diptera	Sepsidae	<i>Saltella</i>	<i>Saltella nigripes</i>	35
Diptera	Sepsidae	<i>Saltella</i>	<i>Saltella sphondylii</i>	20
Diptera	Sepsidae	<i>Sepsis</i>	<i>Sepsis cynipsea</i>	7
Diptera	Sepsidae	<i>Sepsis</i>	<i>Sepsis fulgens</i>	4
Diptera	Sepsidae	<i>Sepsis</i>	<i>Sepsis neocynipsea</i>	2
Diptera	Sepsidae	<i>Sepsis</i>	<i>Sepsis thoracica</i>	3
Diptera	Stratiomyidae	<i>Chloromyia</i>	<i>Chloromyia formosa</i>	5
Diptera	Stratiomyidae	<i>Nemotelus</i>	<i>Nemotelus pantherinus</i>	4
Diptera	Syrphidae	<i>Anasimyia</i>	<i>Anasimyia lineata</i>	1
Diptera	Syrphidae	<i>Caliprobola</i>	<i>Caliprobola speciosa</i>	1
Diptera	Syrphidae	<i>Cheilosia</i>	<i>Cheilosia bergenstammi</i>	1
Diptera	Syrphidae	<i>Cheilosia</i>	<i>Cheilosia ranunculi</i>	4
Diptera	Syrphidae	<i>Cheilosia</i>	<i>Cheilosia ranunculi/albitarsis</i>	8
Diptera	Syrphidae	<i>Cheilosia</i>	<i>Cheilosia soror</i>	2
Diptera	Syrphidae	<i>Chrysotoxum</i>	<i>Chrysotoxum bimaculatum</i>	1
Diptera	Syrphidae	<i>Chrysotoxum</i>	<i>Chrysotoxum cautum</i>	1
Diptera	Syrphidae	<i>Chrysotoxum</i>	<i>Chrysotoxum festivum</i>	3
Diptera	Syrphidae	<i>Episyrphus</i>	<i>Episyrphus balteatus</i>	8
Diptera	Syrphidae	<i>Eristalinus</i>	<i>Eristalinus aeneus</i>	2
Diptera	Syrphidae	<i>Eristalis</i>	<i>Eristalis arbustorum</i>	13
Diptera	Syrphidae	<i>Eristalis</i>	<i>Eristalis horticola</i>	4
Diptera	Syrphidae	<i>Eristalis</i>	<i>Eristalis nemorum</i>	1
Diptera	Syrphidae	<i>Eristalis</i>	<i>Eristalis tenax</i>	34
Diptera	Syrphidae	<i>Eumerus</i>	<i>Eumerus strigatus</i>	1
Diptera	Syrphidae	<i>Helophilus</i>	<i>Helophilus trivittatus</i>	2
Diptera	Syrphidae	<i>Lejogaster</i>	<i>Lejogaster metallina</i>	14
Diptera	Syrphidae	<i>Megasyrphus</i>	<i>Megasyrphus erraticus</i>	2
Diptera	Syrphidae	<i>Melanostoma</i>	<i>Melanostoma mellinum</i>	3
Diptera	Syrphidae	<i>Merodon</i>	<i>Merodon equestris</i>	1
Diptera	Syrphidae	<i>Neoascia</i>	<i>Neoascia meticulosa</i>	1
Diptera	Syrphidae	<i>Neoascia</i>	<i>Neoascia podagrica</i>	1
Diptera	Syrphidae	<i>Orthonevra</i>	<i>Orthonevra nobilis</i>	1

Diptera	Syrphidae	<i>Paragus</i>	<i>Paragus</i> sp.	1
Diptera	Syrphidae	<i>Pipizella</i>	<i>Pipizella</i> sp.	18
Diptera	Syrphidae	<i>Pipizella</i>	<i>Pipizella virens</i>	8
Diptera	Syrphidae	<i>Scaeva</i>	<i>Scaeva pyrastris</i>	3
Diptera	Syrphidae	<i>Sphaerophoria</i>	<i>Sphaerophoria scripta</i>	27
Diptera	Syrphidae	<i>Sphaerophoria</i>	<i>Sphaerophoria</i> sp.	27
Diptera	Syrphidae	<i>Syrphus</i>	<i>Syrphus ribesii</i>	13
Diptera	Syrphidae	<i>Syrphus</i>	<i>Syrphus torvus</i>	2
Diptera	Syrphidae	<i>Syrrita</i>	<i>Syrrita pipiens</i>	18
Diptera	Syrphidae	<i>Temnostoma</i>	<i>Temnostoma vespiforme</i>	1
Diptera	Syrphidae	<i>Volucella</i>	<i>Volucella bombylans</i>	1
Diptera	Tabanidae	<i>Chrysops</i>	<i>Chrysops viduatus</i>	1
Diptera	Tachinidae	<i>Bithia</i>	<i>Bithia spreta</i>	3
Diptera	Tachinidae	<i>Clairvillia</i>	<i>Clairvillia biguttata</i>	1
