THÈSE DE DOCTORAT

Réponse des vers de terre et fourmis en paysage urbain méditerranéen : du gène à la communauté

Présentée en vue de l'obtention du grade de docteur
en **Écologie et Biologie des Populations** de **l'Université Paul-Valéry Montpellier 3**

Ecole Doctorale n°60 – Territoires, Temps, Sociétés, Développement

Présentée par **Ambre Mautuit**

Dirigée par **Jérôme CORTET,**
Co-encadrée par **Alan VERGNES**

Soutenance réalisée le **22 MAI 2024** devant le jury composé de

Mme Lise DUPONT, Professeure, HDR Université Paris-Est Créteil	Rapporteuse
M. Jean-Christophe LATA, Professeur, HDR Sorbonne Université, Paris	Rapporteur
M. Bernard KAUFMANN, Maître de conférences Université Lyon 1	Examinateur
Mme Elena KAZAKOU, Professeure, HDR Institut Agro Montpellier	Présidente du jury
Mme Claire MARSDEN, Maître de conférences Institut Agro Montpellier	Examinatrice
M. Jérôme CORTET, Professeur, HDR Université Paul-Valéry Montpellier 3	Directeur de thèse
M. Alan VERGNES, Maître de conférences Université Paul-Valéry Montpellier 3	Co-directeur de thèse

À toutes les petites créatures volantes, rampantes et grouillantes qui me fascinent et m'émerveillent depuis le tout premier regard que j'ai porté sur le monde.

Avant-propos

Cette thèse de doctorat de l'Université Paul-Valéry Montpellier 3 a été menée au sein du Centre d'Écologie Fonctionnelle et Évolutive (CEFE – UMR 5175, équipe "Écologie des Systèmes Anthropisés"). Elle a été dirigée par Jérôme Cortet (Professeur, Université Paul-Valéry, Montpellier 3) et co-dirigée par Alan Vergnes (Maître de conférences, Université Paul-Valéry, Montpellier 3).

La thèse a été financée par un contrat doctoral de l'ED60 « Territoires, Temps, Sociétés, Développement »

Une partie des recherches a été effectuée dans le cadre de l'ANR BISES (https://anrbises.cefe.cnrs.fr/), dirigée par Alan Vergnes.

Le manuscrit comprend une introduction générale, trois axes d'étude sous forme d'articles scientifiques, et une discussion générale. L'introduction générale, rédigée en français, situe ces travaux dans une problématique de recherche plus large. Elle présente le cadre, les objectifs, ainsi que les principales questions de la thèse.

Les trois axes d'étude, tous rédigés en anglais, sont précédés d'un résumé long en français. Ils abordent les différentes hypothèses qui structurent ce travail. Une discussion générale synthétise et discute des principaux résultats et présente les perspectives de cette recherche. Les références bibliographiques de l'introduction et de la discussion ont toutes été reportées à la fin du manuscrit.

Remerciements

Tout d’abord, je tiens à remercier mes directeurs de thèse de m’avoir permis de réaliser cette thèse et de m'avoir accompagné lors des différentes étapes de ce travail. Merci à toi, Jérôme, d'avoir accepté de superviser ma thèse et pour ton soutien bienveillant tout au long de ce voyage académique. Alan, merci de m’avoir accordé ta confiance pour cette thèse, ainsi que lors de mes précédents stages en licence et en première année de master au sein de l'équipe. Ces expériences ont été importantes dans le développement de mes compétences sur l’étude des fourmis et des vers de terre. Sandra, je te remercie pour ton investissement dans l’ensemble de mon travail de thèse, merci pour ton soutien, ta patience et ta pédagogie dans le long processus des analyses statistiques, et merci pour tous tes précieux conseils.

Merci aux membres du jury, Lise Dupont, Jean-Christophe Lata, Bernard Kaufmann, Elena Kazakou et Claire Marsden, d'avoir accepté de lire, écouter et évaluer mon travail.

Merci aux membres de mon comité de suivi de thèse, Olivier Blight, Mickael Hedde, Thibaud Decaens, Sandra Barantal, Emilie Salles, pour leurs conseils, leur bienveillance, nos échanges et leurs critiques pertinentes sur mon travail.

Daniel, merci pour ton aide précieuse dans la réalisation de la partie sur la génétique des vers de terre. Sans toi, cette partie de ma thèse serait restée à l’état embryonnaire. Merci pour ta passion communicative pour ces chers vers de terre et pour ton expertise sur l’approche génétique. C'était un vrai plaisir de collaborer avec toi.

Rumsais, merci pour tes conversations passionnantes à propos de nos chères petites fourmis et pour ton expertise dans la vérification des identifications des fourmis mates et des fourmis un peu brillantes.

Je tiens à remercier toutes les personnes que j’ai pu rencontrer lors de la sélection des nombreux sites d’études et qui m’ont toujours accueilli avec bienveillance et accepté que je fasse des trous dans leurs jardins.

Merci aux membres de la métropole de Montpellier, Emilie Salles, Patricia Reeb, Laure Delbergue et Stéphanie Grosset, pour avoir facilité le choix des sites et l’obtention d’informations et d’autorisations de prélèvements, même dans les endroits les plus incongrus.

Merci aux membres du projet BISES qui ont permis la réalisation des parties 2 et 3 de ma thèse. Grâce à vous, j’ai pu participer à de nombreuses sessions sur le terrain et découvrir la beauté cachée des ronds-points et des abords de voirie de Montpellier.

Merci à tous les membres de l'équipe ESA (Ecologie des Systèmes Anthropisés), permanents, non permanents, collègues et très bons amis que j'ai pu rencontrer et qui ont fait de cette thèse une très belle aventure humaine : William, Camilla, Nico, Louise, Théo, Julia, Benoît, Benjamin, Julie, Clara, Claire, Sébastien, Arthur, Charlotte, Jonathan, Camille, Enola, Matthias, Quilina, Annick, Fred, Gwenael, Laurent, Paola, Ninon, Cloé, Pierre, Mélanie, Nassera, Marin. Un grand merci en particulier à l'équipe parallèle ESA (événements, soirées, apéros) pour tous les bons moments passés ensemble, que ce soit lors de nos nombreuses sorties naturalistes dans les alentours de Montpellier, nos longues discussions sur le terrain ou autour d'une bière, et pour votre soutien tout au long de ma thèse.

Merci à tous les amis que j'ai rencontrés au cours de mon parcours universitaire et durant l'ensemble des sorties naturalistes que j'ai pu effectuer au cours de ces dernières années.

Et comme le meilleur moyen d'évacuer la pression c'est en la buvant, je remercie également l'équipe du Tarbrew pour votre soutien zythologique lors de cette dernière année de thèse.

Merci à ma tribu,

Maman et Papa, merci de m'avoir toujours soutenue et encouragée dans tous mes projets et depuis toujours, même durant les périodes difficiles. Je remercie mes sœurs Louisia, Victoria et Fleur ainsi que mon frère Paul pour leurs soutiens dans les moments de rigolade comme dans les moments de doute. Je vous aime de tout mon cœur.

Matthias, mon collègue préféré, rien que pour te rencontrer, ça valait le coup de se lancer dans cette thèse. Merci pour tes encouragements, ton soutien sans faille et toutes tes petites attentions qui m'ont aidée à tenir le coup.

Résumé

La surface du territoire occupée par les villes ne cesse d'augmenter, notamment en région méditerranéenne. Ce processus d'urbanisation altère profondément l'environnement à des échelles locales et paysagères, représentant une menace mondiale pour la biodiversité, notamment celle des sols. Toutefois, des espaces verts aux usages diversifiés (production alimentaire, agrément, accompagnement de voirie) sont présents au sein des villes et peuvent jouer un rôle dans la conservation de la biodiversité. Parmi les communautés du sol, les vers de terre et les fourmis assurent de nombreuses fonctions écologiques dans les sols et constituent de bons bio-indicateurs pour évaluer les perturbations des habitats. De plus, ces organismes présentent des différences, notamment dans leurs capacités de dispersion, et leurs stratégies alimentaires, pouvant conduire à des réponses distinctes face aux perturbations aux échelles locales et paysagères. Enfin, la région méditerranéenne est considérée comme un "point chaud" mondiale de diversité pour ces groupes. Cependant, très peu d'études ont été réalisées sur ces derniers en contexte urbain méditerranéen.

Cette thèse vise à identifier les facteurs environnementaux influant sur les communautés de vers de terre et de fourmis au sein de différents espaces verts urbains méditerranéens de la métropole Montpelliéraine en adoptant une approche multi-échelles et multi-taxons. Trois axes de recherche complémentaires ont été développés : l'axe 1 étudie la réponse des fourmis dans 24 forêts urbaines réparties le long d'un gradient d'urbanisation ; l'axe 2 examine la réponse des communautés de vers de terre et de fourmis dans 40 sites urbains répartis entre des espaces de production alimentaire et des espaces verts récréatifs ou accompagnement de voiries, et également répartis le long d'un gradient d'urbanisation ; et enfin, l'axe 3 explore les patrons de distribution des vers de terre en utilisant une approche génétique et phylogéographique au sein d'un sous-ensemble des sites de l'axe 2.

Les axes 1 et 2 ont révélé une homogénéisation des communautés à travers la métropole, malgré la grande variabilité des espaces verts étudiés, allant des forêts urbaines à une diversité d'habitats ouverts. Des facteurs locaux et paysagers influençant ces communautés ont également été identifiés, avec des effets à plusieurs échelles sur les communautés de vers de terre, mais un manque de réponse des communautés de fourmis aux facteurs paysagers. L'axe 3 a permis d'affiner l'analyse de la distribution des vers de terre à Montpellier et a permis de mettre en évidence une grande diversité génétiques des vers de terre ainsi que des résultats novateurs en contexte urbain. Cette thèse a ainsi permis d'isoler des facteurs environnementaux ayant des effets sur les vers de terre et les fourmis à diverses échelles, allant du local au paysager, ainsi que du gène à la communauté.

Mots-clés : urbanisation, fourmis, vers de terre, multi-échelles, Montpellier, ADN barcoding

Abstract

The surface area occupied by cities continues to increase, especially in the Mediterranean region. This process of urbanization profoundly alters the environment at both local and landscape scales, posing a global threat to biodiversity, particularly in soils. However, urban areas contain green spaces with diverse uses (food production, recreational, roadside landscaping) that can contribute to biodiversity conservation. Among soil communities, earthworms and ants play key ecological roles and serve as valuable bioindicators to assess habitat disturbances. Additionally, these organisms exhibit differences in dispersal abilities and dietary strategies, which can lead to distinct responses to disturbances at local and landscape scales. Furthermore, the Mediterranean region is considered a global biodiversity hotspot for these groups. Nevertheless, there have been very few studies conducted on these organisms in Mediterranean urban contexts.

This thesis aims to identify environmental factors influencing earthworm and ant communities within different urban green spaces in the Mediterranean city of Montpellier, using a multi-scale, multi-taxa approach. Three complementary research axes were developed: axis 1 investigates ant responses in 24 urban forests distributed along an urbanization gradient; axis 2 examines the response of earthworm and ant communities in 40 urban sites, including food production areas and recreational or roadside green spaces, also distributed along an urbanization gradient; and finally, axis 3 explores earthworm distribution patterns using a genetic and phylogeographic approach within a subset of sites from axis 2.

Axes 1 and 2 revealed a homogenization of communities across the metropolis, despite the considerable variability of green spaces studied, ranging from urban forests to a variety of open habitats. Local and landscape factors influencing these communities were also identified, with effects at multiple scales on earthworm communities, but a lack of response from ant communities to landscape factors. Axis 3 allowed for a refined analysis of earthworm distribution in Montpellier and highlighted a high genetic diversity of earthworms, as well as innovative results in an urban context. This thesis thus isolated environmental factors affecting earthworms and ants at various scales, from local to landscape, as well as from gene to community.

Keywords: urbanization, ants, earthworms, multi-scales, Montpellier, DNA barcoding

Table des matières

Introduction générale 13

Préambule. Le déclin mondial de la biodiversité 14

1. L'urbanocène : comment les villes façonnent la biodiversité ? 15

1.1. Urbanisation : Etat des lieux et prévisions à l'échelle mondiale 15

1.2. Les conséquences pour la biodiversité 17

1.2.1. Habitats urbains : une hétérogénéité qui façonne la biodiversité 17

1.2.2. Les différentes réponses des organismes en milieu urbain 19

1.2.3. L'homogénéisation biotique 21

2. Les sols et leur biodiversité en manque de considération 21

2.1. Le sol 21

2.2. La biodiversité du sol 25

Encadré 1 : la protection du sol 26

3. De l'importance de l'échelle d'étude pour comprendre l'assemblage et la dynamique des communautés biologiques urbaines 27

3.1. La théorie des filtres 27

Encadré 2 : Les différents filtres écologiques 28

3.2. Les gradients d'urbanisation 29

Encadré 3 : L'apport de la génétique et de la phylogéographie dans la compréhension des systèmes urbains 32

4. Modèle d'études : vers de terre et fourmis 33

4.1. Ingénieurs des écosystèmes 33

4.2. Les vers de terre 33

4.3. Les fourmis 36

4.4. Intérêt de l'approche multi-taxon fourmis-vers de terre 37

4.5. Connaissances sur leurs réponses face à l'urbanisation 40

5. Problématisation et objectifs de la thèse 43

6. Description du territoire de la Métropole de Montpellier 45

AXE 1 : Réponse des communautés de fourmis dans des forêts urbaines boisées en chênes vert (*Q. ilex*) ou en pin d'Alep (*P. halepensis*) de la métropole de Montpellier 47

Résumé long Axe 1 48

Article 1 : Canopy cover and soil texture shape ant communities in Mediterranean urban woodlands 51

Abstract 52

1. Introduction 54

2. Materials and Methods 56

2.1. Study area 56

2.2. Site selection 56

2.3. Ant sampling 57

2.4. Measurement of local variables 58

2.5. Measurement of landscape variables 59

2.6. Statistical analysis 60

3. Results 61

3.1. Variation of local and landscape variable across the sampling sites 62

3.2. Effects of local and landscape variables on ant community composition 65

4. Discussion 66

4.1. Ant community description 66

4.2. Canopy cover effect mediated by the tree species 66

4.3. Effect of texture and heavy metals on ant occurrences 67

4.4. No effect of landscape properties on communities 68

4.5. Conclusion 69

5. *Supplementary materials* 70

6. *References* 73

AXE 2 : Réponse des communautés de vers de terre et de fourmis dans des espaces verts productifs et non productifs de la métropole de Montpellier ... 82

Résumé long Axe 2 83

Article 2: Influence of environmental factors on ants and earthworms in Montpellier's urban green spaces 88

Abstract 88

1. Introduction 89

2. Materials and Methods 91

2.1. Study sites 91

2.2. Earthworm Sampling and identification 94

2.3. Ant Sampling and identification 94

2.4. Measurement of soil variables 95

2.5. Measurement of Landscape Variables 96

2.6. Statistical Analyses 97

2.6.1. Effect of land use and productive vs. non-productive modality on earthworm and ant abundance, species richness, ecological categories, and community composition 97

2.6.2. Effect of environmental variables on ant and earthworm abundance, species richness and community composition 98

3. Results 99

4. Discussion 106

4.1. Community Descriptions 106

4.2. Effect of the land use modalities and land use types 107

4.3. Effect of Environmental Variables 109

4.4. Conclusion 111

5. *Supplementary materials* 111

6. *References* 114

AXE 3 : Etude de la diversité génétique et de la phylogéographie des populations de vers de terre de la métropole de Montpellier 124

Résumé long Axe 3 125

Article 3 : Environmental drivers of genetic diversity and phylogeographic pattern in urban earthworms 128

Abstract 129

1. Introduction 131

2. Materials and Methods 133

2.1. Study sites 133

2.2. Earthworms sampling 134

2.3. Measurement of environmental variables 134

2.4. Genetic analysis 135

2.5. Statistical analysis 136

3. Results 136

3.1. Haplotypic and nucleotide diversities 136

3.2. Effect of environmental variables on genetic diversity 138

3.3. Haplotype networks 140

4. Discussion 151

4.1. A high genetic diversity in Montpellier metropolis 151

4.2. Effect of environmental factors on genetic diversity 152

4.3. Widespread species with high genetic diversity 153

4.4. Recently introduced species with low genetic diversity 154

4.5. Species found in few sites but exhibiting high genetic diversity 156

4.6. Conclusion 157

5. *Appendices* 159

6. *References* 161

Discussion générale 170

1. Intérêt de l'approche multi-échelles et multi-taxons 171

2. Identification des facteurs paysagers exerçant une influence sur les fourmis et les vers de terre 172

3. Identification des facteurs locaux exerçant une influence sur les fourmis et les vers de terre.. 173

4. Une diversité d'espace verts, mais des communautés homogènes 174

5. Apports de la phylogéographie et mécanismes sous-jacents à la distribution des populations de vers de terre 176

6. Limites et perspectives 177

6.1. Exploration du filtre biotique 178

6.2. « Retour vers le futur » 179

6.3. « Live and let die » 179

7. Conclusion 180

Références **..... 181**

Introduction générale

Préambule. Le déclin mondial de la biodiversité

Depuis les années 1970, on assiste à un déclin massif de la diversité du vivant et des écosystèmes à l'échelle mondiale qualifié de sixième crise d'extinction de masse (Kolbert, 2014). En effet, le taux d'extinction des espèces a été estimé de 1000 à 10 000 fois plus rapide que les taux d'extinctions à d'autres périodes (Pereira et al., 2010). Cette crise est inédite car contrairement aux cinq crises précédentes liées à des catastrophes et des phénomènes naturels, celle-ci est très rapide et principalement due aux activités d'une seule espèce : l'Homme (Cowie et al., 2022). Les 50 dernières années ont été marquées par une perte alarmante de biodiversité due à une intensification des pressions anthropiques telles que la destruction des habitats, la pollution, le changement climatique, la surexploitation des ressources naturelles et l'introduction d'espèces envahissantes (IPBES, 2019). La perte et la fragmentation des habitats sont considérées comme les principales causes de la perte de biodiversité selon les experts de « The Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services » (IPBES, 2019). Ces facteurs induisent des changements rapides et de grande ampleur qui ont des répercussions à l'échelle mondiale sur toutes les facettes de la biodiversité comprenant les écosystèmes, les espèces, les gènes et les interactions entre ces différentes composantes (Steffen et al., 2015 ; Venter et al., 2016).

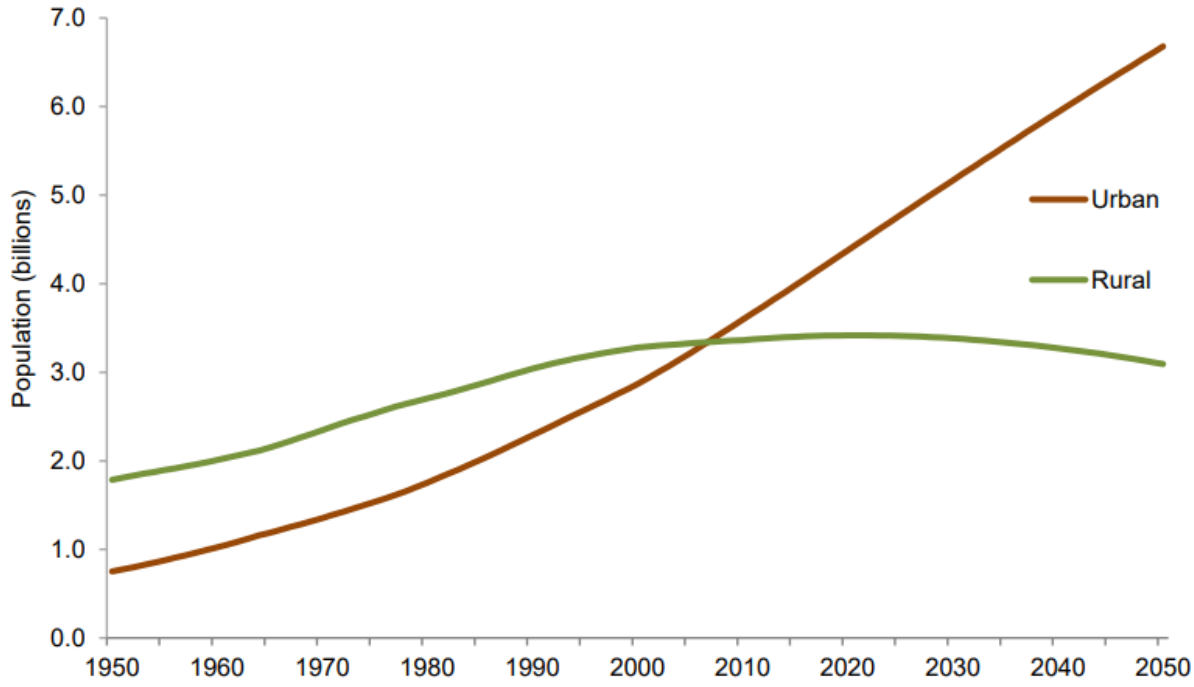
Parmi les vertébrés, l'Union Internationale pour la Conservation de la Nature (UICN) estime qu'actuellement un tiers des espèces d'amphibiens, un quart des mammifères et plus d'un oiseau sur dix sont menacés d'extinction (IUCN, 2020). Cependant, les vertébrés sont sur-représentés dans les mesures de pertes de biodiversité, alors que les invertébrés, qui constituent pourtant la grande majorité des espèces connues (Chapman, 2009 ; IUCN, 2020), ont été largement sous-étudiés (e.g. Brooks et al., 2002 ; Butchart et al., 2010 ; Leandro et al., 2017), induisant une sous-estimation du nombre d'espèces menacées ou déjà éteintes. Parmi les invertébrés, quelques études ont montré que les insectes sont particulièrement touchés par cette crise avec plus de 40% des espèces d'insectes volants menacées d'extinction à l'échelle mondiale (Sánchez-Bayo & Wyckhuys, 2019) et des diminutions de biomasse qui se font ressentir jusque dans les zones protégées comme montré par Hallmann et al., (2017), dans 63 zones protégées d'Allemagne où une diminution moyenne de 80 % des effectifs d'insectes volants a été observé entre 1989 et 2016. Avec des chiffres aussi alarmants, certains auteurs parlent même d'une possible 'apocalypse des insectes' (Leather, 2017 ; Desquilbet et al., 2020 ; Van Klink et al., 2020). Cependant, même au sein des insectes, certains groupes ont été beaucoup plus étudiés et considérés dans les politiques de protection car ils contiennent des espèces considérées comme rares, vulnérables ou charismatiques (Leandro et al., 2017), comme les odonates, les lépidoptères (Rhopalocères) et orthoptères (e.g. Rocha-Ortega et al., 2021).