Diptera	Tachinidae	<i>Cylindromyia</i>	<i>Cylindromyia auriceps</i>	1
Diptera	Tachinidae	<i>Cylindromyia</i>	<i>Cylindromyia brassicaria</i>	1
Diptera	Tachinidae	<i>Erothrix</i>	<i>Erothrix rufomaculata</i>	176
Diptera	Tachinidae	<i>Exorista</i>	<i>Exorista glossatorum</i>	1
Diptera	Tachinidae	<i>Exorista</i>	<i>Exorista mimula</i>	7
Diptera	Tachinidae	<i>Labigastera</i>	<i>Labigastera forcipata</i>	1
Diptera	Tachinidae	<i>Leucostoma</i>	<i>Leucostoma anthracinum</i>	1
Diptera	Tachinidae	<i>Linnaemyia</i>	<i>Linnaemyia</i> sp.	2
Diptera	Tachinidae	<i>Meigenia</i>	<i>Meigenia</i> sp.	1
Diptera	Tachinidae	<i>Peleteria</i>	<i>Peleteria</i> sp.	1
Diptera	Tachinidae	<i>Phryxe</i>	<i>Phryxe nemea</i>	1
Diptera	Tachinidae	<i>Siphona</i>	<i>Siphona</i> sp.	7
Diptera	Tachinidae	<i>Solieria</i>	<i>Solieria vacua</i>	20
Diptera	Tachinidae	<i>Tachina</i>	<i>Tachina fera</i>	11
Diptera	Tephritidae	<i>Orellia</i>	<i>Orellia falcata</i>	1
Diptera	Tipulidae	<i>Tipula</i>	<i>Tipula vernalis</i>	3
Diptera	Ulidiidae	<i>Physiphora</i>	<i>Physiphora alceae</i>	1
Hymenoptera	Andrenidae	<i>Andrena</i>	<i>Andrena chrysosceles</i>	4
Hymenoptera	Andrenidae	<i>Andrena</i>	<i>Andrena dorsata</i>	2
Hymenoptera	Andrenidae	<i>Andrena</i>	<i>Andrena flavipes</i>	12
Hymenoptera	Andrenidae	<i>Andrena</i>	<i>Andrena fulvata</i>	1
Hymenoptera	Andrenidae	<i>Andrena</i>	<i>Andrena gr. proxima</i>	2
Hymenoptera	Andrenidae	<i>Andrena</i>	<i>Andrena gravida</i>	1
Hymenoptera	Andrenidae	<i>Andrena</i>	<i>Andrena haemorrhoea</i>	1
Hymenoptera	Andrenidae	<i>Andrena</i>	<i>Andrena labialis</i>	3
Hymenoptera	Andrenidae	<i>Andrena</i>	<i>Andrena lathyri</i>	1
Hymenoptera	Andrenidae	<i>Andrena</i>	<i>Andrena minutula</i>	2
Hymenoptera	Andrenidae	<i>Andrena</i>	<i>Andrena minutuloides</i>	3
Hymenoptera	Andrenidae	<i>Andrena</i>	<i>Andrena naemorrhoea</i>	1
Hymenoptera	Andrenidae	<i>Andrena</i>	<i>Andrena nitida</i>	1
Hymenoptera	Andrenidae	<i>Andrena</i>	<i>Andrena ovatula</i>	4
Hymenoptera	Andrenidae	<i>Andrena</i>	<i>Andrena pandellei</i>	1
Hymenoptera	Andrenidae	<i>Andrena</i>	<i>Andrena schencki</i>	4
Hymenoptera	Andrenidae	<i>Andrena</i>	<i>Andrena subopaca</i>	7
Hymenoptera	Andrenidae	<i>Andrena</i>	<i>Andrena trimmerana</i>	1
Hymenoptera	Andrenidae	<i>Andrena</i>	<i>Andrena wilkella</i>	3
Hymenoptera	Apidae	<i>Apis</i>	<i>Apis mellifera</i>	487
Hymenoptera	Apidae	<i>Bombus</i>	<i>Bombus confusus</i>	1
Hymenoptera	Apidae	<i>Bombus</i>	<i>Bombus gr terrestris</i>	1

Hymenoptera	Apidae	<i>Bombus</i>	<i>Bombus hortorum</i>	10
Hymenoptera	Apidae	<i>Bombus</i>	<i>Bombus humilis</i>	47
Hymenoptera	Apidae	<i>Bombus</i>	<i>Bombus hypnorum</i>	1
Hymenoptera	Apidae	<i>Bombus</i>	<i>Bombus lapidarius</i>	25
Hymenoptera	Apidae	<i>Bombus</i>	<i>Bombus lucorum</i>	2
Hymenoptera	Apidae	<i>Bombus</i>	<i>Bombus pascuorum</i>	48
Hymenoptera	Apidae	<i>Bombus</i>	<i>Bombus pratorum</i>	9
Hymenoptera	Apidae	<i>Bombus</i>	<i>Bombus ruderarius</i>	7
Hymenoptera	Apidae	<i>Bombus</i>	<i>Bombus sylvarum</i>	67
Hymenoptera	Apidae	<i>Bombus</i>	<i>Bombus terrestris</i>	8
Hymenoptera	Apidae	<i>Bombus</i>	<i>Bombus terrestris lucorum</i>	107
Hymenoptera	Apidae	<i>Bombus</i>	<i>Bombus vestalis</i>	5
Hymenoptera	Apidae	<i>Bombus</i>	<i>Bombus veteranus</i>	4
Hymenoptera	Apidae	<i>Eucera</i>	<i>Eucera longicornis</i>	1
Hymenoptera	Apidae	<i>Eucera</i>	<i>Eucera nigrescens</i>	4
Hymenoptera	Braconidae	<i>Ascogaster</i>	<i>Ascogaster</i> sp.	5
Hymenoptera	Cephidae	<i>Cephidae</i>	<i>Cephidae</i> n.i.	3
Hymenoptera	Crabonidae	<i>Lestica</i>	<i>Lestica clypeata</i>	1
Hymenoptera	Formicidae	<i>formicidae</i>	<i>formicidae</i> n.i.	16
Hymenoptera	Halictidae	<i>Halictus</i>	<i>Halictus</i> gr. <i>simplex</i>	5
Hymenoptera	Halictidae	<i>Halictus</i>	<i>Halictus langobardicus</i>	1
Hymenoptera	Halictidae	<i>Halictus</i>	<i>Halictus scabiosae</i>	17
Hymenoptera	Halictidae	<i>Halictus</i>	<i>Halictus tumulorum</i>	44
Hymenoptera	Halictidae	<i>Lasioglossum</i>	<i>Lasioglossum calceatum</i>	11
Hymenoptera	Halictidae	<i>Lasioglossum</i>	<i>Lasioglossum costulatum</i>	1
Hymenoptera	Halictidae	<i>Lasioglossum</i>	<i>Lasioglossum glabriusculum</i>	40
Hymenoptera	Halictidae	<i>Lasioglossum</i>	<i>Lasioglossum laticeps</i>	10
Hymenoptera	Halictidae	<i>Lasioglossum</i>	<i>Lasioglossum lativentre</i>	6
Hymenoptera	Halictidae	<i>Lasioglossum</i>	<i>Lasioglossum leucobonium</i>	1
Hymenoptera	Halictidae	<i>Lasioglossum</i>	<i>Lasioglossum leucozonium</i>	2
Hymenoptera	Halictidae	<i>Lasioglossum</i>	<i>Lasioglossum malachurum</i>	18
Hymenoptera	Halictidae	<i>Lasioglossum</i>	<i>Lasioglossum morio</i>	4
Hymenoptera	Halictidae	<i>Lasioglossum</i>	<i>Lasioglossum pauxillum</i>	28
Hymenoptera	Halictidae	<i>Lasioglossum</i>	<i>Lasioglossum punctatissimum</i>	5
Hymenoptera	Halictidae	<i>Lasioglossum</i>	<i>Lasioglossum puncticolle</i>	4
Hymenoptera	Halictidae	<i>Lasioglossum</i>	<i>Lasioglossum subhirtum</i>	1
Hymenoptera	Halictidae	<i>Lasioglossum</i>	<i>Lasioglossum villosulum</i>	6
Hymenoptera	Halictidae	<i>Lasioglossum</i>	<i>Lasioglossum zonulum</i>	3
Hymenoptera	Halictidae	<i>Sphecodes</i>	<i>Sphecodes</i> sp.	1
Hymenoptera	Ichneumonidae	<i>Ichneumon</i>	<i>Ichneumon sarcitorius</i>	1
Hymenoptera	Ichneumonidae	<i>Ichneumonidae</i>	<i>Ichneumonidae</i> n.i.	42
Hymenoptera	Megachilidae	<i>Anthidium</i>	<i>Anthidium punctatum</i>	1
Hymenoptera	Megachilidae	<i>Chelostoma</i>	<i>Chelostoma rapunculi</i>	1
Hymenoptera	Megachilidae	<i>Megachile</i>	<i>Megachile pilidens</i>	1
Hymenoptera	Megachilidae	<i>Megachile</i>	<i>Megachile rotundata</i>	1
Hymenoptera	Megachilidae	<i>Megachile</i>	<i>Megachile versicolor</i>	1
Hymenoptera	Megachilidae	<i>Osmia</i>	<i>Osmia bicornis</i>	3
Hymenoptera	Megachilidae	<i>Osmia</i>	<i>Osmia niveata</i>	1
Hymenoptera	Mellitidae	<i>Melitta</i>	<i>Melitta leporina</i>	21
Hymenoptera	Pompilidae	<i>Ceropales</i>	<i>Ceropales maculata</i>	1