D’autres invertébrés ont reçu beaucoup moins d’attention ; c’est notamment le cas de nombreux organismes de la faune du sol, tels que les vers de terre (Annélides). Ces organismes font partie de la nature ordinaire, englobant ceux que nous côtoyons au quotidien dans nos jardins, quartiers et villes, et qui sont souvent négligés (Godet, 2008 ; Couvet & Vandevelde, 2014). Cette biodiversité joue un rôle essentiel dans le maintien de services écosystémiques dans nos environnements (Gaston 2008 ; Millenium Ecosystem Assessment 2005). De simple élément de « décor », la nature ordinaire devient peu à peu un centre de préoccupations majeures pour les biologistes de la conservation. Une seule étude réalisée sur le long terme sur les vers de terre au Royaume-Uni, a permis de mettre en lumière que les populations de ces organismes sont également impactées par les changements globaux. Les résultats révèlent une diminution de l'abondance des vers de terre de 1,6 à 2,1 % par an, équivalant à une baisse de 33 % à 41 % sur 25 ans (Barnes et al., 2023).

1 L’urbanocène : comment les villes façonnent la biodiversité ?

1.1 Urbanisation : Etat des lieux et prévisions à l’échelle mondiale

Il existe de nombreuses propositions pour définir une ville ou une zone urbanisée, mais la majorité d’entre elles semblent converger vers une description d’espaces densément peuplés, où les constructions humaines sont concentrées et intensifiées (Nation Unies, 2018). L'urbanisation est le processus qui conduit à la mise en place des villes ; il a connu une croissance importante au cours des dernières décennies : si seulement 30 % de l’Humanité vivait en ville en 1950, ce chiffre a dépassé le seuil historique des 50 % en 2007 et a atteint 55 % en 2018 à l’échelle mondiale (Nations Unies, 2018). Selon les prévisions, la population urbaine mondiale devrait atteindre 68 % d'ici 2050 (Figure 1), ce qui représente une augmentation de 2,5 milliards de personnes par rapport à 2018 (Nations Unies, 2018). L'augmentation de la population urbaine mondiale peut être en grande partie attribuée à deux facteurs clés. Premièrement, la croissance de la population mondiale dans son ensemble : de 2,5 milliards de personnes en 1950, la population mondiale a atteint près de 7,8 milliards de personnes en 2020 (Nations Unies, 2020). Deuxièmement, les villes ont une capacité d'attraction sur les populations rurales : les villes génèrent environ 80% du produit intérieur brut (PIB) mondial, créant ainsi des emplois et des opportunités économiques (OCDE, 2016).



Data source: United Nations, Department of Economic and Social Affairs, Population Division (2018a). *World Urbanization Prospects 2018.*

Figure 1 : évolution passée et estimation future de la part de la population mondiale vivant en milieux urbanisés et ruraux de 1950 à 2050 (Tirée de United Nations 2018).

Cette concentration de la population dans les villes influe directement sur la surface des villes, qui ne cesse d'augmenter pour répondre aux besoins des populations urbaines croissantes. Par ailleurs, on constate une augmentation plus rapide de la superficie des villes que de la population urbaine. Ce phénomène, dénommé étalement urbain, est largement attribué à l'expansion de zones résidentielles principalement composées de logements individuels, autour des centres urbains plus denses et plus anciens (UNFPA, 2007). Estimées entre 0.2% et 2.4% de la surface terrestre en 2007 (Potere & Schneider, 2007), les zones urbanisées pourraient s'étendre sur 2 millions de km^2, représentant environ 8% de la totalité des terres émergées en 2050 (Angel et al., 2011). Cependant à l'échelle globale le pourcentage de zones urbanisées n'est pas homogène et varie en fonction des pays ; par exemple en France métropolitaine le pourcentage de zones artificialisées représentait 9,4% du territoire en 2015 (Enquête Teruti-Lucas, 2015). L'urbanisation est donc un processus ayant un impact considérable et grandissant sur la planète. De par l'ampleur de ce processus, certains considèrent même que nous entrons dans une nouvelle ère : l'ère des villes, « l'Urbanocène » (West 2017).

1.2 Les conséquences pour la biodiversité

1.2.1 Habitats urbains : une hétérogénéité qui façonne la biodiversité

En ville, l'environnement est soumis à diverses pressions qui altèrent la qualité des écosystèmes à l'intérieur et à proximité de la ville. A l'échelle du paysage, la fragmentation des habitats, résultant de l'expansion urbaine, entraîne la division et la réduction des espaces naturels, limitant le déplacement des espèces (Faeth, 2011). A une échelle plus locale, l'imperméabilisation des sols, due à la construction de routes, parkings et bâtiments, limite l'infiltration de l'eau dans le sol en augmentant ainsi le risque d'inondations, réduit la recharge des nappes phréatiques (McGrane, 2016) et a un effet délétère sur la biodiversité locale (Scalenghe & Marsan, 2009). La pollution de l'air et du sol constitue une autre menace majeure. Les activités industrielles, le trafic routier et les émissions domestiques contribuent à la libération de substances toxiques, compromettant la qualité de l'air respiré par les citadins (Cohen et al., 2004). De plus, les sols peuvent être contaminés par des déchets industriels, des pesticides et des éléments traces métalliques, affectant la santé des plantes, des animaux et potentiellement des humains (Guilland et al., 2018 ; Li et al., 2018). L'effet des îlots de chaleur urbaine est également préoccupant. Les surfaces imperméables et les matériaux de construction absorbent et retiennent la chaleur, entraînant des températures plus élevées dans les zones urbaines par rapport aux zones environnantes (Kim, 1992) favorisant le développement d'espèces exotiques au détriment de la faune locale.

Le paysage urbain n'est pas seulement constitué de béton et d'acier, mais offre également de nombreux espaces verts, créant ainsi une mosaïque de vert et de gris vu du ciel. Bien qu'il n'existe pas de définition standardisée pour les espaces verts (Knobel et al., 2019), le terme espaces verts regroupe tous les espaces, grands ou petits, publics ou privés dans lesquels la végétation est présente de façon plus ou moins importante. Ces espaces verts en ville peuvent avoir plusieurs origines : ils peuvent être des espaces relictuels qui étaient auparavant des espaces naturels, mais qui avec l'étalement urbain ont été fragmentés et entourés par la ville (Dreistadt et al., 1990 ; Vergnes et al., 2012), ou bien des espaces nouvellement créés par l'homme lors du développement de la ville (Ahern, 2007). Il existe de nombreuses sortes d'espaces verts, comme des parcs urbains, des forêts urbaines, des jardins partagés, des fermes urbaines, des accompagnements de voirie etc. On peut classer ces différents espaces verts en fonction de leurs usages avec d'un côté les usages productifs et de l'autre les usages non productifs (Morel et al., 2005 ; Vidal-Beaudet et al., 2022). Les usages productifs regroupent les espaces verts urbains qui ont pour fonction la production alimentaire. La couverture végétale sera composée de cultures de divers légumes, accompagnées de plus ou moins d'adventices, et elle ne sera donc pas permanente. Les usages non-productifs regroupent tous les espaces qui ont des valeurs

ornementales et récréatives. Dans ces sites la couverture végétale sera généralement permanente herbacée et/ou arborée (Figure 2).



Figure 2 : photographies de quatre types d'espaces verts, avec 3 espaces verts non productifs : rond-point, parc urbain et forêt urbaine, et un espace vert productif : jardin partagé (©Ambre Mautuit).

Les espaces verts en milieu urbain jouent un rôle essentiel en offrant une multitude de services écosystémiques qui profitent directement à l'humanité. Tout d'abord, ils contribuent à améliorer la qualité de l'air pour les citadins en absorbant des éléments atmosphériques en excès, en particulier le dioxyde de carbone, tout en libérant de l'oxygène. (Bolund et Hunhammar, 1999). De plus, ces espaces agissent comme des régulateurs thermiques, aidant à réduire l'effet des îlots de chaleur urbaine, en fournissant de l'ombre et en dissipant la chaleur (Aram et al., 2019). Ils jouent un rôle clé dans la gestion des eaux pluviales, en absorbant l'excès d'eau lors de fortes précipitations et en prévenant ainsi les inondations (Bai et al., 2018). Les espaces verts offrent également des espaces de loisirs, de détente et de pratiques sportives, contribuant ainsi à la santé physique et mentale des habitants (Van

den Bosch & Sang ; Tsai et al., 2018). La pandémie de COVID-19 a souligné le besoin important d'avoir un accès facile à la nature en milieu urbain (Grima et al., 2020 ; Pouso et al., 2021), et les vagues de chaleur ont mis en lumière le rôle essentiel des arbres en ville, en fournissant de l'ombre et en rafraichissant l'air grâce à l'évapotranspiration durant la nuit (Konarska et al., 2016). De plus, ces environnements naturels en ville revêtent une importance cruciale pour la biodiversité. Ils fournissent des habitats à de nombreuses espèces végétales et animales, créant des corridors écologiques qui permettent aux populations de se déplacer et de se maintenir (Zapparoli, 1997). En préservant la diversité biologique, les espaces verts urbains favorisent la pollinisation des cultures, la régulation des ravageurs par des prédateurs naturels, et contribuent ainsi à la stabilité des écosystèmes urbains. En résumé, les espaces verts en milieu urbain sont bien plus que de simples lieux de détente. Ils sont des éléments indispensables à la création de villes durables, offrant une gamme impressionnante de bienfaits écologiques, sociaux et économiques, et préservant la biodiversité même au cœur de l'urbanisation.

Cependant, ces espaces sont soumis à des pressions environnementales variables, en fonction de leur emplacement au sein de la ville. Des facteurs tels que leur gestion, la fréquentation et le degré d'urbanisation environnante peuvent influencer leur capacité à fournir des services écosystémiques et à préserver la biodiversité. Il est donc crucial d'analyser les effets de l'urbanisation sur ces espaces pour mieux comprendre les impacts de ce processus sur ces environnements. Cette compréhension est essentielle pour proposer des stratégies de gestion et de conservation appropriées.

1.2.2 Les différentes réponses des organismes en milieu urbain

Les différentes pressions que vont subir les organismes en milieu urbain sélectionnent une biodiversité caractéristique de cet environnement anthropisé. L'urbanisation entraine d'un côté la destruction d'habitats de la majorité des espèces et la création d'habitats pour d'autres. En fonction de leur réponse face à l'urbanisation on peut classer les espèces selon trois catégories (Blair, 2001), même si la réalité est généralement plus complexe (McKinney, 2002). Les « urban avoider » ou urbanophobes, qui évitent le milieu urbain et correspondent à des espèces très sensibles aux perturbations entraînées par l'urbanisation ou qui ne trouvent pas les ressources nécessaires à leur survie en ville ; ces espèces sont généralement des espèces spécialistes, ou avec des capacités de dispersion limitées et de grande taille. Les « urban adapters » ou urbanotolérant sont une catégorie intermédiaire d'espèces qui supportent les modifications engendrées par des niveaux intermédiaires d'urbanisation. Elles peuvent donc se maintenir en milieu urbain ; on retrouve souvent des espèces dites eurytopes qui pourront exploiter de nombreux types de ressources, et des espèces de plus petites tailles qui possèdent également des capacités de dispersion importantes, et une stratégie de reproduction de type r avec

un taux de reproduction élevé et une durée de vie courte (Hahs et al., 2023). Ici la notion d'adaptation n'est pas liée au sens évolutif du terme, mais signifie plutôt que les espèces ont une gamme de tolérance importante aux perturbations environnementales (Lambert et al. 2020). Ces espèces pourront être retrouvées dans une large partie de la ville mais éviteront en général les zones les plus fortement urbanisées. Enfin, les "urban exploiters" ou urbanophiles représentent un nombre relativement restreint d'espèces qui tirent parti de la présence humaine et de ses activités pour exploiter de nouveaux environnements ainsi que de nouvelles sources de nourriture. Leur effectif croît proportionnellement à l'urbanisation du milieu. Certaines sont qualifiées de commensales de l'homme, car elles deviennent dépendantes des ressources fournies par ses activités. C'est particulièrement le cas des espèces envahissantes, définies comme des espèces exotiques devenues des agents perturbateurs nuisibles à la biodiversité autochtone des écosystèmes où elles s'établissent. Ces espèces tirent profit des températures plus élevées en centre-ville pour prospérer, ainsi que de la disponibilité de niches écologiques vacantes et du faible nombre de prédateurs, souvent plus sensibles à l'urbanisation (Shea & Chesson, 2002). Par conséquent, on peut observer la présence de ces espèces même dans les environnements urbains les plus développés (Figure 3).

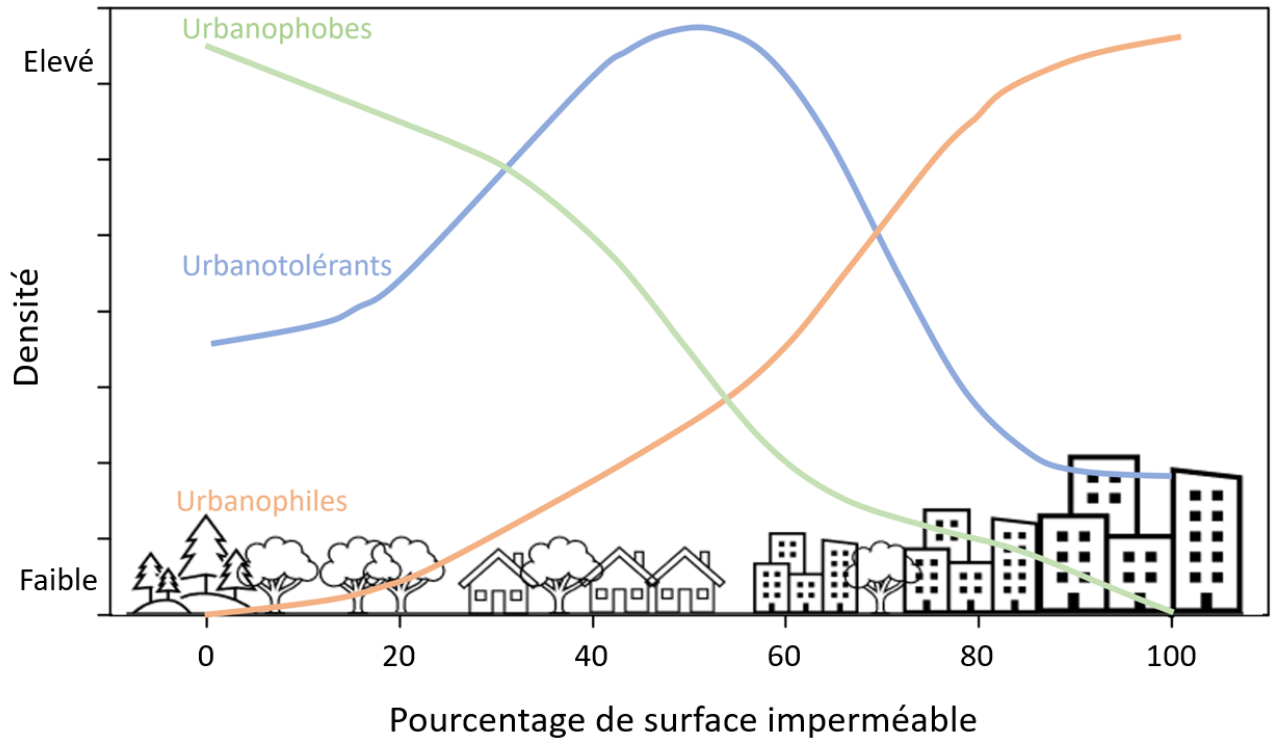


Figure 3 : réponses généralisées des populations ou des individus à l'urbanisation. La densité des populations ou des individus urbanophobes, urbanotolérants et urbanophiles est représentée en fonction de la quantité de surface imperméable (scellée) dans le paysage (Source : modifié de Marzluff & Rodewald, 2008).

1.2.3 L'homogénéisation biotique

L'urbanisation, par l'ampleur des pressions qu'elle va entrainer sur l'environnement, va conduire à écarter de nombreuses espèces dans la catégorie des « urban avoider » et sélectionner les « urban exploiter » et « adapter » qui sont généralistes, souvent mobiles avec une dispersion qui peut être active ou passive, et avec un fort taux de reproduction (Hahs, 2023). L'habitat urbain est relativement similaire entre les différentes villes du monde car les villes sont construites pour répondre aux besoins spécifiques de l'Homme. Cet habitat va donc potentiellement toujours favoriser le même ensemble d'espèces qui vont se développer aux dépens d'espèces dont la distribution est plus limitée. L'urbanisation joue donc un rôle important dans le phénomène que l'on appelle "homogénéisation biotique" (McKinney 2006). L'homogénéisation biotique se définit comme l'augmentation au cours du temps de la similarité entre des communautés réparties dans l'espace ; elle peut aussi avoir lieu au sein d'une communauté quand la modification de l'abondance relative des espèces se fait au profit des espèces dominantes (McKinney & Lockwood 1999 ; Olden & Rooney 2006). Cette homogénéisation des communautés peut s'effectuer au niveau 1) taxonomique, avec les espèces généralistes cosmopolites qui seront retrouvées dans la plupart des villes du monde (Soanes & Lentini, 2019) alors que les espèces spécialistes auront tendance à disparaître (Barnum et al., 2017), 2) génétique, avec une augmentation de la similarité entre les pools de gènes ; et 3) fonctionnel, avec la sélection d'espèces possédant des traits biologiques similaires et jouant le même rôle dans l'écosystème (Olden & Rooney 2006) .

2 Les sols et leur biodiversité en manque de considération

2.1 Le sol

Un élément essentiel est souvent négligé et laissé de côté dans les mesures de conservation, alors qu'il représente la base de tous les services écosystémiques rendus par les espaces verts (Pouyat et al., 2020). Sans cet élément essentiel qui sert de point de liaison et de support aux espaces verts, ces derniers ne pourraient pas exister. Nous parlons bien évidemment du sol.

Il existe de nombreuses définitions du sol en fonction de la discipline étudiée, et ces définitions continuent d'évoluer au fil le temps (Hartemink, 2016). Pendant longtemps, les définitions prenaient en compte seulement la partie abiotique du sol et n'intégraient pas la biodiversité alors que celle-ci fait partie intégrante du sol. Une bonne définition du sol doit être inclusive, succincte, directe et précise. C'est pourquoi nous retiendrons la définition du sol qui a été décrite par Van Es en 2022 : « Des couches de matière minérale et/ou organique généralement peu compacte qui sont affectées par des processus physiques, chimiques et/ou biologiques à ou près de la surface de la planète et qui

contiennent généralement des liquides, des gaz et des organismes vivants, tout en soutenant la croissance des plantes ». Le sol est mis en place par les êtres vivants qui sont en interaction avec leur milieu, c'est donc un biomatériau qui reste à notre connaissance une exclusivité de notre planète. C'est une ressource non renouvelable à l'échelle de nos sociétés car sa formation est lente, voire très lente (Stockman et al., 2014) : selon les situations, il faut entre 100 et 1000 ans pour que se forme 1 cm de sol (Gascuel et al., 2023). C'est également une ressource menacée, car 33 % des sols de la planète présentent des problèmes évidents de dégradation (FAO & ITPS 2015 ; Amundson et al., 2015), avec une perte annuelle de 24 milliards de tonnes de sols fertiles (UNCCD 2014). Cette dégradation est causée par huit menaces majeures, à savoir l'artificialisation, la perte de matières organiques, le tassement des sols, l'acidification, les glissements de terrain et les inondations, la perte de biodiversité, l'érosion et les contaminations (Figure 4) (Maron & Ranjard, 2019).