Hymenoptera	Pompilidae	<i>Cryptocheilus</i>	<i>Cryptocheilus versicolor</i>	3
Hymenoptera	Tenthredinidae	<i>Athalia</i>	<i>Athalia</i> sp.	2
Hymenoptera	Tenthredinidae	<i>Macrophya</i>	<i>Macrophya montana</i>	5

Hymenoptera	Tenthredinidae	<i>Macrophya</i>	<i>Macrophya</i> sp.	1
Hymenoptera	Tenthredinidae	<i>Pristiphora</i>	<i>Pristiphora</i> sp.	1
Hymenoptera	Tiphiidae	<i>Tiphia</i>	<i>Tiphia</i> sp.	1
Lepidoptera	Crambidae	<i>Pyrausta</i>	<i>Pyrausta despicata</i>	2
Lepidoptera	Crambidae	<i>Pyrausta</i>	<i>Pyrausta purpuralis</i>	2
Lepidoptera	Geometridae	<i>Chiasmia</i>	<i>Chiasmia clathrata</i>	6
Lepidoptera	Geometridae	<i>Scopula</i>	<i>Scopula immorata</i>	1
Lepidoptera	Hesperiidae	<i>Erynnis</i>	<i>Erynnis tages</i>	3
Lepidoptera	Hesperiidae	<i>Ochlodes</i>	<i>Ochlodes sylvanus</i>	2
Lepidoptera	Hesperiidae	<i>Thymelicus</i>	<i>Thymelicus lineola</i>	6
Lepidoptera	Hesperiidae	<i>Thymelicus</i>	<i>Thymelicus sylvestris</i>	3
Lepidoptera	Lycaenidae	<i>Aricia</i>	<i>Aricia agestis</i>	1
Lepidoptera	Lycaenidae	<i>Cupido</i>	<i>Cupido argiades</i>	5
Lepidoptera	Lycaenidae	<i>Cyaniris</i>	<i>Cyaniris semiargus</i>	14
Lepidoptera	Lycaenidae	<i>Lycaena</i>	<i>Lycaena phlaeas</i>	2
Lepidoptera	Lycaenidae	<i>Polyommatus</i>	<i>Polyommatus icarus</i>	18
Lepidoptera	Noctuidae	<i>Autographa</i>	<i>Autographa gamma</i>	1
Lepidoptera	Noctuidae	<i>Euclidia</i>	<i>Euclidia glyphica</i>	20
Lepidoptera	Noctuidae	<i>Mythimna</i>	<i>Mythimna pallens</i>	1
Lepidoptera	Nymphalidae	<i>Aglais</i>	<i>Aglais io</i>	1
Lepidoptera	Nymphalidae	<i>Aglais</i>	<i>Aglais urticae</i>	2
Lepidoptera	Nymphalidae	<i>Argynnis</i>	<i>Argynnis pahia</i>	1
Lepidoptera	Nymphalidae	<i>Coenonympha</i>	<i>Coenonympha pamphilus</i>	8
Lepidoptera	Nymphalidae	<i>Maniola</i>	<i>Maniola jurtina</i>	183
Lepidoptera	Nymphalidae	<i>Pyronia</i>	<i>Pyronia tithonus</i>	7
Lepidoptera	Pieridae	<i>Colias</i>	<i>Colias crocea</i>	1
Lepidoptera	Pieridae	<i>Colias</i>	<i>Colias hyale</i>	1
Lepidoptera	Pieridae	<i>Leptidea</i>	<i>Leptidea sinapis/juvernica</i>	4
Lepidoptera	Pieridae	<i>Pieris</i>	<i>Pieris napi</i>	1
Lepidoptera	Pieridae	<i>Pieris</i>	<i>Pieris rapae</i>	1
Lepidoptera	Sphingidae	<i>Macroglossum</i>	<i>Macroglossum stellatarum</i>	1
Lepidoptera	Tortricidae	<i>Grapholita</i>	<i>Grapholita compositella</i>	2
Lepidoptera	Zygaenidae	<i>Zygaena</i>	<i>Zygaena filipendulae</i>	4
Lepidoptera	Zygaenidae	<i>Zygaena</i>	<i>Zygaena trifolii</i>	2
Mecoptera	Panorpidae	<i>Panorpa</i>	<i>Panorpa vulgaris</i>	1
n i	n i	n i	n.i.	1

Annexe K: List of pollinator species for which for face pollen load, hairiness and surface have been measured

Table K.1: List of all 127 pollinator species for which we measured face pollen load, surface and hairiness. Frequency: number of individuals per pollinator species.

Group of pollinators	Species	Frequency
Bee	<i>Andrena chrysosceles</i>	2
Bee	<i>Andrena dorsata</i>	1
Bee	<i>Andrena flavipes</i>	2
Bee	<i>Andrena fulvata</i>	1
Bee	<i>Andrena gr. proxima</i>	1
Bee	<i>Andrena haemorrhoa</i>	1
Bee	<i>Andrena labialis</i>	1
Bee	<i>Andrena minutula</i>	1
Bee	<i>Andrena minutuloides</i>	2
Bee	<i>Andrena schencki</i>	2
Bee	<i>Andrena subopaca</i>	3
Bee	<i>Andrena trimmerana</i>	1
Bee	<i>Apis mellifera</i>	21
Bee	n.i.	1
Bee	<i>Bombus humilis</i>	27
Bee	<i>Bombus pascuorum</i>	21
Bee	<i>Bombus sylvarum</i>	34
Bee	<i>Bombus veteranus</i>	2
Bee	<i>Eucera nigrescens</i>	2
Bee	<i>Halictus gr. simplex</i>	2
Bee	<i>Halictus langobardicus</i>	1
Bee	<i>Halictus scabiosae</i>	11
Bee	<i>Halictus tumulorum</i>	13
Bee	<i>Lasioglossum calceatum</i>	7
Bee	<i>Lasioglossum glabriusculum</i>	5
Bee	<i>Lasioglossum laticeps</i>	6
Bee	<i>Lasioglossum lativentre</i>	4
Bee	<i>Lasioglossum leucobonium</i>	1
Bee	<i>Lasioglossum leucozonium</i>	2
Bee	<i>Lasioglossum malachurum</i>	5
Bee	<i>Lasioglossum pauxillum</i>	15
Bee	<i>Lasioglossum punctatissimum</i>	6
Bee	<i>Lasioglossum puncticolle</i>	3
Bee	<i>Lasioglossum subhirtum</i>	1
Bee	<i>Lasioglossum villosulum</i>	3
Bee	<i>Lasioglossum zonulum</i>	3
Bee	<i>Megachile versicolor</i>	1
Bee	<i>Melitta leporina</i>	13
Bee	<i>Sphecodes sp.</i>	1
Diptera	<i>Bithia spreta</i>	2
Diptera	<i>Blaesoxipha laticornis</i>	1
Diptera	<i>Bombylius ater</i>	1
Diptera	<i>Bombylius vulpinus</i>	1
Diptera	<i>Botanophila striolata</i>	15
Diptera	<i>Caliprobola speciosa</i>	1
Diptera	<i>Cheilosia ranunculi</i>	2
Diptera	<i>Cheilosia ranunculi/albitarsis</i>	4
Diptera	<i>Cheilosia soror</i>	1
Diptera	<i>Chrysops viduatus</i>	1
Diptera	<i>Chrysotoxum bimaculatum</i>	1
Diptera	<i>Clairvillia biguttata</i>	3
Diptera	<i>Coenosia tigrina</i>	1

Diptera	<i>Cylindromyia auriceps</i>	1
Diptera	<i>Cylindromyia brassicaria</i>	2
Diptera	n.i.	6
Diptera	<i>Empis caudatula</i>	13
Diptera	<i>Empis nigripes</i>	2
Diptera	<i>Empis planetica</i>	1
Diptera	<i>Empis praevia</i>	1
Diptera	<i>Empis woodi</i>	2
Diptera	<i>Empis sericans</i>	22
Diptera	<i>Empis tessellata</i>	2
Diptera	<i>Empis livida</i>	23
Diptera	<i>Empis trigramma</i>	2
Diptera	<i>Empis pennipes</i> gr.	1
Diptera	<i>Episyrphus balteatus</i>	1
Diptera	<i>Eristalis tenax</i>	4
Diptera	<i>Erothrix rufomaculata</i>	36
Diptera	<i>Exorista glossatorum</i>	1
Diptera	<i>Exorista mimula</i>	5
Diptera	<i>Fannia</i> sp.	1
Diptera	<i>Labigastera forcipata</i>	1
Diptera	<i>Lejogaster metallina</i>	5
Diptera	<i>Leucostoma anthracinum</i>	1
Diptera	<i>Limnophora tigrina</i>	1
Diptera	<i>Linnaemyia</i> sp.	1
Diptera	<i>Lonchoptera lutea</i>	1
Diptera	<i>Lucilia richardsi</i>	1
Diptera	<i>Lucilia sericata</i>	3
Diptera	<i>Lucilia silvarum</i>	4
Diptera	<i>Lucilia</i> sp.	4
Diptera	<i>Melanogaster nuda</i>	4
Diptera	<i>Melanomyia nana</i>	1
Diptera	<i>Melanostoma mellinum</i>	2
Diptera	<i>Morellia hortorum</i>	1
Diptera	<i>Musca autumnalis</i>	15
Diptera	<i>Musca vitripennis</i>	1
Diptera	<i>Muscidae</i> n.i.	1
Diptera	<i>Nemotelus pantherinus</i>	4