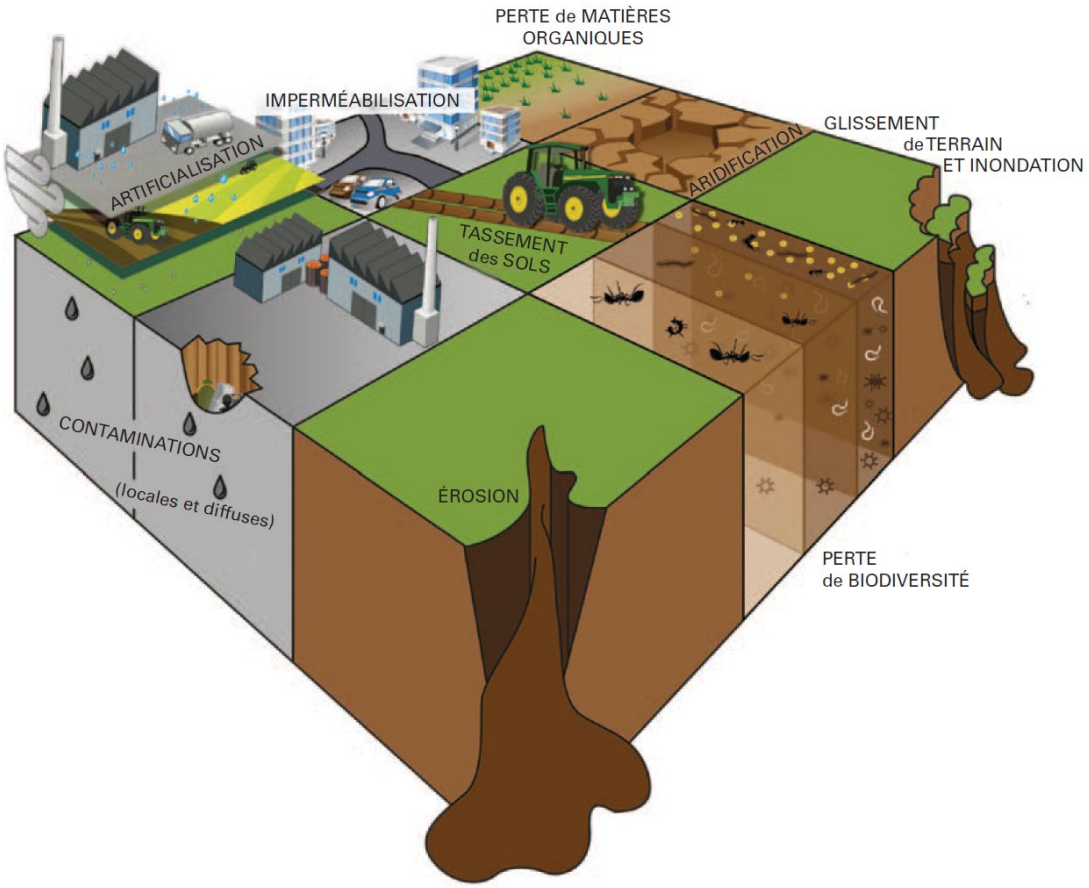


Figure 4 : illustration des huit menaces qui pèsent sur les sols (source : tiré de Maron & Ranjard, 2019).

Le sol est particulièrement vulnérable à l'urbanisation qui peut lui infliger des dégâts qui peuvent être irréversibles. Ces menaces incluent son artificialisation croissante due à l'expansion des zones urbaines et des infrastructures, avec notamment l'imperméabilisation du sol. Cette dernière est engendrée par la couverture permanente de matériaux artificiels tels que le béton et l'asphalte, empêchant les mouvements de l'air et de l'eau dans le sol, et entravant la croissance des plantes et la survie des

organismes (Chen et al., 2016). De plus, certains usages associés à l'urbanisation, tels que les activités industrielles, routières et ménagères, génèrent des effets néfastes sur le sol, entraînant sa pollution, sa compaction, et l'exportation de matières organiques (Bonu & Stuiver, 2023). Ces impacts compromettent *in fine* la capacité du sol à fournir des services écosystémiques essentiels (Figure 5).

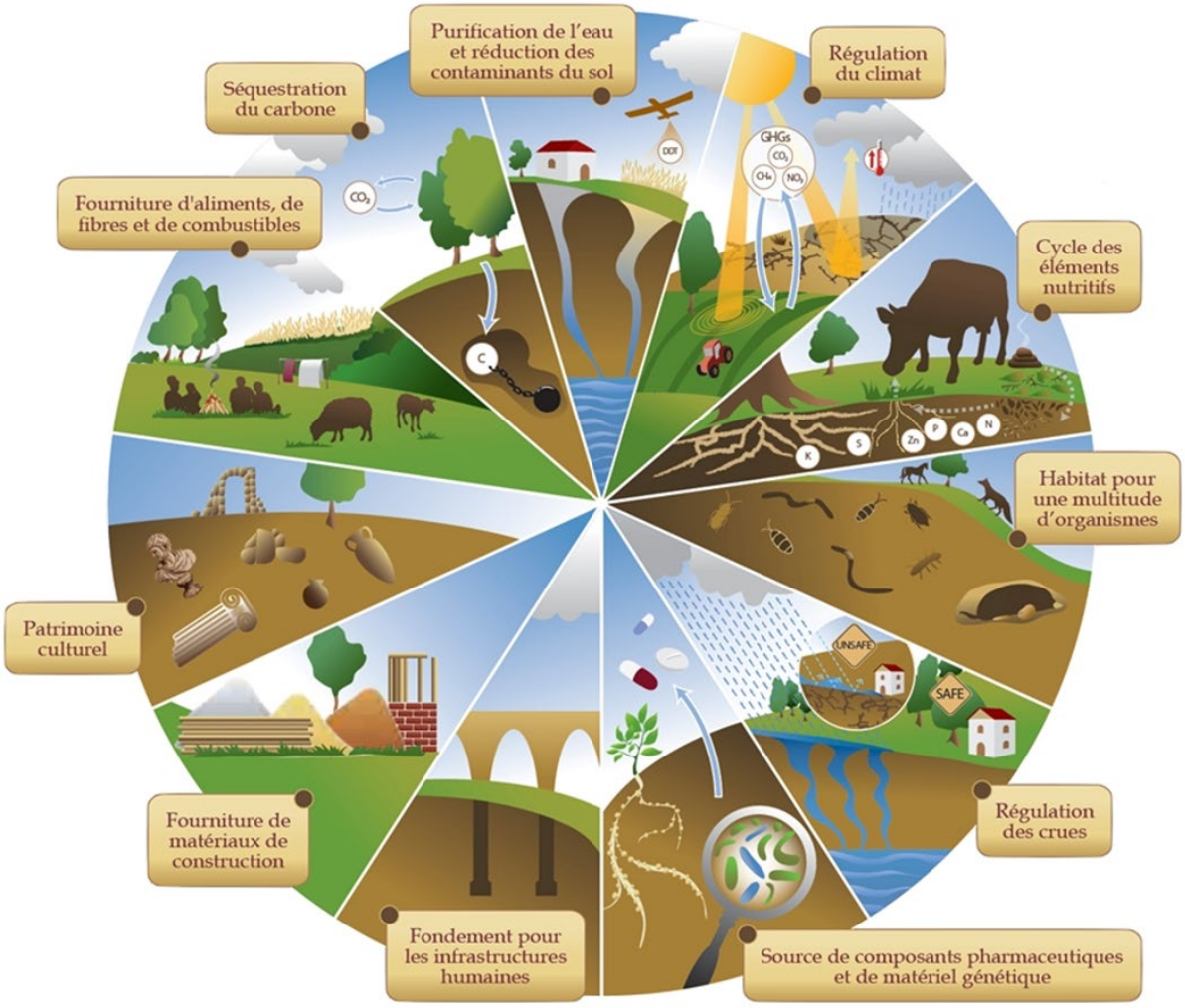


Figure 5 : les nombreux services écosystémiques fournis par les sols (Source : modifié de FAO 2015, Les fonctions du sol).

En ville les sols subissent souvent des modifications très diverses causées par les activités humaines présentes et passées, ce qui se traduit par une grande hétérogénéité dans leurs propriétés physico-chimiques et biologiques. Les sols urbains, définis comme tout sol appartenant à une aire urbaine, sont dans leur grande majorité des sols anthropisés, dont les propriétés et la pédogenèse sont dominées par leur origine anthropique. Ils se caractérisent soit par de fortes quantités d'artéfacts, soit par un scellement anthropique en surface ou en profondeur (IUSS, 2014). Cependant, les sols urbains peuvent également être d'origine naturelle. La proportion de sols anthropisés par rapport aux sols naturels au sein des sols urbains peut varier significativement d'une aire urbaine à l'autre (Blanchart et al., 2017). Les sols anthropisés présentent une grande hétérogénéité, principalement due à l'addition de divers

matériaux d'origine anthropique, parfois mélangés à des matériaux naturels (Figure 6). Cela créé des types de sols qui diffèrent considérablement des sols naturels, étant alors qualifiés de Technosols selon le World Reference Base (WRB, 2014) ou d'Anthroposols selon la classification française (Baize & Girard, 2008). Les Technosols sont constitué à plus de 20% (en volume ou en masse) de matériaux artificiels tels que des débris de construction, des sédiments, des déchets ou tout autre substances liquides ou solides, reconnues comme fabriquées ou extraites par l'homme (Rossiter, 2007). Les Anthroposols, quant à eux, sont des sols d'origine naturelle tellement transformés, modifiés, fabriqués, ou reconstitués par l'Homme sur au moins 50 cm d'épaisseur (Baize & Girard, 2008) que le sol originel n'est plus reconnaissable ou bien a acquis de nouvelles morphologies ou propriétés qui ne permettent plus son rattachement à d'autres références. Cela peut impliquer des modifications de la configuration du sol par des excavations et des remblais, l'ajout ou l'extraction de matières organiques, ainsi que des irrigations de longue durée. Malgré les impacts des activités humaines, les sols urbains sont indispensables à la viabilité des sociétés humaines en raison de leur capacité à fournir une large gamme de services écosystémiques. Cependant, ils demeurent une ressource insuffisamment prise en compte dans la conception et la construction de villes durables (Morel et al., 2015). De plus, les stratégies visant à améliorer la santé du sol dans le développement urbain restent limitées (Bonu & Stuiver, 2023).



© Florentin, Huot, Morel, Nehls, Schwartz, Séré

Figure 6 : photographies de différents sols urbains qui illustrent leur grande diversité (Source : modifié de Morel et al., 2015).

2.2 La biodiversité du sol

En raison de la diversité de leurs propriétés physico-chimiques, de leur structure tridimensionnelle et de leurs conditions microclimatiques, les sols abritent une grande variété d'organismes. Il a été estimé que les sols abriteraient environ 59 ± 15 % des espèces sur Terre (Anthony et al., 2023), dont la plupart n'ont pas encore été caractérisées ni même identifiées. La diversité de la pédofaune est couramment classée en différentes catégories en fonction de la taille des organismes. Nous retrouvons ainsi la macrofaune, comprenant des organismes visibles à l'œil nu (taille supérieure à 2mm), tels que les vers de terre et les fourmis. Ensuite, la mésofaune, qui inclut des organismes de taille intermédiaire (entre 100µm et 2mm), tels que des acariens et des collemboles, et qui sont visibles à l'aide d'une loupe. La microfaune (inférieure à 100µm), constituée de protozoaires et de nématodes (Figure 7) (Blanchart et al., 2023). En général, on en sait peu sur la biodiversité du sol, car le sol de par sa nature opaque limitant les possibilités d'observations "simples", partage certaines caractéristiques de zone peu explorées, comme les fonds abyssaux et la canopée, qui constituent des frontières biotiques (André et al., 1994). Cela est particulièrement vrai pour les sols en milieux urbains car ils ont été moins étudiés que les sols en milieux non-urbains (Pouyat et al., 2010).

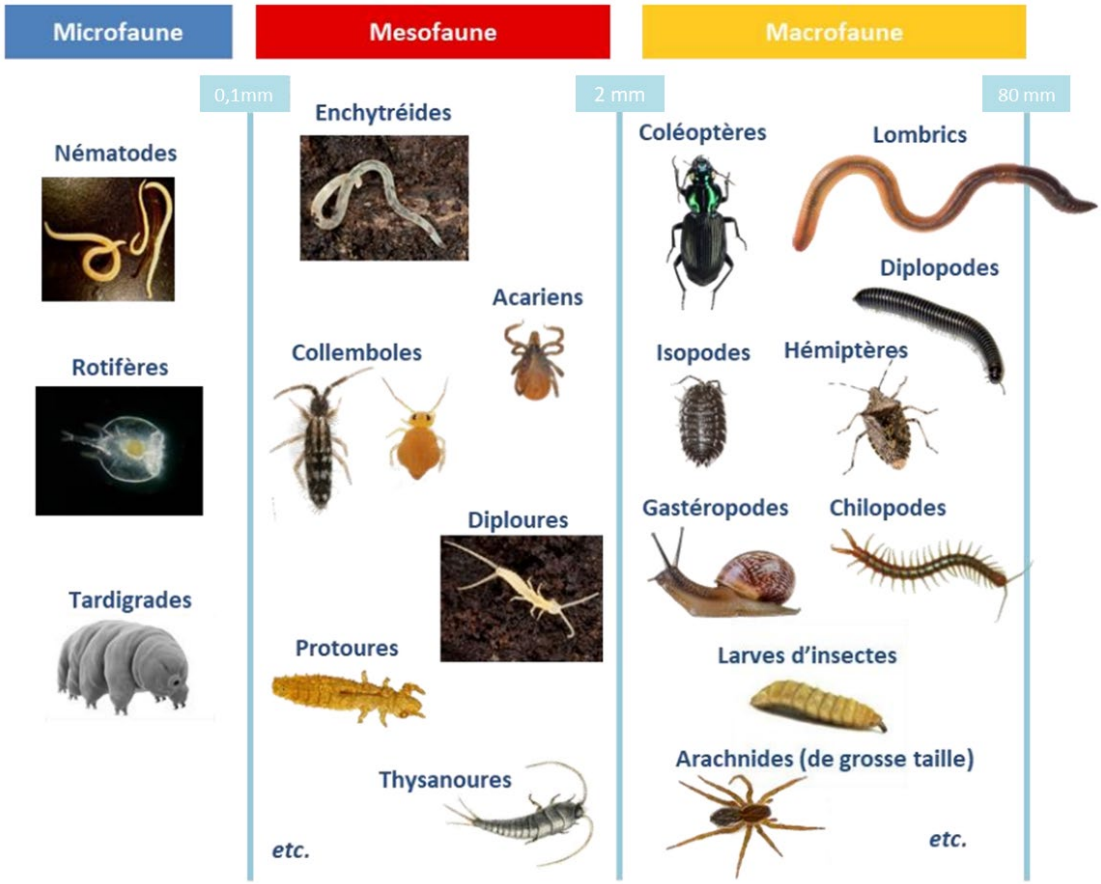


Figure 7 : schéma des différents groupes de la biodiversité du sol classés par taille. (Source : tiré de Vincent, 2018).

Encadré 1 : la protection du sol

Le destin des sols peut être présenté comme l'un des enjeux environnementaux les plus critiques de notre époque. Deux grandes activités sont en cause : l'agriculture intensive et la pression de l'urbanisation. Ainsi, en moyenne chaque année, 20000 hectares de sols sont artificialisés dont la majorité représente des sols agricoles (Steffan, 2023). Il y a eu une période stable en termes de rythme d'artificialisation entre 1997 et 2006 (~60 000 ha/an), puis une augmentation sensible en 2007 (70 000 ha) et un pic en 2008/2009 (> 90 000 ha) suivi d'une sensible diminution des surfaces artificialisées annuelles jusqu'à un rebond en 2013 (50 000 ha) confirmé en 2014 (Fontes-Rousseau & Jean, 2015). Malgré ces chiffres impressionnants la protection du sol contre l'artificialisation a longtemps été oubliée par le droit. Le droit est à l'image de l'approche sociétale du sol : une relative ignorance, un désintérêt certain, sauf lorsqu'il s'agit de propriété. Ou lorsque le sol est altéré, pollué retenant alors toute l'attention des juristes (Durousseau, 2001). Le sol est l'un des rares milieux naturels à ne faire l'objet d'aucune protection juridique dédiée alors que de nombreuses pressions s'exercent sur lui.

Cependant, la prise de conscience de l'importance du sol a conduit à la mise en place de différentes réglementations au niveau national, depuis 1976 et avec un rythme plus soutenu cette dernière décennie, pour aboutir au plan biodiversité du 4 juillet 2018 présenté à l'occasion du premier comité interministériel pour la biodiversité, duquel a découlé la loi climat et résilience de 2021 (LOI n° 2021-1104 du 22 août 2021). Cette loi se décline en deux phases : premièrement, une maîtrise de l'étalement urbain avec une division par deux du rythme de consommation nationale d'espaces naturels, agricoles et forestiers (ENAF) entre 2021 et 2031 par rapport à la période des dix années précédentes (2011-2021), ce qui se traduit par la possibilité tout de même d'artificialiser 125 000 ha. Et deuxièmement une protection des sols y compris dans les espaces déjà urbanisés par la poursuite de cette réduction jusqu'à l'atteinte en 2050 du zéro artificialisation net (Steffan et al., 2023) (Tableau 1). En 2023, cette loi a cependant fait l'objet d'une réévaluation en raison de critiques émises par des élus locaux la jugeant trop contraignante. Par conséquent, une nouvelle loi a été adoptée le 20 juillet 2023 (LOI n° 2023-630 du 20 juillet 2023) dans le but de faciliter la réalisation des objectifs de lutte contre l'artificialisation des sols. Cette nouvelle législation restreint le champ d'application de la loi précédente et accorde le droit à chaque commune d'artificialiser jusqu'à 1 hectare avant 2031.

Tableau 1 : chronologie des dispositions en faveur de la réduction de l'artificialisation des sols (modifié de Steffan et al., 2023)

Année	Loi	Dispositions
1976	Loi de protection de la nature	Introduit la séquence "éviter-réduire-compenser" visant à supprimer, réduire, puis si possible, compenser les conséquences dommageables pour l'environnement des projets d'aménagement
1985	Loi Defferre de décentralisation	Affirme que "le territoire français est le patrimoine commun de la nation" et hisse la gestion économe des sols au rang des objectifs des collectivités
1985-86	Loi Montagne et Loi Littoral	Limitent la bétonisation de ces territoires spécifiques, en restreignant l'urbanisation uniquement en continuité avec les agglomérations et villages existants
2000	Loi SRU	Crée les documents d'urbanismes - SCoT et PLU(i) - qui planifient et assurent l'équilibre entre le "développement urbain" et la "préservation des espaces"
2010	Loi Grenelle II	Incite les collectivités territoriales à dessiner un projet de territoire prévoyant la baisse de la consommation d'espace, mais sans fixer de contraintes
2014	Loi ALUR et LAAF	Imposent d'analyser les capacités de densification au sein des documents d'urbanismes et de sectoriser les objectifs de consommation d'espace dans les SCoT
2016	Loi pour la reconquête de la biodiversité	Reconnaît la protection des sols d'intérêt général, en les intégrant au patrimoine commun de la nation. Fixe l'objectif chiffré de Zéro Perte Nette de Biodiversité qui renforce la séquence ERC
2018	Plan biodiversité	Fait le vœu de "freiner l'artificialisation des espaces naturels et agricoles et reconquérir des espaces de biodiversité partout où cela est possible"
2021	Loi Climat et résilience	Fixe deux objectifs chiffrés : la réduction de moitié de la consommation d'espace naturel d'ici 2031 puis l'atteinte du Zéro Artificialisation Nette en 2050
2023	Loi Zéro artificialisation nette	Vise à faciliter la mise en œuvre des objectifs de lutte contre l'artificialisation des sols et à renforcer l'accompagnement des élus locaux

3 De l'importance de l'échelle d'étude pour comprendre l'assemblage et la dynamique des communautés biologiques urbaines

3.1 La théorie des filtres

Une communauté en écologie peut être définie comme un ensemble de populations animales, végétales et de microorganismes qui vivent dans une aire donnée, à un moment donné, et qui interagissent. L'assemblage des communautés en milieu urbain peut être conceptualisé en appliquant la théorie des filtres (Lortie et al., 2004), qui stipule que la présence ou non d'espèces provenant d'un pool d'espèces régionales dans un milieu donné est déterminé par des processus agissant à différentes échelles spatio-temporelles. La structure des communautés résulte de la sélection des espèces et plus particulièrement de leurs traits, par une succession de grands filtres écologiques : le filtre biogéographique, le filtre paysager, puis le filtre local et enfin le filtre biotique (Encadré 2).

Encadré 2 : Les différents filtres écologiques

A partir d'un pool global d'espèces observé à relativement grande échelle (régionale, continentale), le filtre biogéographique sélectionne les espèces en fonction des phénomènes d'extinction et de spéciation, qui se produisent sur des périodes de temps longues.

Le filtre paysager sélectionne les espèces selon leurs capacités de dispersion. Le filtre paysager est fort en ville car l'urbanisation a entrainé la fragmentation et l'isolement des habitats ; de plus ces habitats peuvent être entourés par des barrières physiques, constituées de surfaces imperméabilisées et de bâtiments plus ou moins imposants et qui peuvent être infranchissables pour de nombreuses espèces. Ainsi, dans les études en milieu urbain, beaucoup s'appuient sur les concepts de la théorie de la biogéographie insulaire (TIB, MacArthur and Wilson, 1967) pour expliquer l'assemblage des espèces, car certains habitats, de par leur niveau d'isolement et leur taille au sein de la ville, peuvent être comparés à des îles au milieu d'un océan de zones bâties (Faeth, 1978 ; Mazrzluff, 2005).

Le filtre local va ensuite sélectionner les espèces en fonctions de leurs préférences écologiques, ce qui rejoint le concept de la niche écologique développé par Hutchinson (1957). Dans un premier temps les conditions environnementales abiotiques au niveau local, comme par exemple la température, l'humidité, le pH ou encore la présence de différentes strates de végétation, modifiant ces conditions abiotiques, vont sélectionner les espèces qui tolèrent et peuvent se développer dans ces conditions ; cela correspond à la niche fondamentale.

Ensuite même si les conditions environnementales sont idéales, les espèces seront filtrées par les interactions biotiques qui auront lieu avec les autres espèces présentes localement, notamment à travers la compétition interspécifique, ce qui réduira la niche fondamentale à la niche réalisée (Figure 8) (Pulliam, 2000).