Diptera	<i>Neoscia meticulosa</i>	1
Diptera	<i>Neoscia podagrica</i>	2
Diptera	<i>Neomyia cornicina</i>	13
Diptera	<i>Neomyia viridescens</i>	5
Diptera	<i>Orellia falcata</i>	1
Diptera	<i>Orthonevra nobilis</i>	1
Diptera	<i>Pegoplata aestiva</i>	1
Diptera	<i>Physiphora alcaeae</i>	1
Diptera	<i>Pipizella</i> sp.	1
Diptera	<i>Platypalpus</i> sp.	1
Diptera	<i>Pollenia amentaria</i>	29
Diptera	<i>Pollenia bisulca</i>	1
Diptera	<i>Pollenia rudis</i>	10
Diptera	<i>Ravinia pernix</i>	1
Diptera	<i>Rhagio vitripennis</i>	1
Diptera	<i>Saltella nigripes</i>	18

Diptera	<i>Saltella sphondylii</i>	11
Diptera	<i>Sarcophaga crassimargo</i>	1
Diptera	<i>Sarcophaga carnaria</i>	13
Diptera	<i>Sarcophaga variegata</i>	10
Diptera	<i>Sarcophaga incisilobata</i>	4
Diptera	<i>Sarcophaga</i> sp.	20
Diptera	<i>Sarcotachinella sinuata</i>	1
Diptera	<i>Scathophaga stercoraria</i>	3
Diptera	<i>Sepsis cynipsea</i>	4
Diptera	<i>Sepsis fulgens</i>	2
Diptera	<i>Sepsis neocynipsea</i>	2
Diptera	<i>Sepsis thoracica</i>	2
Diptera	<i>Siphona</i> sp.	5
Diptera	<i>Solieria vacua</i>	19
Diptera	<i>Sphaerophoria scripta</i>	5
Diptera	<i>Sphaerophoria</i> sp.	6
Diptera	<i>Stevenia atramentaria</i>	8
Diptera	<i>Syrphus ribesii</i>	1
Diptera	<i>Syrrita pipiens</i>	4
Diptera	<i>Tachina fera</i>	7
Diptera	<i>Thecophora distincta</i>	1
Diptera	<i>Tipula vernalis</i>	2

Étude fonctionnelle de la fonction de pollinisation entomophile en prairie permanente sous l'effet d'un gradient d'intensification agricole

Le déclin de la biodiversité et son impact sur le fonctionnement des écosystèmes sont un enjeu majeur du XXI^{ème} siècle. L'agriculture intensive est aujourd'hui considérée comme l'un des facteurs responsables de ce déclin, suscitant une volonté sociétale pour une transition vers l'agroécologie. Celle-ci vise à intégrer les fonctions écologiques dans la production des biens agricoles. Les prairies permanentes sont au cœur de ces enjeux, étant à la fois essentielles pour l'alimentation du bétail, tout en pouvant abriter une forte biodiversité. L'intensification des pratiques agricoles peut modifier les communautés de plantes et de pollinisateurs et leurs interactions plantes-pollinisateurs. Actuellement, les mécanismes expliquant ces changements sont peu étudiés, encore moins avec une approche utilisant les traits fonctionnels comme celle que nous proposons dans cette thèse. Les objectifs de cette thèse sont : 1) d'étudier l'effet de l'intensification agricole locale sur la diversité fonctionnelle des traits floraux et les conséquences sur la fonction de pollinisation ; 2) d'étudier les relations entre diversité des traits floraux et diversités taxonomique et fonctionnelle des pollinisateurs ; 3) de déterminer si la pilosité et la surface de la face des pollinisateurs sont des bons prédicteurs de la quantité de pollen transporté. Afin d'atteindre ces objectifs, nous avons sélectionné en Moselle 16 prairies permanentes