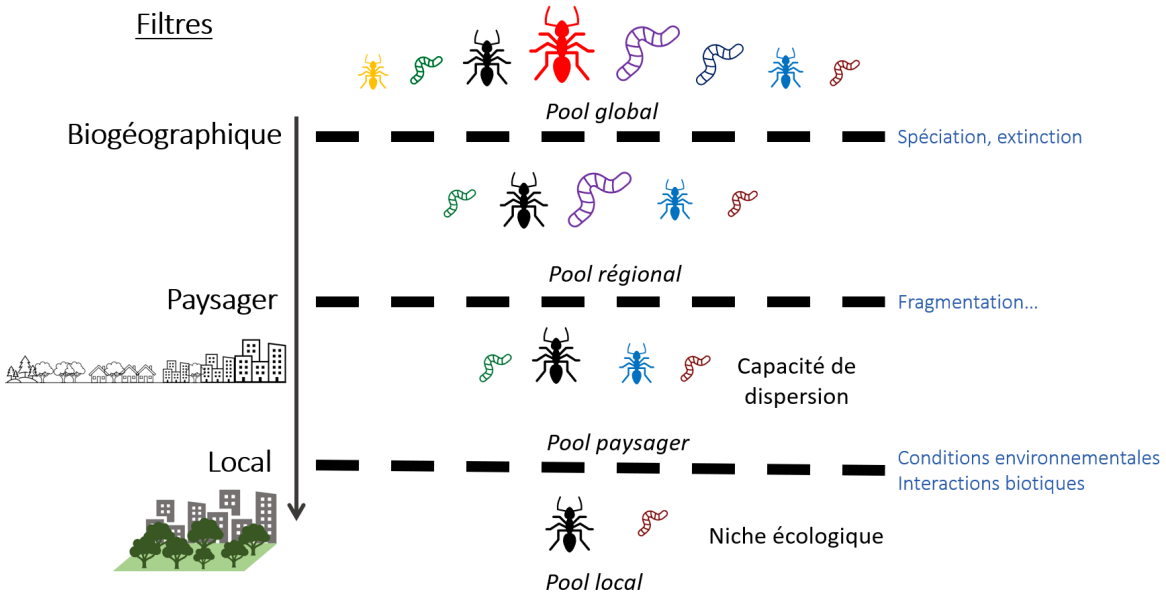


Figure 8 : règles d'assemblages des communautés selon la théorie des filtres (Lortie et al., 2004).

3.2 Les gradients d'urbanisation

Afin de mesurer les effets des différents filtres en milieu urbain sur l'assemblage des communautés, il est nécessaire de travailler selon une approche multi-échelles. En effet, étudier les différentes échelles spatiales simultanément permet d'obtenir les informations les plus complémentaires et précises sur les différents processus d'assemblage des communautés en milieu urbain.

Pour étudier les réponses à l'urbanisation, qui est un processus spatio – temporel, il serait nécessaire de réaliser des études sur le long terme en réalisant par exemple le suivi d'un habitat urbain au cours du temps, ce qui correspond à une démarche diachronique (Figure 9). Cependant cela n'est que rarement réalisable, faute de dispositifs de suivis à long terme de la biodiversité urbaine. Pour résoudre ce problème de temporalité dans la prise en compte de ce processus, de nombreuses études en écologie urbaine se sont basées sur les travaux de McDonnell et Pickett (1990) qui proposent d'appliquer le concept de gradient pour l'urbanisation. Ce concept permet une approche synchronique (Figure 9) afin de décrire les patrons de distribution d'espèces dans plusieurs sites distribués le long d'un gradient d'urbanisation. Cette approche permet d'étudier simultanément l'effet de différents niveaux d'urbanisation en partant des milieux les plus urbanisés jusqu'aux moins urbanisés.

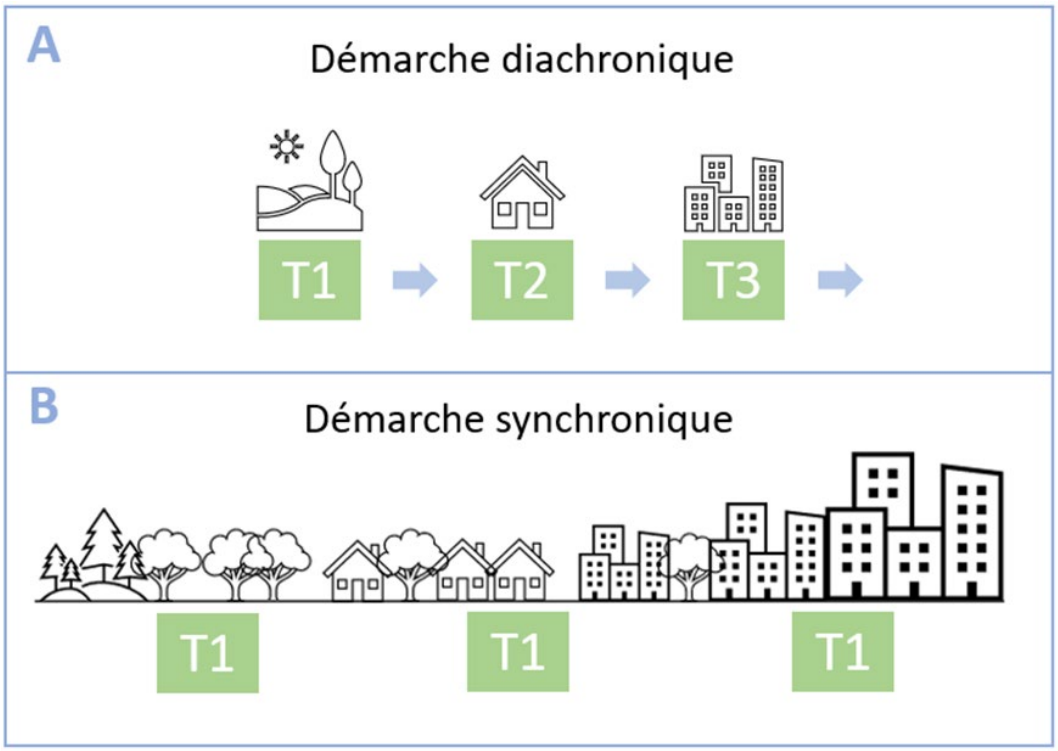


Figure 9 : la démarche diachronique (A) permet un suivi au cours du temps (T1, T2, T3…) des effets des changements induits par l'urbanisation sur des communautés d'organismes au sein d'un même habitat urbain. La démarche synchronique (B) au contraire permet une étude simultanée de plusieurs habitats (T1) urbains entouré par différents niveaux d'urbanisation.

Un gradient d'urbanisation se caractérise par la création progressive de nouveaux usages du sol liés aux activités humaines, entraînant des altérations physiques et chimiques de l'environnement susceptibles de modifier l'assemblages des espèces (McDonnell & Hahs 2008). Il se mesure généralement en fonction du pourcentage de bâti, ou plus largement de surfaces imperméabilisées autour des sites qui sont censées varier de manière prévisible en fonction de leur distance par rapport au centre-ville. En effet, la grande majorité des villes sont décrites comme des agglomérations monocentriques avec des anneaux concentriques de développement entourant un centre-ville dense. En fonction des niveaux de développement urbain observés le long du gradient, on peut distinguer 3 zones différentes : la zone périurbaine, la zone suburbaine et le centre urbain (Figure 10).

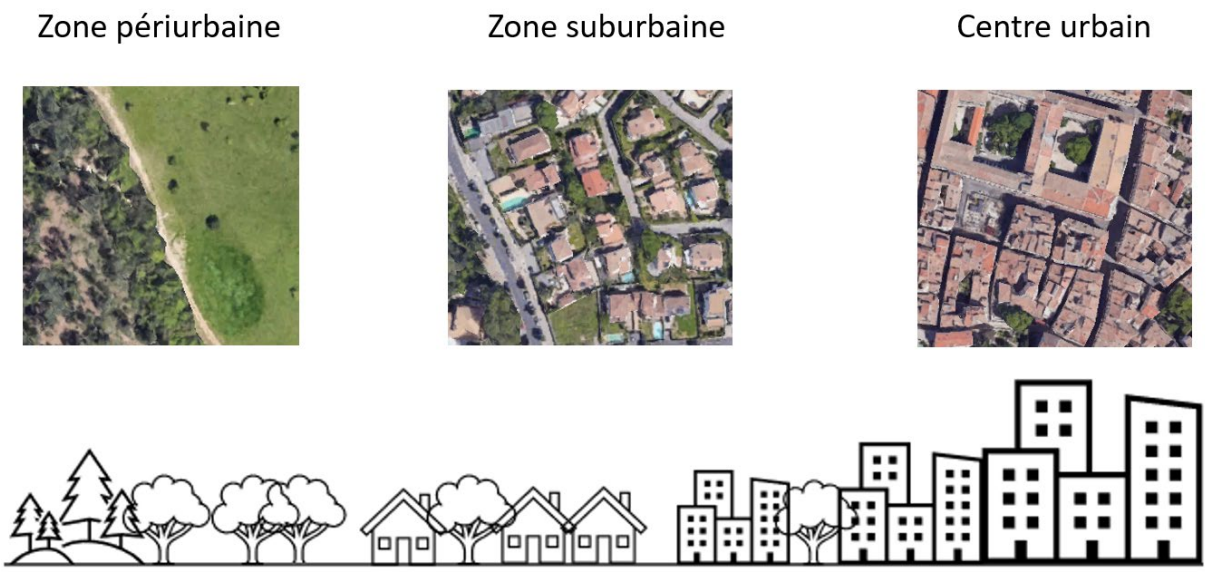


Figure 10 : représentation du gradient d'urbanisation, avec des photos satellites aériennes représentant un exemple des paysages caractéristiques des différentes zones ; périurbaine, suburbaine et centre urbain.

Zone périurbaine : cette zone correspond à la périphérie de la ville où le paysage est généralement dominé par des habitats naturels et des parcelles agricoles.

Zone suburbaine : Cette zone est située sur une position intermédiaire entre la zone périurbaine et le centre urbain. Elle est composée de quartiers résidentiels incluant des maisons individuelles avec jardins, des bâtiments collectifs avec des espaces verts (souvent plus grands mais moins nombreux que les jardins individuels), ainsi que des zones industrielles et des friches. Cela résulte en un paysage très hétérogène avec des alternances de bâti et d'espaces verts.

Centre urbain : Cette zone est la plus urbanisée du gradient et correspond au centre historique de la ville. Au milieu d'un réseau dense de bâtiment et de route, on retrouve de rares espaces verts de petite taille et souvent plus anciens que les espaces verts suburbains.

Cependant, cette approche catégorielle des niveaux d'urbanisation ne permet pas de prendre en compte toute la complexité du gradient d'urbanisation. En effet, les niveaux d'urbanisation du centre-ville à la périphérie diminuent rarement de manière uniforme ; on observe le plus souvent une organisation polycentrique de la ville avec des alternances de zones densément urbanisées et peu urbanisées qui peuvent apparaître tout au long du gradient. Pour caractériser un gradient d'urbanisation, il est alors préférable d'utiliser une métrique continue des niveaux d'urbanisation en calculant le pourcentage de couverture de zones imperméabilisées entourant chaque site d'étude.

Encadré 3 : L'apport de la génétique et de la phylogéographie dans la compréhension des systèmes urbains

L'urbanisation est considérée comme une nouvelle force sélective qui impose des pressions uniques à différentes échelles, modifiant ainsi les schémas de variations génétiques au sein des populations d'organismes qui occupent la ville (Johnson et Munshi-South, 2017). Il a longtemps été considéré que l'évolution était trop lente pour être étudiée sur des échelles de temps compatibles avec l'urbanisation qui est un processus plus rapide (Johnson & Munshi-South, 2017). Cependant, il est désormais reconnu que l'évolution peut être rapide, avec des changements évolutifs observables en seulement deux générations (Kinnison & Hendry, 2001).

Les dynamiques écologiques et évolutives qui se produisent chez les espèces que l'on retrouve dans ces environnements anthropisés peuvent donc être explorées d'un point de vue génétique pour étudier les effets de l'urbanisation sur les variations de la diversité génétique et de la structure des populations (Fusco et al., 2021). L'écologie évolutive urbaine et l'écologie urbaine sont des disciplines étroitement liées, car les changements écologiques en réponse à l'urbanisation sous-tendent les évolutions au sein des populations (Rivkin et al., 2019). Parmi les analyses génétiques que l'on peut réaliser, les analyses phylogéographiques, qui combinent les relations entre gène, généalogie, phylogénétique et géographie (Avise, 2000), apportent une perspective unique à la compréhension écologique des milieux urbains. Elles permettent d'examiner la répartition des lignées génétiques intra et interspécifiques dans un contexte géographique défini (Avise, 2000), et de reconstruire l'histoire des populations au sein de ces environnements transformés par l'urbanisation. Elles permettent de mettre en lumière la façon dont les espèces se sont adaptées aux défis posés par les villes, comme la fragmentation de l'habitat, la pollution et d'autres perturbations anthropiques ; en effet certains processus comme la fragmentation vont laisser des empreintes dans la « mémoire génétiques des populations » (Vandergast et al., 2007 ; Drees et al., 2008). De plus, en étudiant les schémas de divergence génétique, les flux de gènes et les liens entre les populations dans des régions urbaines, il est possible d'identifier les corridors potentiels de dispersion et d'introduction pour la faune et la flore, contribuant ainsi à la planification de la conservation des espèces ou à la lutte contre les espèces envahissantes. Ces analyses phylogéographiques peuvent ainsi jouer un rôle clé dans l'élaboration de stratégies visant à préserver la biodiversité urbaine tout en tenant compte de l'évolution et de la génétique des espèces qui cohabitent avec nous au sein des villes modernes.

4 Modèle d'études : vers de terre et fourmis

4.1 Ingénieurs des écosystèmes

Les ingénieurs des écosystèmes jouent un rôle essentiel dans la stabilité et la fonctionnalité des environnements naturels. Les espèces ingénieures des écosystèmes ont été définies par Jones et al. (1994) comme des « organismes qui contrôlent directement ou indirectement la disponibilité en ressources d'autres organismes en causant des changements d'état physique du matériel biotique ou abiotique, en modifiant, maintenant et/ou créant des habitats ». Ces organismes, par leurs activités, modifient l'environnement de manière significative, créant des conditions propices à la vie d'autres espèces. La compréhension du rôle des ingénieurs des écosystèmes est cruciale pour la conservation et la gestion durable des écosystèmes, car ils contribuent au maintien de l'équilibre et à la résilience des communautés biologiques.

Dans le cadre de cette thèse, nous avons choisi d'étudier deux organismes ingénieurs des écosystèmes, à savoir les vers de terre et les fourmis, qui jouent un rôle majeur au sein de l'écosystème du sol.

4.2 Les vers de terre

Les vers de terre (Figure 11) appartiennent à la sous-classe des Oligochètes, faisant partie du phylum des Annélides et sont représentés par environ 7000 espèces décrites dans le monde (Schaetzl & Thompson, 2015) mais seulement 23% des espèces auraient été décrites (Orgiazzi, 2016). Ces organismes sont généralement présents dans la plupart des sols de la planète à l'exception des sols trop acides ou sans eau liquide (sols arides et sols gelés), où les conditions ne sont pas réunies pour permettre leur survie. Les vers de terre peuvent être très abondants localement dans les sols en climat tempéré, avec parfois plus de 150 vers de terre par mètre carré, et une biomasse totale pouvant dépasser 1500 kg par hectare (Fierer, 2019). En France, on recense plus de 150 espèces de vers de terre (Bouché, 1972), mais le déploiement de nouveaux outils moléculaires a révélé l'existence de nouvelles espèces cryptiques dont la diversité était jusqu'alors insoupçonnée (Decaëns et al., 2013 ; Gérard et al., 2023). Le sud de la France est la zone la plus riche en espèces de vers de terre, avec de nombreuses espèces endémiques (Bouché, 1977). Ces niveaux élevés d'endémisme et de diversité des vers de terre pourraient s'expliquer par l'histoire géologique et climatique de la région (Chantraine et al., 1996). Il a également été suggéré que le sud de la France aurait servi de refuge en offrant des habitats favorables pour les populations de vers de terre lors des glaciations du Pléistocène tardif, qui ont agi comme un filtre environnemental très fort (Mathieu & Davies, 2014).



Figure 11 : ver de terre *Octodrilus complanatus* (Dugès, 1828) prélevé dans un jardin partagé de Montpellier (©Ambre Mautuit).

En tant qu'ingénieur du sol, les vers de terre assurent de nombreuses fonctions essentielles en influant sur la structure et la composition du sol. Lors de leurs déplacements et de leur alimentation, ils mélangent et déplacent le sol, créant des structures biogéniques telles que les turricules et les galeries (Blanchart et al., 1997 ; Lavelle, 1988). Les vers de terre jouent également un rôle clé dans l'enfouissement de la matière organique en se nourrissant des litières aériennes, modifiant ainsi la composition du sol (Lemtiri et al., 2014). Ils contribuent ainsi à la bioturbation (Meysman et al. 2006) en transportant le sol et la matière organique d'un endroit à un autre. Cette bioturbation participe à un large éventail de processus tels que la structuration et la formation des sols, la décomposition de la matière organique, le cycle des nutriments et la régulation des échanges d'eau et de gaz (Lavelle et al, 2006 ; Blouin et al., 2013).

En fonction de leur morphologie, de leur comportement, de leur alimentation, des micro-habitats créés dans le sol, les vers de terre sont souvent regroupés en trois catégories fonctionnelles, comme décrit par Bouché (1977). La première catégorie correspond aux épigés et comprend les espèces qui vivent à la surface du sol ou dans la litière et se nourrissent de divers débris végétaux. Etant donné que

ces vers vivent à la surface du sol ils sont plus exposés aux menaces extérieures comme les prédateurs ou les activités humaines, et ont une stratégie de type r avec une durée de vie courte de 1 à 2 ans et un taux de reproduction élevé. La seconde catégorie correspond aux endogés, qui vivent plus profondément dans le sol et sont géophages, c'est-à-dire qu'ils se nourrissent d'un mélange de matières organiques plus ou moins dégradées et de matières minérales qu'ils ingèrent en se déplaçant, creusant des galeries horizontales dans le sol. La troisième catégorie correspond aux anéciques, qui exploitent à la fois la surface et la litière comme source de nourriture, redistribuant ces ressources en profondeur grâce aux galeries verticales permanentes qu'ils creusent (Figure 12). Contrairement aux vers de terre épigés, les anéciques ont une stratégie de type K avec des espèces qui ont une longévité plus élevée entre 4 et 8 ans, et un taux de reproduction plus faible.

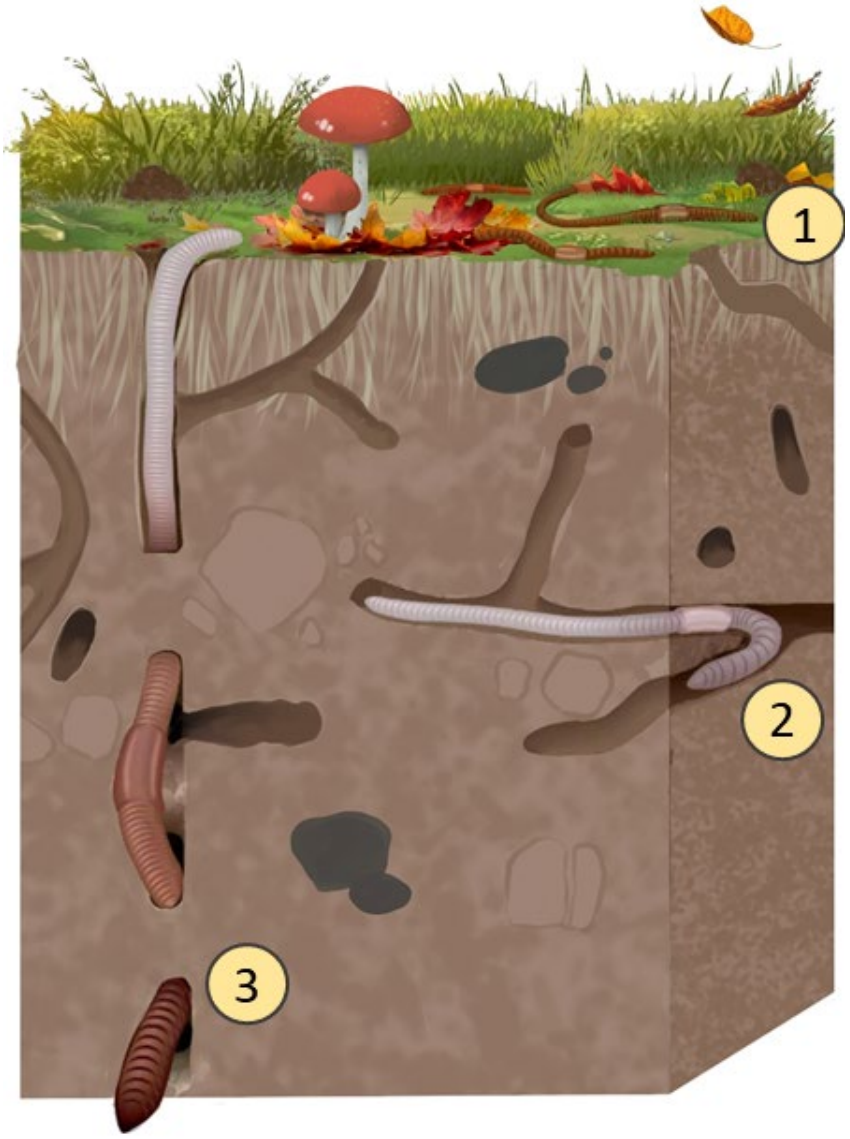


Figure 12 : distribution des différentes catégories écologiques de vers de terre dans le sol avec 1) les épigés, 2) les endogées, et 3) les anéciques (Source : modifié du schéma de C. Tèche pour Le Parisien).

Cependant, le classement des vers de terre selon ces trois catégories présente des limites, car certaines espèces peuvent appartenir à plusieurs catégories. Pour surmonter ce problème, des travaux récents ont suggéré que chaque espèce soit associée à un pourcentage d'appartenance à chaque catégorie plutôt qu'à une catégorie spécifique (Bottinelli et al., 2020).

4.3 Les fourmis

Les fourmis (Figure 13) appartiennent à l'ordre des Hyménoptères, au sous-ordre des Apocrites, et à la famille des Formicidae. Ce sont les insectes sociaux les plus diversifiés en termes d'espèces, surpassant les termites et les abeilles sociales, avec plus de 16 000 espèces actuellement répertoriées (Bolton, 2020). Présentes dans tous les écosystèmes terrestres à l'exception des zones polaires (Antarctique et Groenland), les fourmis figurent parmi les organismes les plus abondants sur Terre (Hölldobler & Wilson 1990). Sur terre, il a été estimé qu'il existe environ 20 quadrillions de fourmis, représentant une biomasse totale de 12 mégatonnes de poids sec. Cela dépasse la biomasse combinée des oiseaux et des mammifères sauvages et équivaut à 20 % de la biomasse humaine (Schultheiss et al, 2022). En France, plus de 215 espèces de fourmis sont répertoriées et le département de l'Hérault (incluant Montpellier la ville d'étude de cette thèse) abrite près de la moitié de la faune de fourmis française, avec 119 espèces répertoriées (Antarea, 2023). Cette diversité peut s'expliquer par le fait que ce département est soumis à un climat de type méditerranéen favorable pour les fourmis, un groupe qui particulièrement diversifié dans les habitats chauds et secs (Dunn et al., 2009).

Comme les vers de terre, les fourmis sont des ingénieurs des écosystèmes qui participent à la bioturbation lors de la construction de galeries au sein de la fourmilière, en modifiant les propriétés du sol par l'enfouissement de la matière organique en ramenant de la nourriture dans la fourmilière (Nkem et al., 2000 ; Cammeraat et al., 2008). Les fourmis jouent également des rôles importants au sein de l'écosystème aérien lors de la recherche de nourriture et des interactions (mutualisme, prédation, compétition) qu'elles peuvent avoir avec de nombreux organismes vivants, comme la défense des plantes, la dispersion des graines, et la régulation des herbivores (Underwood & Fisher, 2006 ; Parr et al., 2016).

Comme pour les vers de terre les fourmis ont également été classées dans différents groupes fonctionnels grâce aux travaux d'Andersen en 1997, ces groupes ont été définis en fonction de leurs préférences alimentaires et thermiques, de leur habitat, de leur comportement et de leur niveau d'interaction avec les autres fourmis. On retrouve par exemple le groupe des espèces spécialisées des climats froids qui ont une répartition centrée sur la zone tempérée fraîche et qui sont plus abondantes dans les habitats où les fourmis dominantes ne sont généralement pas abondantes. Le groupe des espèces cryptiques qui rassemble les fourmis qui recherchent leur nourriture dans la litière et qui ont

peu d'interaction avec les fourmis épigées, ou encore le groupe des fourmis généralistes qui sont des espèces cosmopolites que l'on retrouve dans la plupart des habitats, avec un recrutement rapide qui s'effectue vers des ressources alimentaires et une défense efficace de ces ressources (Hoffman et Andersen, 2003 ; Andersen, 1997). Ces groupes ont été développés pour des espèces d'Australie, mais ils ont également été utilisés dans d'autres études avec différents contextes climatiques.



Figure 13 : fourmis *Camponotus cruentatus* (Latreille, 1802) et leur couvain trouvé sous une pierre en garrigue dans les alentours de Montpellier (©Ambre Mautuit).

4.4 Intérêt de l'approche multi-taxon fourmis-vers de terre

Nous avons vu précédemment que les vers de terre et les fourmis partagent le point commun d'être des organismes étroitement liés au sol, jouant des rôles cruciaux dans son fonctionnement. Cependant, malgré cette similitude, ces organismes présentent des différences marquées (Tableau 2) qui peuvent influencer et faire diverger leurs réponses face à différentes perturbations environnementales. L'une des distinctions majeures pouvant faire diverger leur réponse réside dans leurs régimes alimentaires. Les vers de terre se nourrissent principalement de sol et de matière organique en décomposition (Bouché, 1972), tandis que les fourmis, de manière générale, adoptent un régime omnivore, bien que certaines espèces puissent avoir des régimes spécialisés axés sur la consommation de graines ou d'insectes (Hölldobler & Wilson, 1990). Ces différences alimentaires peuvent influencer la sensibilité des espèces aux changements environnementaux. Certains régimes

sont plus flexibles, permettant aux espèces de s'adapter efficacement aux perturbations urbaines, tandis que d'autres peuvent rendre les espèces plus vulnérables à ces changements.

Au niveau de leur capacité de dispersion, il existe également des différences importantes. En effet, les vers de terre, dépourvus de pattes et possédant un corps mou et plus ou moins cylindrique, se déplacent principalement par reptation en creusant des galeries dans le sol (Bouché, 1972). La dispersion active des vers de terre est donc généralement très limitée, estimée entre 5 et 10 mètres par an, ce qui équivaut à environ 0,5 à 1 kilomètre tous les 100 ans (Hale et al., 2006). Cette expansion lente des populations signifie que ces animaux restent souvent au même endroit pendant des périodes prolongées, étroitement liés à leur habitat et à leur région géographique (Omodeo & Rota, 2008). Cependant, des mécanismes de dispersion passive tels que la zoochorie, l'eau et les activités humaines peuvent permettre des déplacements sur de longues distances (Eijsackers, 2011 ; Costa et al., 2013 ; Dupont et al., 2015). Dans les environnements urbains, par exemple, les vers de terre et leurs cocons peuvent être involontairement transférés par le transport du sol ou du gravier pendant la construction ou la plantation de plantes en pot, ou lorsque les cocons adhèrent aux pneus ou à d'autres parties des véhicules (Cameron et al., 2008). Ce type de transport passif a facilité la distribution de plusieurs espèces cosmopolites dans le monde entier, les conduisant même à devenir des espèces envahissantes dans certaines localités (Blakemore et al., 2009).

Les fourmis présentent des capacités de dispersion diverses (Hakala et al., 2019) mais généralement plus élevées que celles des vers de terre. En effet, la plupart des espèces de fourmis produisent soit des reines ailées soit des reines aptères. Les reines ailées se dispersent sur de longues distances en volant et fondent de nouvelles colonies en solitaire (Hakala et al., 2019), tandis que les reines aptères se dispersent à pied sur de courtes distances et fondent de nouvelles colonies avec des ouvrières apparentées (fission de la colonie). Cependant, les données sur les capacités de dispersion des fourmis sont limitées à quelques espèces (Helms, 2017 ; Hakala et al., 2019). De plus, certaines espèces de fourmis peuvent également se disperser passivement, étant transportées involontairement par des vecteurs tels que le vent, d'autres animaux ou même les activités humaines (Moller, 1996 ; Bertelsmeier et al., 2016), devenant envahissantes dans certain cas. Les espèces dotées de capacités de dispersion élevées sont mieux adaptées pour coloniser rapidement les environnements urbains en mutation, favorisant ainsi la connectivité entre les fragments d'habitats et le flux génétique, contribuant au maintien de la biodiversité. En revanche, celles avec une dispersion limitée peuvent être plus sensibles aux modifications de leur habitat. Compte tenu des menaces pesant sur les populations naturelles, telles que la fragmentation de l'habitat, les changements climatiques, et la propagation des espèces envahissantes, la dispersion est reconnue comme un élément clé dans la planification de la conservation (Pressey et al., 2007).

Etant donné que les vers de terre et les fourmis interagissent directement avec le sol, et qu'ils présentent des caractéristiques différentes (Tableau 2), leur étude conjointe peut fournir des indices complémentaires sur l'état général des écosystèmes urbains. Ces informations sont indispensables pour la gestion durable et la conservation de la biodiversité en milieu urbain. De plus, les vers de terre et les fourmis représentent d'excellents bioindicateurs des changements aux niveaux biotiques, abiotiques et fonctionnels des écosystèmes (Folgarait, 1998 ; Decaëns & Jiménez, 2002). Ils sont également présents en nombre dans la plupart des habitats, et leur échantillonnage est relativement simple et économique (Paoletti, 1999 ; Andersen et Majer, 2004 ; Underwood et Fisher, 2006).

Tableau 2 : comparaison des principales caractéristiques des vers de terre et des fourmis

Caractéristiques	Vers de terre	Fourmis
Taxonomie	Annélides appartenant à la classe des Oligochètes	Insectes appartenant à l'ordre des Hyménoptères
Morphologie	Corps allongé, sans pattes, segmenté	Corps divisé en trois parties distinctes (tête, thorax, abdomen), avec six pattes
Mode de déplacement	Se déplacent en rampant et en creusant des galeries dans le sol	Marche et vol pour certaines espèces lors de la reproduction, déplacement souterrain et aérien
Habitat	Surtout présents dans le sol	Peuvent vivre dans des nids souterrains ou construits en hauteur (végétation, bâtiments…)
Alimentation	Se nourrissent de matière organique présent à la surface ou dans le sol	Régime varié en fonction des espèces, omnivore, granivore, insectivores, liquides sucrés…
Reproduction	Sexuée ou asexuée	Sexuée ou asexuée
Société	Généralement solitaire, mais certain présentent des comportements grégaires	Vivent en colonie organisée avec une division du travail et des castes (généralement : minors, et gyne)
Capacité de dispersion	Limitée, dépendante de leurs déplacements dans le sol, dispersion passive par l'homme possible	Certaines espèces possèdent une grande mobilité, pouvant coloniser de vastes zones, dispersion passive par l'homme possible

4.5 Connaissances sur leurs réponses face à l'urbanisation

Les communautés de vers de terre dans les espaces verts urbains (Figure 14) restent peu étudiées (Vergnes et al., 2017 ; Phillips et al., 2021). Moins d'une dizaine de travaux ont exploré l'impact de certaines variables environnementales dans ces espaces (Phillips et al., 2021), telles que les propriétés physico-chimiques du sol (Amossé et al., 2016 ; Vergnes et al., 2017 ; Audusseau et al., 2020). Par exemple, Audusseau et al. (2020) ont mis en évidence que l'abondance des juvéniles et des adultes, ainsi que la composition de la communauté, étaient significativement affectées par la pollution en éléments traces métalliques. Une étude a également montré que le degré de compaction du sol est corrélé négativement avec la biomasse et la densité des vers de terre (Pizl & Schlaghamersky, 2007). Ensuite, d'autres études ont démontré que l'âge du site était corrélé positivement avec la richesse spécifique (Amossé et al., 2016 ; Vergnes et al., 2017). L'usage du sol a également un effet sur les communautés de vers de terre (Li et al., 2020 ; Tóth et al., 2020) ; par exemple Tóth et al. (2020) ont montré que les forêts et les prairies urbaines étaient des habitats favorables pour les vers de terre, mais qu'ils observaient une similarité des assemblages de vers de terre en milieu urbain à travers différentes régions biogéographiques. La gestion du site a également un effet (Smetak et al., 2007 ; Morales et al., 2013 ; Vergnes et al., 2017). Par exemple, Smetak et al. (2007) ont observé que l'ajout d'engrais azotés dans les parcs urbains était associé à une augmentation de l'abondance des espèces anéciques. Enfin, trois études se sont intéressées aux propriétés du paysage (Vergnes et al., 2017 ; Xie et al., 2018 ; Maréchal et al., 2021). Par exemple, Xie et al. (2018) ont observé que le ratio de surface imperméable et d'espaces verts dans différentes zones tampons de 200 m à 1 km était négativement corrélé à une espèce anécique. Parmi l'ensemble des études citées précédemment, la grande majorité a été réalisée en climat continental humide et aucune d'entre elles n'a été menée en contexte méditerranéen.



Figure 14 : ver de terre anécique se déplaçant sur un trottoir à proximité d'un parc urbain de Montpellier (©Ambre Mautuit).

Dans l'ensemble, la compréhension de la réponse des fourmis à l'urbanisation (Figure 15) demeure limitée. On dénombre moins de 4% des 3000 études en écologie des fourmis (de l'anglais "ant ecology") abordant ce sujet (Santos, 2016). Cependant, des progrès notables ont été réalisés dans notre connaissance des communautés de fourmis le long des gradients d'urbanisation (McDonnel & Hahs, 2008), et à travers différents types d'espaces verts tels que des forêts urbaines ou des espaces ouverts avec des jardins partagés ainsi que des terrains inoccupés (Holway & Suarez, 2006 ; Thompson & McLachlan, 2007 ; Uno et al., 2010 ; Melliger et al., 2018). Plusieurs études ont démontré une diminution de la richesse spécifique le long des gradients d'urbanisation (Majer & Brown, 1986 ; Antonov, 2008 ; Uno et al., 2010). Cependant, cette tendance n'est pas uniforme car certaines espèces de fourmis généralistes et invasives présentent une augmentation le long du gradient d'urbanisation, semblant exploiter les modifications causées par le développement urbain (Melliger et al., 2018 ; Perez & Diamond, 2019 ; Vepsäläinen et al., 2008). Par conséquent, on observe généralement un changement dans la composition des espèces, caractérisé par une diminution des espèces spécialistes et une augmentation des espèces généralistes et invasives à mesure que les niveaux d'urbanisation s'intensifient (Uno et al., 2010 ; Perez & Diamond, 2019). Les conditions environnementales hétérogènes induites par l'urbanisation à différentes échelles peuvent expliquer ces résultats divergents. À l'échelle du paysage, la réponse des fourmis peut dépendre de la taille de l'habitat (Uno

et al., 2010 ; Melliger et al., 2018), et de la composition du paysage environnant avec des effets variables sur la richesse spécifique des fourmis (Forys & Allen, 2005 ; Sanford et al., 2009 ; Philpott et al., 2014). À l'échelle locale, de nombreux facteurs, y compris des variables liées à la végétation, aux propriétés physico-chimiques du sol ou aux conditions microclimatiques, peuvent influencer la richesse spécifique des fourmis et/ou la composition de la communauté (Holway & Suarez, 2006 ; Thompson & McLachlan, 2007 ; Uno et al., 2010 ; Melliger et al., 2018). Plus spécifiquement, la diversité des communautés de fourmis dans les espaces verts urbains a été observée comme différant significativement en fonction du type d'espace vert urbain, tel que les habitats ouverts par rapport aux boisements, avec une richesse spécifique significativement plus élevée dans les habitats ouverts (Clarke et al., 2008).



Figure 15 : essaimage de fourmis *Messor structor* (Latreille, 1798) sur un trottoir à proximité d'une pelouse de Montpellier (©Ambre Mautuit).

5 Problématisation et objectifs de la thèse

Comme évoqué précédemment, l'urbanisation fait partie des changements planétaires rapides d'origine anthropique. La nature des changements environnementaux qu'elle induit ainsi que la rapidité à laquelle se produisent ces changements en font une des principales menaces pour la biodiversité. L'étude de l'impact de l'urbanisation sur les organismes est donc essentielle dans un contexte de conservation de la biodiversité et de développement de villes écologiques et durables.

Dans l'état de l'art, nous avons constaté que différents concepts écologiques pouvaient s'appliquer en milieux urbains, notamment la théorie des filtres, la théorie des iles et l'homogénéisation biotique. Toutefois, du fait d'un manque de données sur une grande variété de taxons en milieu urbain d'une part, et une absence de prise en compte de la variabilité des situations contrastées intra urbaines, d'autre part, il semble nécessaire d'affiner ces théories, voire de les questionner à nouveau. Par ailleurs, plus généralement, nous avons constaté un manque d'études sur les vers de terre et les fourmis dans les milieux méditerranéens.

Ainsi, très rares sont les études qui se sont penchées sur plusieurs types d'usages du sol en contexte urbain méditerranéen. Les espaces verts ouverts comprennent une variabilité d'usages productifs ou non productifs et qui peuvent fortement conditionner un ensemble de modifications des conditions environnementales locales. Les espaces verts fermés peuvent également présenter une forte variabilité environnementale locale, conditionnée en grande partie par la la composition et la structure de la strate arborée. L'objectif principal de cette thèse est alors de répondre aux manques de littérature scientifique et d'améliorer les connaissances sur ces différents points, afin de mieux comprendre la réponse simultanée de deux grands groupes d'ingénieurs du sol face à l'urbanisation, les vers de terre et les fourmis, en prenant en compte la grande variabilité d'usages du sol des systèmes urbains méditerranéens. La question qui constitue la base de nos travaux est la suivante :

Quels sont les effets de l'urbanisation sur les communautés de fourmis et de vers de terre en climat méditerranéen, au sein d'une grande variabilité d'usage du sol urbain ?

Afin de répondre à cette question centrale nous avons organisé notre étude en 3 chapitres (Figure 16).

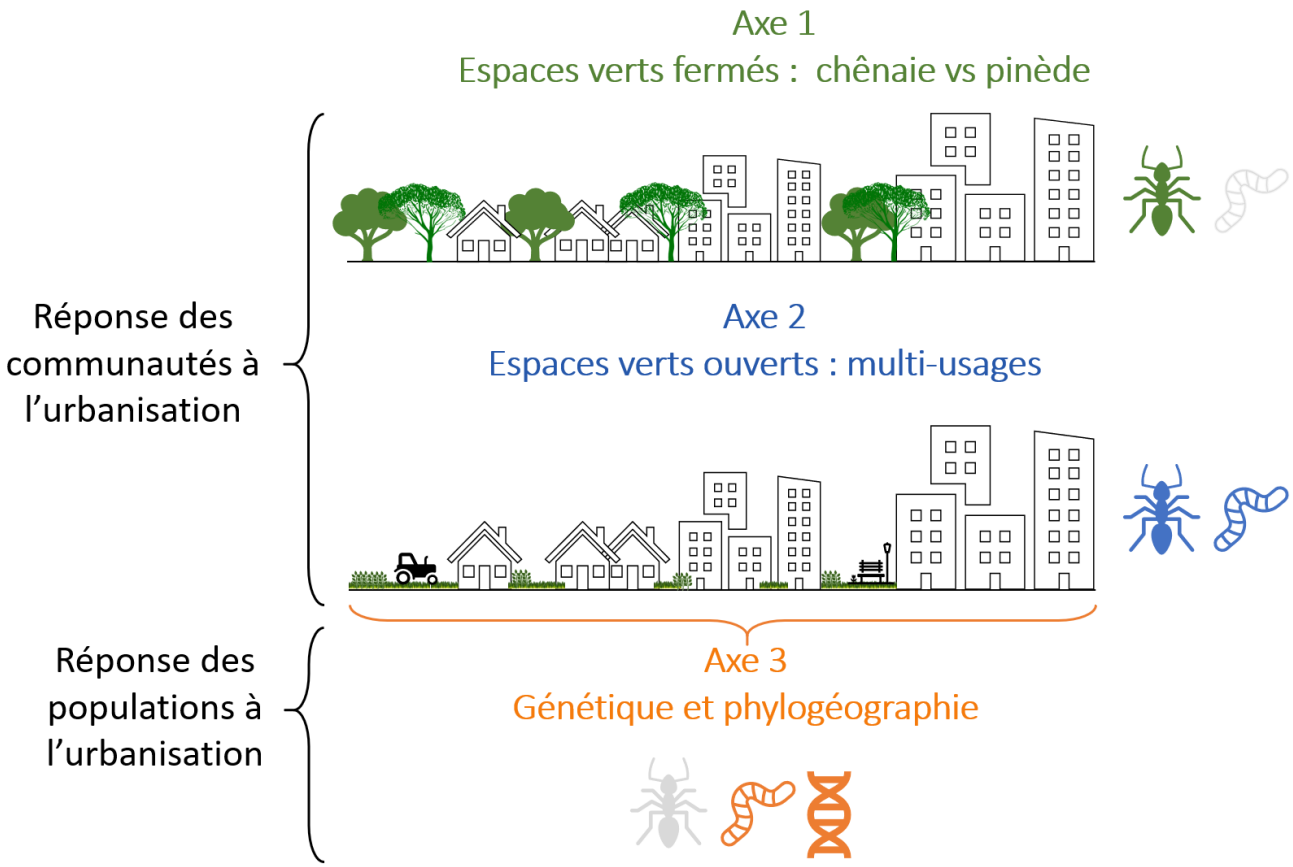


Figure 16 : schéma général de l'organisation des 3 différents axes d'étude de la thèse.

Dans le premier axe d'étude, nous nous sommes intéressés à la variabilité des milieux fermés, en étudiant la réponse des fourmis et des vers de terre à l'urbanisation dans 24 forêts urbaines de la Métropole de Montpellier, réparties le long d'un gradient d'urbanisation, en utilisant une approche multi-échelles (paysagère et locale). Cependant, une première approche a permis de constater que ces milieux présentaient très peu de vers de terre. Nous avons donc décidé de nous concentrer sur la réponse des fourmis uniquement. Au sein des forêts urbaines nous avons voulu explorer en particulier l'effet de l'identité de l'espèce d'arbres sur les communautés de fourmis. Pour cela, nous avons sélectionné la moitié des forêts avec une dominance de pins d'Alep (*Pinus halepensis*) et l'autre moitié avec une dominance de chênes verts (*Quercus ilex*). Ces deux espèces d'arbres sont bien représentées dans Montpellier et ses alentours et présentent de nombreuses différences susceptibles d'influencer les propriétés du sol et les conditions du sous-bois et, au final, la réponse des communautés de fourmis.