appartenant à un gradient d'intensification agricole. Nous avons mesuré cinq traits floraux appartenant à trois catégories (signal, barrière à l'exploitation, récompense) sur les espèces de plantes de nos communautés. Nous avons constitué des réseaux visuels d'interactions plantes-pollinisateurs en capturant les insectes butineurs le long de transects. Enfin, nous avons mesuré la masse de ces insectes ainsi que la surface et la pilosité de leur face que nous avons relié à la quantité de pollen qu'ils transportaient. Tout d'abord, nous avons montré que la fertilité du sol a une influence significative sur la diversité fonctionnelle des traits floraux mais pas l'intensification agricole. Alors que la fertilité du sol est connue pour influencer la diversité fonctionnelle des traits végétatifs, ces résultats sont les premiers à montrer un effet du sol sur la diversité fonctionnelle des traits floraux, et pourraient avoir comme origine un phénomène d'exclusion compétitive. L'augmentation de la diversité fonctionnelle des traits floraux augmente significativement la fréquence des interactions plantes-pollinisateurs, proxy de la fonction de pollinisation. Ces résultats sont en concordance avec les relations positives attendues entre biodiversité et fonctionnement des écosystèmes. L'augmentation de la diversité fonctionnelle de la production de sucre augmente significativement la richesse taxonomique des pollinisateurs mais pas la diversité fonctionnelle de leur masse corporelle, suggérant l'importance de maximiser la diversité fonctionnelle de la production de sucre pour maintenir une forte diversité taxonomique de pollinisateurs à l'heure où cette dernière connaît un déclin. Enfin, nous avons montré que la quantité de pollen transporté sur la face des pollinisateurs augmente significativement avec la surface et la pilosité de cette partie de leur corps. Ce résultat est une validation de ces deux traits d'effet pour la pollinisation à un ensemble d'espèces de plantes sauvages, là où ils n'étaient partiellement validés que pour quelques espèces de plantes cultivées. Cette thèse apporte donc une perspective unique sur les effets en cascade des facteurs locaux jusqu'à la fonction de pollinisation en prairie permanente.

Mots-clefs : biodiversité ; traits fonctionnels ; traits d'interaction ; pratiques agricoles ; sol ; réseaux plantes-pollinisateurs

Functional study of entomophilous pollination function in permanent grasslands under a land-use intensification gradient