Dans le deuxième axe d'étude, nous nous sommes intéressés à la variabilité en milieux urbains ouverts, en étudiant la réponse des communautés de vers de terre et de fourmis. Dans un même type d'environnement, nous avons sélectionné plusieurs espaces verts ouverts correspondant à des usages productifs (jardins partagés) ou non productifs (ronds-points, linéaires de voirie, parcs urbains) de la

Métropole de Montpellier. Ces espaces ouverts abritant potentiellement de nombreuses espèces de vers de terre et de fourmis, il est plus probable de retrouver ces deux taxons en co-occurrence. Au total 40 sites ont été sélectionnés, distribués le long d'un gradient d'urbanisation. Des variables environnementales ont été mesurées au niveau local et paysager pour chercher à expliquer la réponse des fourmis et des vers de terre face à l'urbanisation dans ces espaces.

Enfin, dans le troisième axe d'étude nous avons étudié plus finement les patrons de distribution des vers de terre de Montpellier au sein d'un sous ensemble des espaces verts productifs et non productifs sélectionnés dans l'axe 2 grâce à une approche génétique. Nous avons séquencé le code-barres ADN COI de 13 espèces de vers de terre présentes dans 23 sites au sein de la Métropole de Montpellier en France. Nous avons étudié l'impact de facteurs environnementaux tels que la configuration du paysage, l'usage du sol urbain, et l'âge du sol sur la diversité génétique des populations. Enfin, nous avons utilisé une approche phylogéographique avec la construction de réseaux d'haplotypes qui permettent de visualiser et comparer en détail les relations entre les populations.

6 Description du territoire de la Métropole de Montpellier

La ville de Montpellier est située dans le sud de la France, en région Occitanie. Elle borde la mer Méditerranée et jouit d'un climat méditerranéen caractérisé par des étés chauds et secs et des hivers doux, avec des températures moyennes allant de 5,9 °C en hiver à 22,3 °C en été, une température annuelle moyenne de 13,9 °C et une précipitation annuelle d'environ 745 mm (Climate-Data, 2021). Cette ville a une histoire riche et diversifiée qui remonte à sa fondation en 985 (Figure 17). Par sa situation géographique idéale aux portes de l'Espagne et proche de l'Italie, la ville de Montpellier s'est rapidement développée au niveau économique et culturel, et dès le XIXème siècle, le développement de la culture viticole favorise une métamorphose du paysage urbain. Entre 1960 et 1980, la ville de Montpellier connaît un véritable boom démographique, notamment avec l'arrivée de nombreux rapatriés d'Algérie et d'immigrés provenant du pourtour méditerranéen. Aujourd'hui, avec une superficie de 56,9 km², elle était en 2017 la septième ville la plus peuplée de France, avec 290 053 habitants (INSEE, 2020). Montpellier, n'a pas été épargnée par le phénomène mondial de l'étalement urbain au cours des dernières décennies. L'urbanisation s'est étendue au-delà des limites historiques de la ville, donnant naissance à de nouveaux quartiers résidentiels, commerciaux et industriels. Montpellier connait une urbanisation rapide associée à une importante imperméabilisation des sols (-2920 hectares de zones agricoles et naturelles entre 1990 et 2012) (Le Coent et al., 2023). Cette expansion urbaine a été alimentée par une croissance démographique constante et un attrait pour cette ville en tant que destination prisée pour y vivre, travailler et étudier. Les espaces verts et les terres agricoles périphériques ont souvent cédé la place à des lotissements et à des infrastructures

modernes, entraînant des changements significatifs dans le paysage urbain. Cependant, les autorités locales ont mis en œuvre des mesures pour atténuer les impacts négatifs de l'étalement urbain, cherchant à équilibrer le développement avec la préservation des espaces naturels et agricoles. Cela souligne le défi délicat de maintenir l'équilibre entre la croissance urbaine nécessaire et la préservation du caractère distinctif et durable de Montpellier.

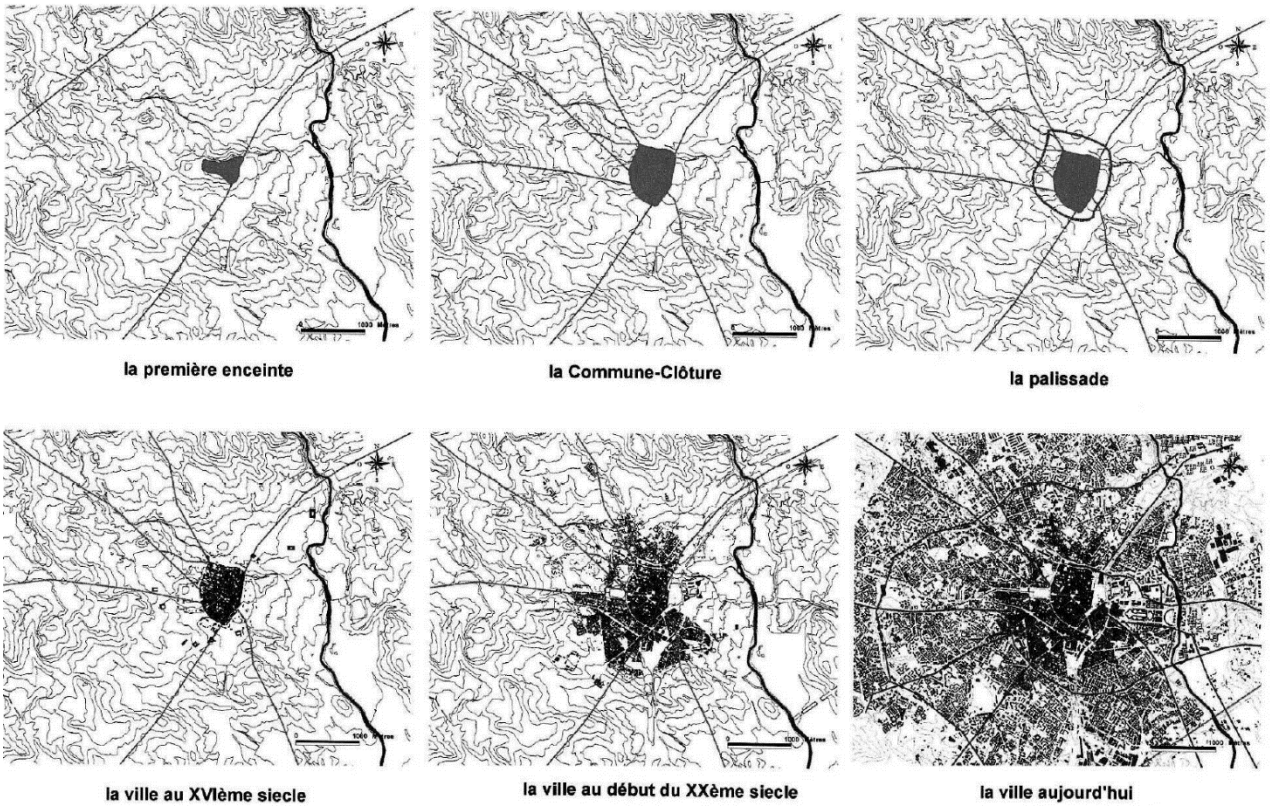


Figure 17 : le développement urbain dans la commune de Montpellier de la première enceinte à la ville d'aujourd'hui (Tirée du PLU 2022).

AXE 1

Réponse des communautés de fourmis dans des forêts urbaines boisées en chênes vert (*Q. ilex*) ou en pin d'Alep (*P. halepensis*) de la métropole de Montpellier



Résumé long Axe 1

L'objectif de cet axe était i) de déterminer les facteurs environnementaux influençant la composition des communautés de fourmis des forêts urbaines à Montpellier, et ii) d'examiner l'influence des espèces d'arbres sur les fourmis urbaines en se concentrant sur deux espèces méditerranéens abondantes à feuilles persistantes : le chêne vert (*Quercus ilex*), et le pin d'Alep (*Pinus halepensis*), au sein des forêts urbaines sélectionnées.

L'étude est basée sur deux hypothèses :

- Il existe une différence dans la richesse spécifique et la composition des fourmis entre les boisements urbains dominés par *Q. ilex* et ceux dominés par *P. halepensis*. Plus spécifiquement, la différence de pourcentage de couverture de la canopée entre ces deux espèces d'arbres pourrait influencer les communautés de fourmis car cette variable modifie le microclimat sous la canopée, notamment la température, une variable clé influençant l'activité des fourmis et potentiellement la composition des communautés.
- Les propriétés du sol devraient influencer significativement la richesse spécifique des fourmis, car ces dernières peuvent présenter des préférences pour certains types de sol, en raison de facteurs liés à la facilité à creuser des galeries et à la rétention de l'eau. Par conséquent, la texture du sol est supposée être un bon prédicteur de la richesse spécifique des fourmis.

Cette étude a été réalisée en mai 2021 dans la métropole de Montpellier ; 24 sites ont été choisis selon un plan d'échantillonnage équilibré avec deux modalités croisées : le niveau d'urbanisation environnant et l'espèce d'arbre dominante. Les sites ont été sélectionnés en fonction de la dominance de chêne vert et de pin d'Alep (Figure I). Seuls les sites avec une dominance d'au moins 80 % de l'une des espèces d'arbres ont été sélectionnés. Pour obtenir des conditions semblables à une forêt, des sites d'au moins 0,5 ha ont été choisis, ainsi que des peuplements d'arbres relativement matures, avec plus de 90 % des arbres cibles ayant un diamètre d'au moins 20 cm à hauteur de poitrine. Nous avons également évité les sites où la couche de litière avait été retirée manuellement.

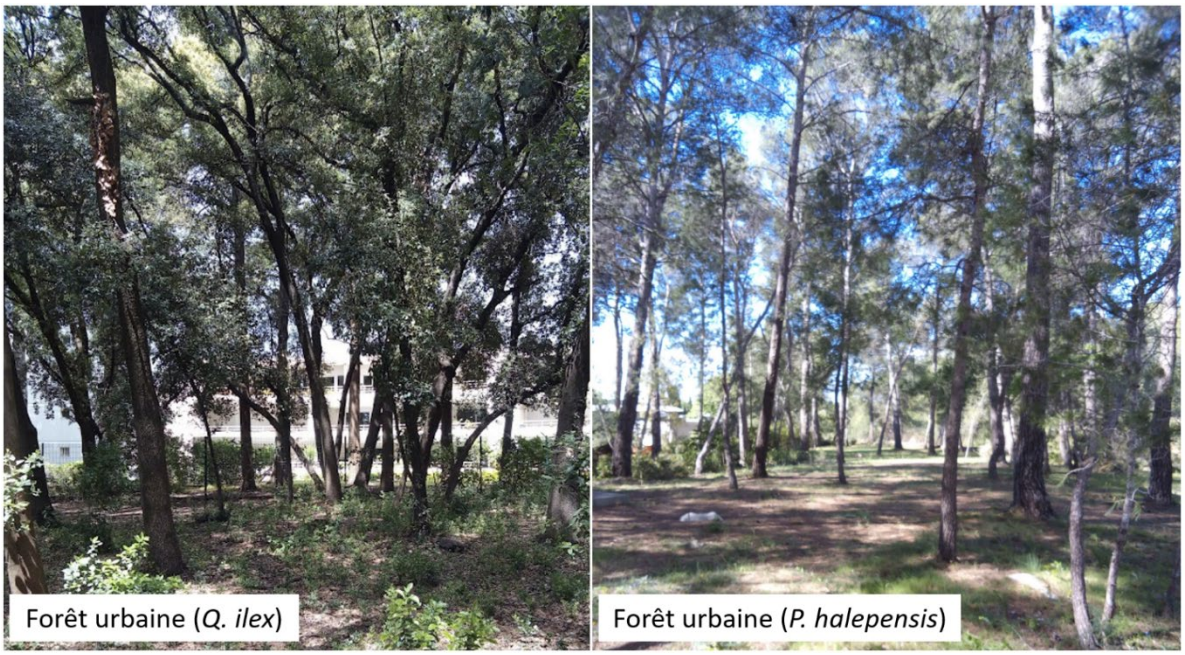


Figure I : photographies de deux forêts urbaines, l'une boisée en chênes verts (*Q. ilex*) à gauche et l'autre boisée en pin d'Alep (*P. halepensis*) à droite (©Ambre Mautuit).

Les fourmis actives à la surface du sol ont été échantillonnées au sein de chacune des forêts urbaines avec des pièges barber de 65 mm de diamètre et 85 mm de profondeur afin d'obtenir leurs occurrences et la richesse spécifique par site. Cinq pièges étaient posés par site, espacés de 10 mètres les uns des autres. Chaque piège était également placé à 1,50 m d'un arbre appartenant à l'espèce d'arbre dominante ciblée pour assurer des conditions de couverture homogènes. De plus, une chasse active des fourmis a été réalisée pour chaque site durant 30 min. Les propriétés physico-chimiques du sol ont été échantillonnées avec une tarière de 7 cm de large et 10 cm de profondeur pour constituer un échantillon composite de sol de 250 g pour chaque site qui ont ensuite été analysés dans un laboratoire spécialisé.

En plus des variables du sol, la couverture de la canopée a été estimée à partir de dix photos hémisphériques par site (Figure II), suivi d'un post-traitement avec l'application mobile Gap Light Analysis (GLAMA), afin d'obtenir une estimation moyenne de la couverture de la canopée. De plus, le pourcentage de recouvrement végétal du sol autour de chaque piège a été estimé visuellement à l'intérieur d'un quadrat d'un mètre carré.



Figure II : photographie hémisphérique de la canopée obtenue grâce à une lentille fisheye 180° fixée sur un smartphone (©Ambre Mautuit).

Des variables de composition et de configuration du paysage ont également été calculées à partir de la carte d'utilisation des terres de la ville de Montpellier de 2019 (Opendata Montpellier, échelle maximale disponible 1/5000) dans une zone tampon de rayon 500 mètres autour du centre de chaque site.

Les résultats de cette étude montrent que les espèces de fourmis les plus courantes dans les forêts urbaines étudiées, à savoir *Aphaenogaster ichnusa*, *Crematogaster scuttelaris*, *Temnothorax lichtensteini*, *Formica gagates* et *Pheidole pallidula* sont typiques des bois méditerranéens. L'effet des espèces d'arbres sur l'occurrence des fourmis était seulement marginalement significatif, avec une occurrence de fourmis légèrement plus élevée dans les peuplements de *P. halepensis* par rapport à ceux de *Q. ilex*. Au niveau local la couverture de la canopée a significativement influencé l'occurrence des fourmis, avec des densités plus élevées lorsque la couverture de la canopée diminue. Contrairement à la réponse de l'occurrence des fourmis, nous n'avons trouvé aucun effet de la couverture de la canopée sur la richesse des fourmis. Nous avons observé un effet significatif de la texture du sol sur les occurrences des fourmis, les occurrences augmentant avec le pourcentage d'argile. Nous avons trouvé une corrélation positive significative entre Ni et Zn et les occurrences de fourmis. Cependant, nous n'avons observé aucun effet des variables du paysage sur la richesse des espèces de fourmis, les occurrences et la composition de la communauté.

Pour conclure, cette étude est la première à examiner l'effet des espèces d'arbres sur les communautés de fourmis dans les forêts méditerranéennes en contexte urbain. Bien que nous n'ayons pas trouvé d'effet significatif des espèces d'arbres ou des variables du paysage sur la composition des communautés de fourmis, nos résultats mettent en évidence l'influence des facteurs à l'échelle locale tels que la couverture de la canopée et la texture du sol sur les occurrences de fourmis.

Article 1 : Canopy cover and soil texture shape ant communities in Mediterranean urban woodlands

En préparation

Ambre Mautuit[1-1*], Alan Vergnes[2-1], Jérôme Cortet[3-1], Sandra Barantal[4-1]

1: CEFE, Univ Paul Valéry Montpellier 3, Univ Montpellier, CNRS, EPHE, IRD, Montpellier, France

*Corresponding author: Ambre Mautuit

E-mail: ambre.mautuit@cefe.cnrs.fr/ambre.mautuit-damalix@univ-montp3.fr

Postal address: UMR – Centre d'Ecologie Fonctionnelle et Evolutive, Route de Mende – 34293 Montpellier cedex 5

Abstract

Overall, urbanization contributes to the decline of biodiversity, including arthropods. Ants are recognized as good indicators of environmental changes. However, our understanding of how ant communities respond to urbanization in urban green spaces, like woodlands, remains incomplete; and to our knowledge, there is no study that has focused on the effect of tree species on ant communities in this context.

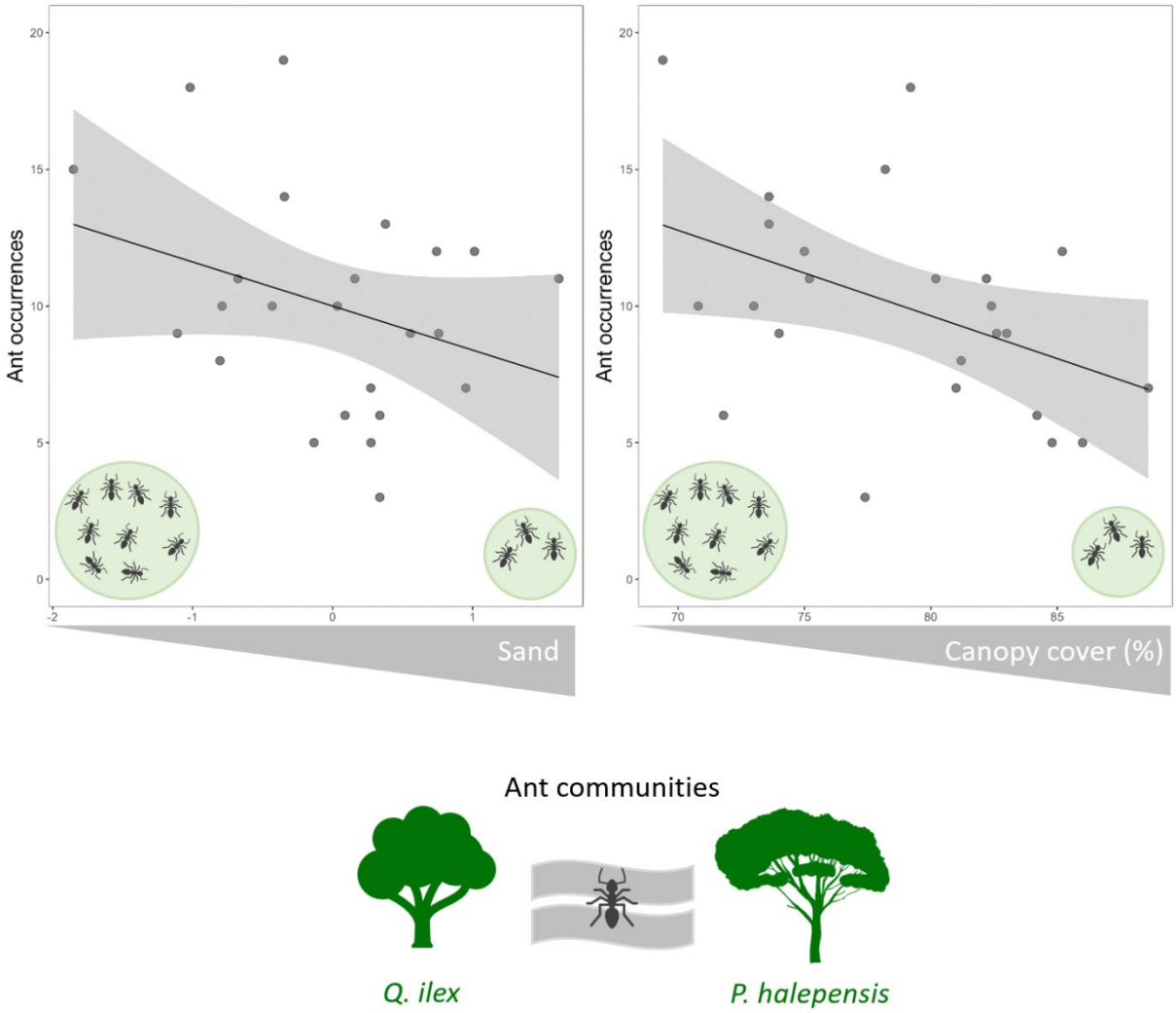
This study aims to explore the effects of urbanization at both local and landscape scales, and the effect of tree species on urban woodland ants by focusing on two abundant Mediterranean evergreen tree species: *Quercus ilex* and *Pinus halepensis* within the selected urban woodland. We conducted ant sampling in spring 2020 across 24 sites in Montpellier (France) distributed along an urbanization gradient. We also measured soil properties (texture, organic matter, trace metals), vegetation, and landscape features (composition and configuration).

Our ant communities primarily comprise five characteristic Mediterranean woodlands species, with a total of 15 species sampled, averaging 5 ± 2 species per site. Generalized Linear Models showed negative effects of canopy cover and sand content on ant occurrences. Our study underscores the greater influence of local factors on ant communities compared to landscape properties.

Implications for insect conservation Our finding provide insights into ant responses to urbanization and underscore the importance of maintaining wooded areas within cities. Urban forest conservation efforts, emphasizing balanced canopy structures and diverse soil compositions, can support and benefit ant communities.

Keywords Formicidae, France, multiscale, tree species, urban forest, conservation

Graphical abstract



• We investigated the influence of urbanization and tree species identity on ant communities in 24 urban woodlands along an urban gradient in a Mediterranean city in France.

• Our findings revealed that ant occurrences were negatively affected by higher sand content in the soil and increased canopy cover in the woodlands.

• Interestingly, we did not observe significant effect of tree species identity (*Q. ilex* or *P. halepensis*) on ant communities across the urban gradient.