Decline in biodiversity and its impacts on ecosystem functioning are critical issues we are facing in the 21st century. Intensive agriculture is nowadays considered as one of the factors behind this decline, sparking off a societal desire toward an agroecological transition. Agroecology aims at integrating ecological functions into food production processes. Permanent grasslands are at the core of these issues, because of their essential roles in livestock feeding, but also because of their ability to harbor a rich biodiversity. Intensification of agricultural practices can modify plant and pollinator communities, but also interactions between these two trophic levels. Presently, the mechanisms behind these modifications are little studied, and even less with a functional trait-based approach as we propose in this PhD thesis. The goals of this PhD thesis are: 1) to study the effects of local land-use intensification on functional diversity of floral traits and their consequences on pollination function; 2) to study the relationships between functional diversity of floral traits and both taxonomic and functional diversities of pollinators; 3) to determine if hairiness and surface of pollinator face are good predictors of face pollen load. To do so, we selected 16 permanent grasslands belonging to a land-use intensification gradient in Moselle, France. We measured five floral traits belonging to three categories (cue/signal, exploitation barrier, reward) from plant species in the communities we followed. We established visual plant-pollinator interaction networks by catching foraging insects along transects. Finally, we measured insect body mass, as well as the surface and the hairiness of their face which were related to their face pollen load. Firstly, we found a significant effect of soil fertility on functional diversity of floral traits, but no effect of land-use intensification. While soil fertility is already known to influence functional diversity of vegetative traits, our results show for the first time an effect of soil characteristics on functional diversity of floral traits, that could be caused by exclusive competition. Moreover, an increase in functional diversity of floral traits results in an increase in plant-pollinator interaction frequency, a proxy of pollination function. This result is in congruence with the expected positive relationships between biodiversity and ecosystem functioning. We also found that an increase in functional diversity of nectar sugar production increases pollinator taxonomic richness but not functional diversity of their body mass. This result suggests the importance to maximize functional diversity of sugar production to maintain a high taxonomic diversity of pollinators, while pollinators face currently a global decline. Lastly, we showed an increase in face pollen load of pollinators with hairiness as well as surface of this body part, validating these two pollination effect traits for a set of wild plant species, while until now it was only done for a few cultivated plant species. This PhD thesis thus brings a unique perspective of cascading effects from local factors to pollination function in permanent grasslands.

Key-words: biodiversity; functional traits; matching traits; agricultural intensification; soil; plant-pollinator interaction networks