1 Introduction

The urban population has been forecasted to increase from 55% today to 60% by 2030 (United Nations, 2020), and cities are expanding worldwide at the expense of agricultural or natural habitats (Grimm et al., 2008). Overall, urbanization contributes to the decline of biodiversity (McKinney, 2008; Sala et al., 2000), including arthropods (Fenoglio et al., 2019). However, the effects of urbanization can vary significantly depending on the level of urban development (Beninde et al., 2015), leading to varying impacts within and between arthropod groups (McKinney, 2008; Fenoglio et al., 2019) such as ants (Hymenoptera, Formicidae). Formicidae are an ubiquitous, diverse, and abundant insect family (Alonso and Agosti, 2000), comprising more than 15,000 species worldwide and accounting for approximately one third of the total insect biomass (Wilson et al., 2005; Schultheiss et al., 2022). They can significantly modify their environment, to the extent that they are often regarded as ecological engineers (Jones et al., 1994; Lavelle et al., 2005). In addition, ants are sensitive and quickly respond to changes in their environment and are easy to collect using standard methods (Agosti et al. 2000). They are considered as a good indicator of environmental properties (Andersen et al. 2002; Underwood and Fisher 2006) such as those resulting from urbanization at various scales (Sanford et al., 2009).

Overall, the understanding of the response of ants to urbanization remains limited within the field of ant ecology, with less than 4% of the 3000 studies addressing this topic (Santos, 2016). However, there have been some notable progress in our knowledge of ant communities along urbanization gradients, ranging from rural areas to city centers (McDonnel and Hahs, 2008), and across different types of green spaces (Holway and Suarez, 2006; Thompson and McLachlan, 2007; Uno et al., 2010; Melliger et al., 2018). Several studies have demonstrated a decrease in species richness along urbanization gradients (Majer and Brown, 1986; Antonov, 2008; Uno et al., 2010). However, this trend is not uniform, as certain generalist and invasive ant species exhibit an increase along urbanization gradient as they appear to exploit the modifications caused by urban development (Melliger et al., 2018; Perez and Diamond, 2019; Vepsäläinen et al., 2008). Consequently, we typically observe a shift in species composition along these gradients, characterized by a reduction in specialist species and an uptick in generalist and invasive species as urbanization levels intensify (Uno et al., 2010; Perez and Diamond, 2019). Heterogenous environmental conditions induced by urbanization at various scales may explain those different results. At the landscape scale, the response of ants may depend on habitat size (Uno et al., 2010; Melliger et al., 2018), and on the surrounding landscape composition with variable effects on ant richness (Forys and Allen, 2005; Sanford et al., 2009; Philpott et al., 2014). At the local scale, numerous factors including variables related to vegetation, soil physicochemical properties or microclimatic conditions can affect ant species richness and/or community composition (Holway and

Suarez, 2006; Thompson and McLachlan, 2007; Uno et al., 2010; Melliger et al., 2018). More specifically, diversity of ant communities in urban green spaces has been observed to differ significantly based on the type of urban green space, such as open habitats versus woodlands (Clarke et al., 2008; Ješovnik and Bujan, 2021).

Urban woodlands are defined as complex woody habitats composed of a continuous tree canopy, one or more understory layers, ground cover and soil layers (Jim 2017). They exhibit a wide range of environmental factors (vegetation type, soil properties, etc.), which largely depend on their origins and land use history. Indeed, they can be natural and ancient, replanted or artificially created, or can emerge spontaneously through a succession of processes on abandoned urban areas (Dreistadt et al., 1990; Vergnes et al., 2012). In these spaces, habitat complexity mediated by the vegetation structure is a major determinant of structuring ant communities (Ossola et al., 2015; Nooten et al., 2019). Hence, the tree species composition can strongly vary across different urban woodlands and may have a strong effect in driving environmental features at a locale scale. Tree species can modify the conditions beneath the canopy through factors such as shading and litter input, which in turn can impact microclimatic conditions such as light, temperature as well as air and soil moisture (Joly et al., 2017; Ganault et al., 2021). In addition, tree species can differ in leaf litter quality, rooting patterns and exudates, which can alter soil properties differently (Lavelle et al., 2003; Barrios et al., 2012), as well as soil food web structure and composition (Cesarz et al., 2013).” However, there are at our knowledge no studies considering the impact of tree species composition on urban ant communities.

This study aims to disentangle the influence of environmental factors on the composition and structure of woodland ant communities along an urbanization gradient in a European Mediterranean metropole. This metropole is characterized by a rapid urbanization associated with massive soil sealing (Le Coent et al., 2023) and high ant diversity of a surrounding area (Antarea, 2023). Additionally, the study seeks to examine the impact of tree species on urban ants by focusing on two abundant Mediterranean evergreen tree species: *Quercus ilex*, a broadleaf species, and *Pinus halepensis*, a coniferous species, within the selected urban woodland. We hypothesized that at a local level, there would be a difference in ant species richness and composition between urban woodlands dominated by *Q. ilex* and those dominated by *P. halepensis*. More specifically the difference in canopy cover percentage between these two tree species is expected to affect the ant communities the most because this physical characteristic would alter the microclimate under the canopy, modifying the understory temperature, which is an important driver of ant activity and community composition (Cerdá et al., 1998; Sanders et al., 2007; Seifert, 2017). We anticipate a denser canopy cover for *Q. ilex* because broadleaf woodlands can have a higher canopy cover than conifer woodlands (Fuller et al. 2008). Moreover, we hypothesize that soil properties would play a significant role in determining the response of ants in terms of species

diversity. Ants may exhibit preferences for certain soil types due to factors such as ease of tunneling, chamber construction, and water-holding capacity (Boulton et al., 2005). As a result, soil texture is expected to be a strong predictor of ant species richness (Bestelmeyer and Wiens, 2001).

2 Materials and Methods

2.1 Study area

The study took place in the Montpellier metropolis, composed of 31 municipalities located in Southern France, nearby the Mediterranean Sea (Fig. 1). The study area is characterized by a Mediterranean climate, with mean temperatures ranging from 5.9 °C in winter to 22.3 °C in summer, with a mean annual temperature of 13.9 °C, and an annual precipitation of ~745 mm (Climate-Data, 2021).

Despite its rapid urbanization associated to massive soil sealing (-2920 hectares of agricultural and natural area from 1990 to 2012) (Le Coent et al., 2023), Montpellier is considered as a “green city” due to its high density of green spaces (Besse et al., 2014). Montpellier is located in the Mediterranean basin considered as one of the 25 worldwide biodiversity hotspots (Cuttelod et al., 2009), notably regarding the number of ant species (Hewitt, 2011). The area around Montpellier (the Hérault department) harbors almost half of the French fauna with 119 species recorded (Antarea, 2023).

2.2 Site selection

In order to study the effects of landscape and local factors on ants, we chose 24 sites according to a balanced sampling design with two crossed modalities: the surrounding level of urbanization and the dominant tree species. The sites were chosen according to the dominance of two common evergreen tree species in Mediterranean woodlands (Quezel, 1979), one broadleaved species *Q. ilex* and one coniferous species *P. halepensis*. Only sites with at least 80% dominance of one of the targeted tree species were selected based on values obtained through visual assessment conducted beforehand. To obtain forest-like conditions, we selected sites of at least 0,5 ha (Lövei et al., 2006; Clarke et al., 2008, Croci et al., 2008, Jesovnir et Bujan, 2021) as well as with relatively mature tree stands, with more than 90% of the target trees having a 20 cm diameter at breast height. We also avoided sites where litter layer was manually removed. To maximize the variation in urbanization level surrounding the sites, we selected a balanced number of sites either surrounded by residential areas or surrounded by croplands. We could not include sites with the highest urbanization level (within the city center) because of the lack of *P. halepensis* dominated sites. Finally, we ensured to keep a minimal distance of 100 m among the different sites to avoid any overlap in the measured landscape variables.

The sampling design resulted in a higher representation of *P. halepensis* in the north of the city and a higher representation of *Q. ilex* in the south (Fig. 1). The spatial autocorrelation (i.e. non-random spatial distribution of observation values) was statistically tested thanks to the spatial correlogram test applied to the GLMs model residuals, described in Dormann et al (2007). Additionally, the links between tree species and landscape variables were evaluated (see statistical analysis below, Table S1).

2.3 Ant sampling

The sampling of active ants at the surface of the soil was carried out in May 2021, a period where most ant species are active because temperatures do not fall below 15°C during the day (Traniello, 1989). Ants were sampled with pitfall traps using 65mm diameter and 85mm depth plastic pots. Pitfall traps were filled to one third with water supersaturated in salt (to preserve the samples) and a few drops of liquid soap per trap to reduce the tension on the surface of the water preventing the insect flotation. This liquid is considered neutral (odorless and colorless) enabling incidental capture of epigean fauna moving along the path of the traps (Vergnes, 2012). Each trap was sheltered by a plastic top to prevent leaves and other debris from falling inside and to protect the traps from rain. Five traps were deployed within each site, spaced 10 meters apart and positioned in a line or in a square depending on the shape of the site. Each trap was placed at 1.50 m from a tree belonging to the target dominant tree species to ensure homogeneous canopy conditions. In total, 120 traps were set up and collected after seven days. The traps were sorted in the laboratory, and the ants were identified under binocular magnifying glasses, using identification keys (Blatrix et al., 2013; Lebas, 2021). In addition to pitfall sampling, extensive visual surveys were conducted in each park to ensure that all ground-foraging ants were detected within sites. Surveys consisted of walking between each pitfall point during pitfall trap collection, overturning objects, and aspirating samples of all ants observed. The search time was standardized to 30 minutes at each site. Specimens collected in visual surveys were only included in species richness results and not abundance data. The ecological preference of each ant species, indicating their most common habitats (open, forested, or both) was documented from literature (Arnan et al., 2012; Retana et al., 2015). When a species was reported as equally abundant in open and forested habitats, both habitat types were considered as the primary preferences for that particular species.

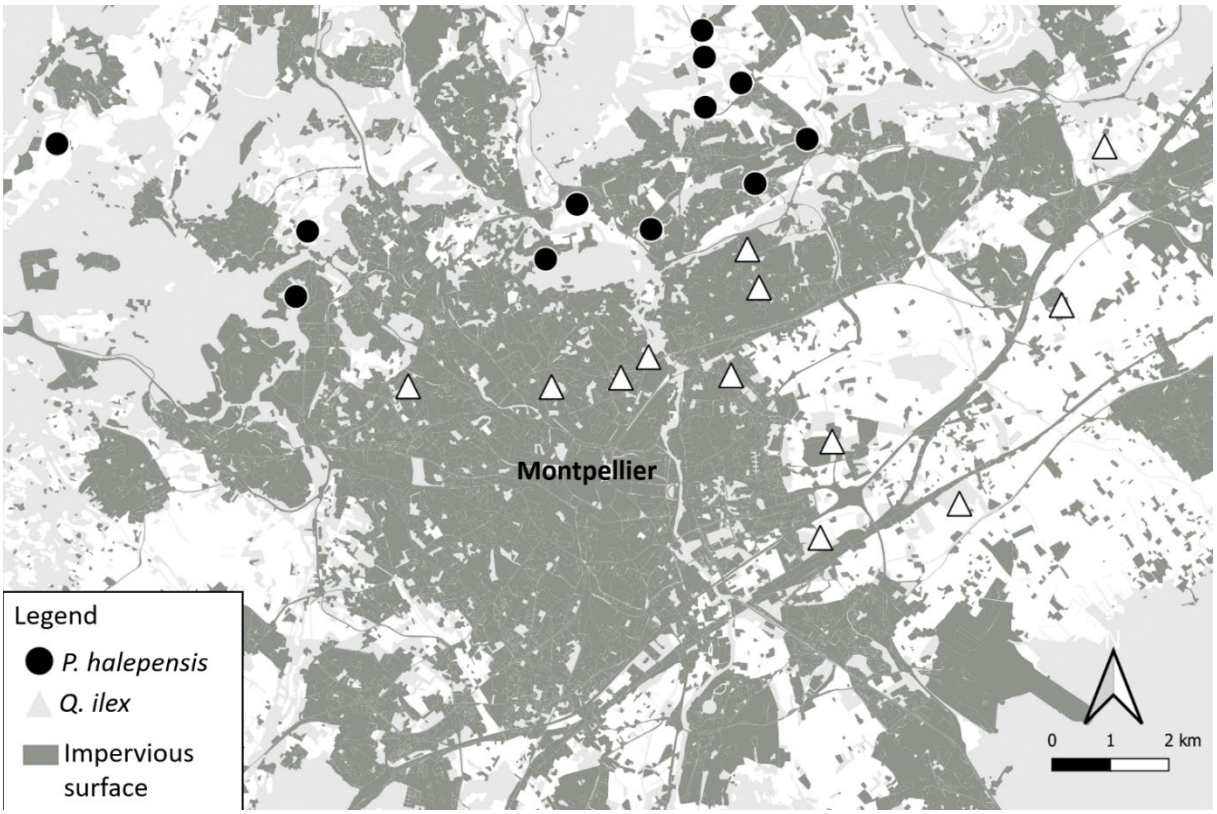


Fig. 1 Location of the 24 study sites within the Montpellier metropolitan area; the white triangles indicate the sites dominated by *Q. ilex* and the black circles indicate the sites dominated by *P. halepensis*.

2.4 Measurement of local variables

Soil physicochemical characteristics were measured because ant distribution can be influenced by soil texture and chemical composition (Bestelmeyer and Wiens 2001; Boulton et al., 2005). Soil physicochemical was measured from a composite soil sample of 250 g for each site. It was obtained by mixing five soil cores randomly collected from the organo-mineral horizon with a 7 cm wide and 10 cm depth soil auger. The soil samples were dried at 30°C for 4 days and then sieved to 2 mm. The physicochemical characteristics of the soil were determined by an agronomic analysis laboratory (Laboratoire Teyssier analyses agricoles, Bourdeaux, France), following standard methods. The soil texture (sand (%), silt (%), clay (%)), was determined using the classical sedimentation-based pipette method after decarbonation (NF X31-107 2003). The soil pH was determined from a mixture of 1:5 soil water (volume fraction) using a glass electrode (ISO 10390, 2005). The total limestone and organic matter contents were determined with the volumetric method (ISO 10693, 1995), the extractable phosphorus (P Olsen, mg/kg) was measured with the Dyer method (X31-160, 1999), and the total carbon content (C, g/kg) and total Nitrogen content (N, mg/kg) by dry combustion (ISO 13878, 1998). The concentrations of total trace metals (TME) Zinc (Zn, mg/kg), Lead (Pb, mg/kg),

Nickel (Ni, mg/kg) were determined by spectrophotometry technique (U.S Environmental Protection Agency, 1996).

In addition to soil variables, we measured vegetation variables known to drive ant communities such as canopy cover (Blatrix et al., 2017) and understory plant cover (Melbourne 1999). The canopy cover can be defined as the proportion of the sky which is obscured by canopy elements (leaves, branches) when viewed from a single point (Gonsamo et al. 2013). The canopy cover was estimated from ten hemispherical photos per site; five canopy photos were taken at each of the ant sampling points with five additional photos randomly taken. The photos were obtained with a smartphone (google pixel 4a) equipped with a 180° fisheye lens. The smartphone was held in the hand, perpendicularly to the ground (using a fixed spirit level) at a fixed height of 130 cm to standardize the photos. The photos were then processed with the Gap Light Analysis Mobile Application (GLAMA) (Tichý, 2016) to get an averaged canopy cover estimation from the ten sampling points. The percentage of the understory plant cover was estimated within a one-meter square quadrat around each pitfall trap by visual assessment of the ground vegetation cover (Bayley, 2001).

2.5 Measurement of landscape variables

The landscape variables were measured from the 2019 land use map of the Montpellier city (Opendata Montpellier, maximum available scale 1/5000) in a buffer zone of 500 m radius around the center of each site. We selected different landscape variables known to be influential on insect diversity and assemblages such as the land use type, the number of habitat patches and the edge density (Dominik et al., 2018). The cover percentage of different land use types was computed by grouping the defined land use types into five new categories based on the habitat preferences of the forest dwelling ant species (Hölldobler and Wilson, 1990). The wooded areas, were considered as the optimal habitat for the targeted forest ant communities while open surfaces including crops and agricultural cultures were considered as sub-optimal habitats. Similarly, residential areas encompassing a mix of open spaces, wooded habitats, and impervious surfaces, were considered as sub-optimal habitats. On the other hand, water surfaces and impervious surfaces are considered as matrixes for ant communities. The total area of each land use was calculated by summing the surface area of each patch within the 500m buffer using QGIS (QGIS Development Team, 2014). The variations for each land use type around the sites are presented in the supplementary materials (Fig. S1).

Landscape indicators to assess the level of habitat fragmentation and isolation around each site were calculated using LecoS (Jung, 2016), a plugin specialized in landscape analyses. The number of woodland patches contained within a buffer zone was computed to estimate the degree of urban woodland fragmentation, a high value representing a more fragmented habitat with a smaller mean

patch size (Fahrig 2003). The edge density was computed by summing up the lengths of the edges of the patches, then dividing by the total area of the landscape (m / ha). Edges are defined as transition zones between two different types of habitats and are important spatial attributes that can influence local biodiversity (Murcia, 1995).

2.6 Statistical analysis

All statistical analyses were performed in R 3.6.1 (R Development Core Team, 2019)

Pitfall traps do not allow to estimate ant abundance because the sampling can be strongly biased by the distance from a column or an anthill (Gotelli et al., 2011). We used the number of occurrences of a species per site among the different pitfall traps, that vary from 0 to 5.

Before analyzing the effects of both local variables and landscape variables on ant species richness, total occurrences and ant community composition, the number of predictor variables was reduced through Principal Component Analysis (PCAs) to avoid multicollinearity issues in the models (Dormann et al., 2013). Two different PCAs were performed separately for soil and landscape variables using the Factominer (Le et al., 2008) and Factoextra (Kassambra and Mundt, 2020) packages. The site coordinates on the first two axes of each PCA were used as local and landscape synthetic variables. Pearson's correlation tests were computed to test the correlation among the site coordinates extracted from the two PCAs as well as the correlation between these variables and the continuous vegetation variables (canopy cover and understory plant cover). We performed a multivariate analysis of variance (MANOVA), followed by a post hoc ANOVA to test the links between the tree species (categorical variable; *Quercus ilex* vs *Pinus halepensis*) and the canopy cover, understory plant cover and the PCA extracted site coordinates. These analyses revealed a correlation between canopy cover and PC1 landscape (Fig. S2) as well as a non-independency of the tree species factor with canopy cover (Table S1, Fig. S3), PC2soil and PC1landscape variables (Table S1).

The effects of tree species as well as both local and landscape variables on ant species richness and ant occurrences were analyzed by using generalized linear models (GLM) with Poisson errors and log link functions adapted for the count data in GLM (Crawley, 2009). The model residual overdispersion was checked. Because of the non-independency among the different predictor variables (see above), we built 3 different models: one testing for the effect of tree species alone (Model 1), one including only the canopy cover (Model 2), and the last one testing for the variables that were not correlated with one another, *i.e*., PC1soil, PC2soil, PC1landscape, PC2landscape and understory plant cover (Model 3).

The occurrences of ant species with ecological preferences for open, closed, or mixed habitats differed between *P. halepensis* and *Q. ilex* woodlands, they were also tested with Wilcoxon-Mann-Whitney analysis (Fig. 4).

The effects of local and landscape variables (after selection variable procedure described above) on ant community composition were investigated using distance-based redundancy analysis (dbRDA) with the "capscale" function using Bray-Curtis distance and followed by a permutation test (n=999) to assess statistical significance. Species recorded only once were removed to prevent the analyses from being overly influenced by rare species (Borcard et al., 2011). The dbRDA model included site coordinates as the conditioning variable dealt with spatial autocorrelation, and the environmental parameters as constrained variables.

3 Results

Overall, a total of 2008 individuals were identified, belonging to 15 ant species. The species richness ranged from 2 to 8 species across all sites (5 ± 2 species on average) and the total ant occurrences were on average 10 ± 4 per site. Among the five ant subfamilies found in France, only two were represented: Formicinae (7 species) and Myrmicinae (8 species). The most frequent species per site were *Aphaenogaster ichnusa* (Santschi, 1925), *Crematogaster scuttelaris* (Olivier, 1792), *Temnothorax lichtensteini* (Bondroit, 1918), *Formica gagates* (Latreille, 1798) and *Pheidole pallidula* (Nylander, 1849), and, with respective total occurrences of 20.8%, 19.6%, 13.3%, 12.9%, 7.9% (Fig. 2).

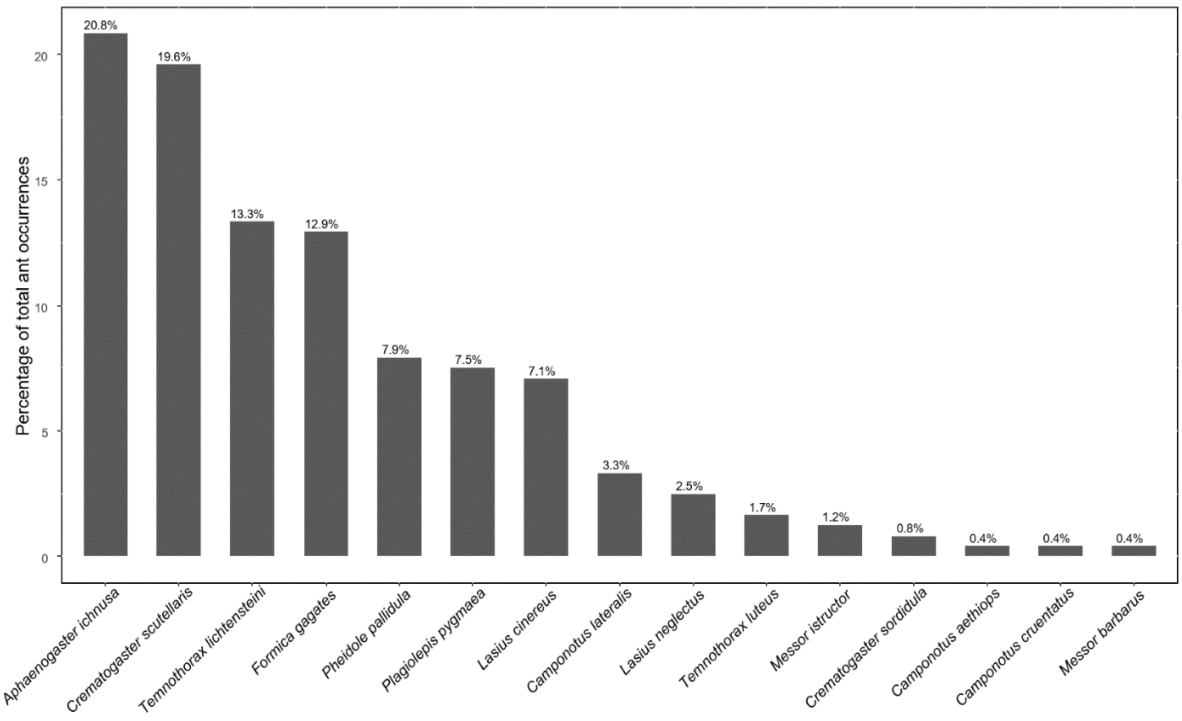


Fig. 2 Percentage of total occurrences for each ant species across all studied sites.

3.1 Variation of local and landscape variable across the sampling sites

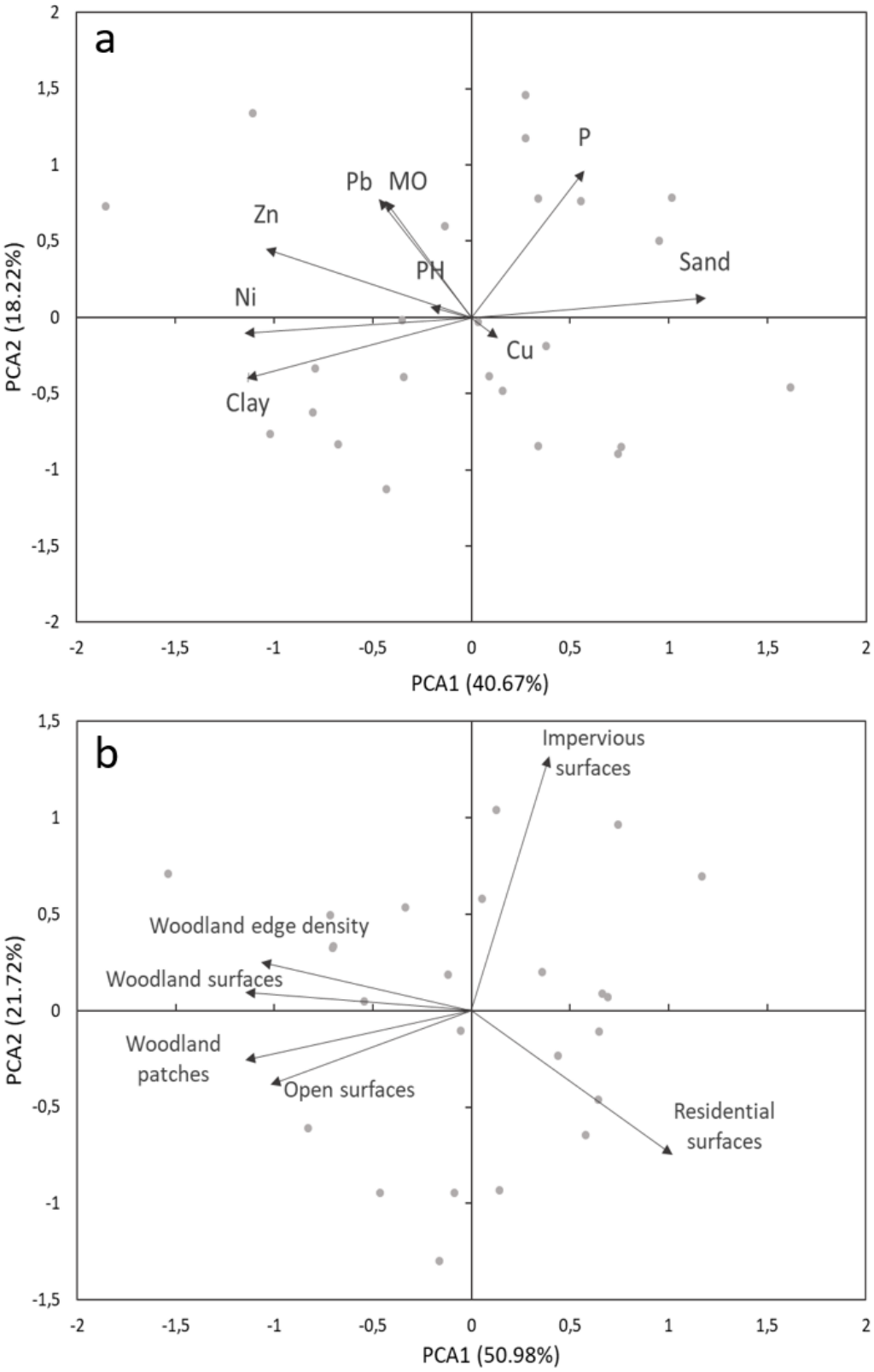


Fig. 3 Principal component analysis (PCA) on soil (a) and on landscape (b) variables, sites are indicated by grey dots; environmental variables are indicated by black arrows.

The first two axes of the PCA based on soil variables explained 58.89% of the total variation in the measured soil features. The first axis (40.67% of the total variance) was associated to a gradient of textures and TMEs (Ni and Zn), with positive coordinate sites having a high percentage of sand and low TME concentrations, and negative coordinate sites having a high percentage of clay and TMEs. The second axis explained 18.22% of the total variance and was characterized by a P, MO and Pb gradient, with lower measurements on the negative end and higher measurements on the positive end (Fig. 3a). As regards to the PCA based on landscape variables, the first two axes of the PCA explained 72.7% of the total variation. The first axis explained 50.98% of the total variance and was characterized by a gradient of woodland surfaces and open surfaces with low edge density sites in the negative coordinates, and high edge density sites in the positive coordinates. The second axis explained 21.72% of the total variance and was characterized by a gradient of impervious surfaces (Fig. 3b).

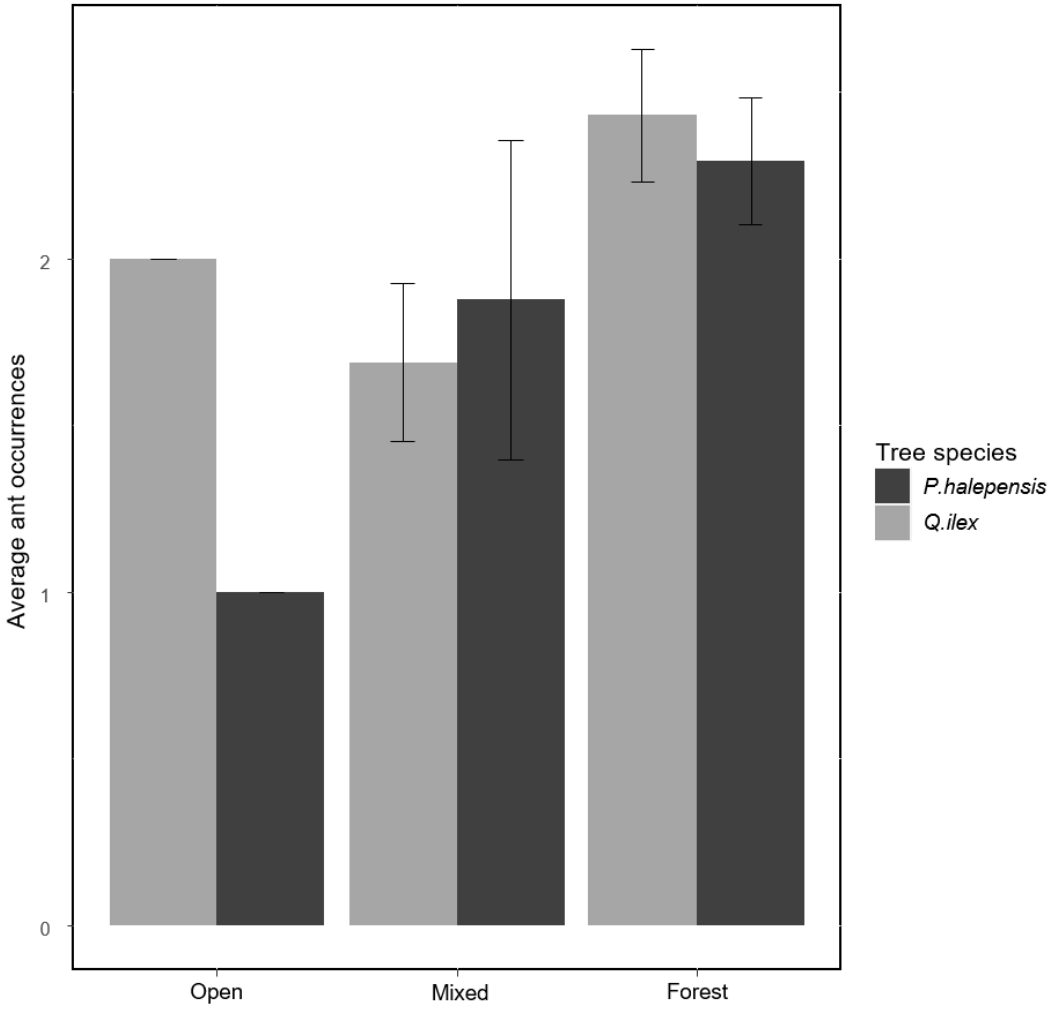


Fig. 4 Average occurences per site of ants (± SE) with preferences for open, wooded, or mixed habitats, according to tree species. Black color represents *P. halepensis* sites, while gray color represents *Q. ilex* sites.

Table 1 Effects of local and landscape variables on the occurrences and species richness of ants, calculated with a GLM (Poisson family, log link). The level of significance is indicated (., *, **: p-value <0.1<0.05<0.01); the significant p-values are in bold.

		Occurrences			Species richness		
		LR Chisq	df	p-value	LR Chisq	df	p-value
Model 1	Tree species	3.76	1	0.05.	1.31	1	0.25
Model 2	Canopy cover	6.50	1	0.01*	1.58	1	0.21
Model 3	Understory plant cover	0.04	1	0.84	1.19	1	0.27
	PC1 soil	4.28	1	0.04*	3.51	1	0.06.
	PC2 soil	1.25	1	0.26	1.49	1	0.22
	PC1 landscape	0.13	1	0.71	0.10	1	0.74
	PC2 landscape	0.83	1	0.36	0.32	1	0.57

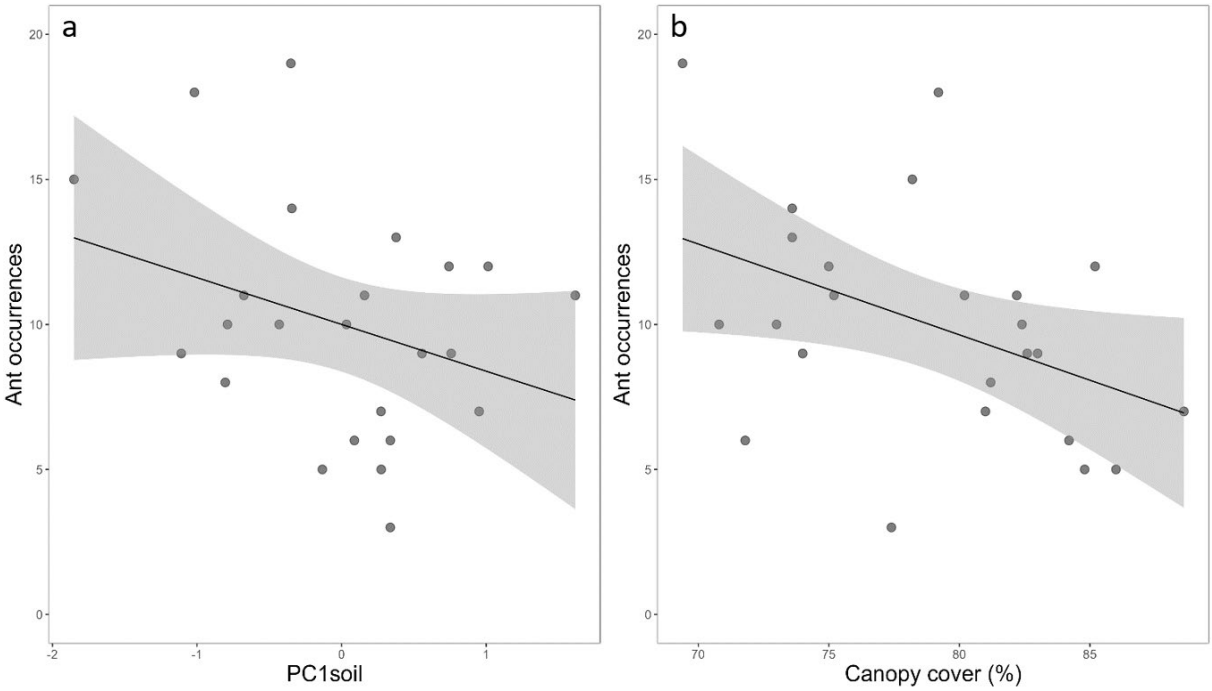


Fig. 5 Relationships between PC1 soil and ant occurrences (a, p-value = 0.04) and between canopy cover and ant occurrences (b, p-value = 0.01).

Ant occurrences significantly varied with canopy cover (Table 1; Fig 5b) with a reduced occurrence when canopy cover increased. The variation in canopy cover was partly mediated by the dominant tree species (Fig S2) with higher canopy cover in *Q. ilex* dominated stands compared to *P. halepensis* dominated stands. Ant occurrences also significantly varied negatively with PC1 soil (Texture and TMEs) in the model where canopy cover and tree species were excluded (Table 1, Fig. 5b). In contrast,

species richness was neither significantly influenced by tree species nor by canopy cover nor by the other variables (Table 1).

The average occurrence per site of ants with a preference for open habitats varysignificantly with tree species (Fig. 4). Indeed, the occurrences were higher in wooded sites with *Q. ilex* compared to wooded sites with *P. halepensis* (P-value = 0.05). For the other categories of ecological preferences (forest and mixed), there are no significant differences between *P. halepensis* and *Q. ilex*.

3.2 Effects of local and landscape variables on ant community composition

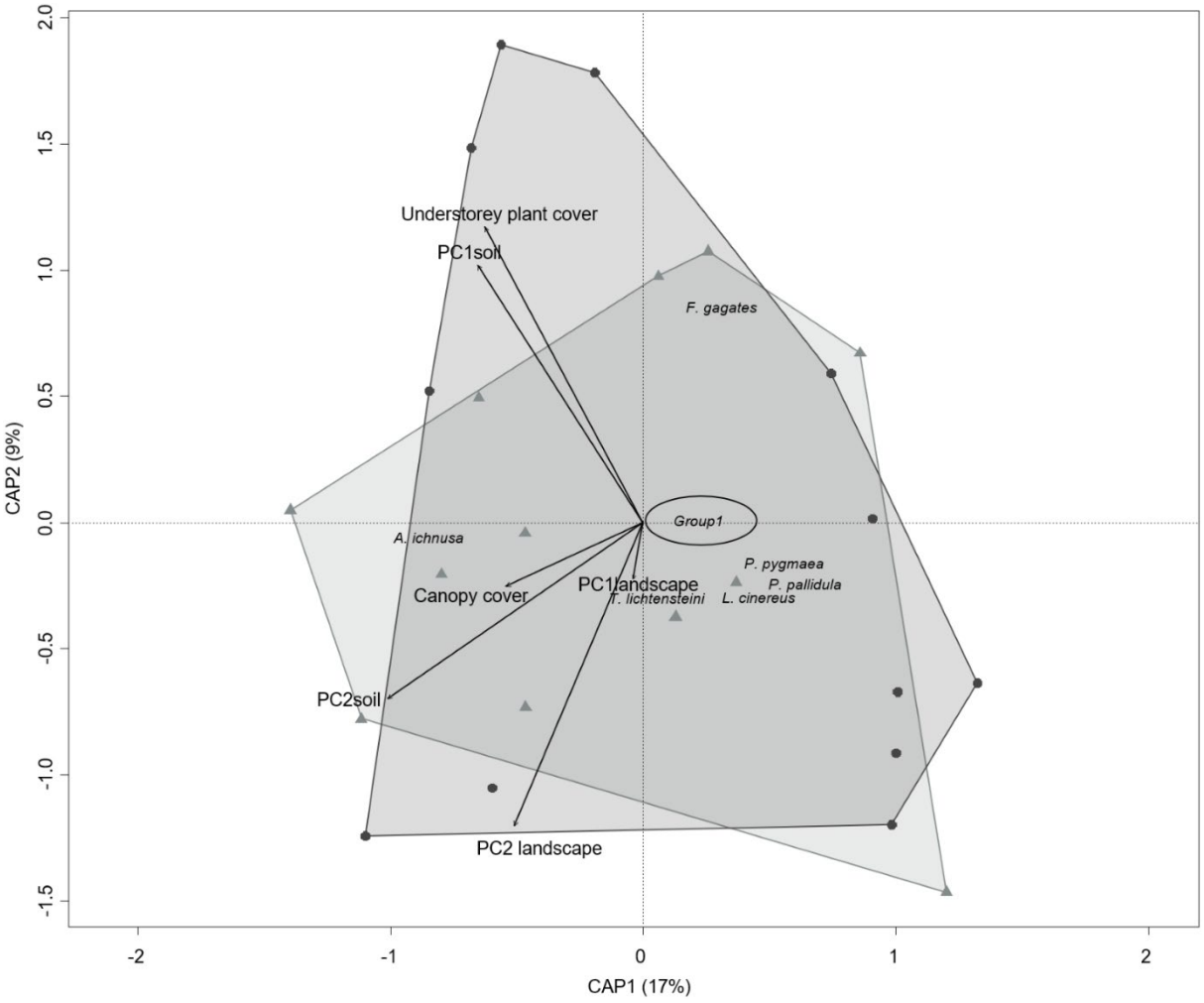


Fig. 6 Distance-based redundancy analysis (dbRDA) plot is used to illustrate the effects of different environmental variables on ant communities between sites wooded in *Q. ilex* (represented by grey triangles) and *P. halepensis* (represented by black circles). The convex hulls volume, including *P. halepensis* and *Q. ilex sites* are respectively indicated in black and grey. Black arrows indicate the constraining variables. In "Group 1", the following species are included: *T. luteus*, *C. lateralis*, *L. neglectus*, and *C. scutellaris*.

The dbRDA on Bray-Curtis distance (Fig. 6) showed that neither tree species nor the other environmental variables significantly explained the dissimilarity in ant species composition (respectively 17% of inertia explained on axis 1 and 9% on axis 2, p -value = 0.20).

4 Discussion

To our knowledge, the present work is the first considering communities under a dominant tree species in Mediterranean urban woodlands. Using a multi-scale approach, we showed that, in this context, ant communities are mainly influenced by the percentage of canopy cover and soil properties rather than landscape properties.

4.1 Ant community description

Our study shows that the most common ant species found in the studied urban woodland fragments composed of *A. ichnusa*, *C. scuttelaris*, *T. lichtensteini*, *F. gagates*, and *P. pallidula* (Fig. 2), are typical for Mediterranean woodlands (Blatrix et al., 2016; Arnan et al., 2012; Retana et al., 2015). Most of these species exhibit a preference for forested habitats, except for *P. pallidula*, which is considered a xerophilic ubiquitous species, but can be found in a wide range of habitats, including both open and forested areas (Arnan et al., 2012; Retana et al., 2015). However, some species, which had been expected to be common in Mediterranean woodlands, were either sampled in low occurrences or not at all. For instance, *L. cinereus* was sampled in low occurrences (Fig. 2), even though it is a ubiquitous species found in Mediterranean woods. *Camponotus vagus* (Scopoli, 1763), another typical ant of wooded areas, was not sampled. Other species such as *C. lateralis*, *Dolichoderus quadripuncatus* (Linnaeus, 1771), *Camponotus truncatus* (Spinola, 1808), and *Camponotus fallax* (Nylander, 1856), which are essentially arboreal ants that seek their food in trees, were also sampled in low occurrences or not at all, which was not surprising given that the pitfall technique does not enable the sampling of this type of species. We also sampled some unexpected species in the wooded habitats such as *M. ibericus*, *C. aethiops*, *C. cruentatus*, *M. barbarus*, *C. sordidula*, which are known to prefer open habitat. However, they were found at one site only. Their presence could be explained by the fact that the site was close to an area favorable to these species, and some workers were able to venture into the wooded area to search for food.

4.2 Canopy cover effect mediated by the tree species

In our study, the tree species effect on ant occurrence was only marginally significant, with ant occurrence slightly higher in *P. halepensis* stands compared to *Q. ilex* stands. Tree species may drive directly or indirectly environmental heterogeneity at local scale (Lavelle et al., 2003; Barrios et al.,

2012; Cesarz et al., 2013), including variables monitored in our study such as canopy cover, soil physicochemical properties or understory plant cover. In line, we found a significant effect of tree species on canopy cover as well as on soil PCA axis related with soil P content, organic matter and Pb content (Table S1; Fig. S3) but canopy cover only significantly altered ant occurrence, with greater densities when the canopy cover decreases.

Previous studies have demonstrated that the decrease of canopy cover has a positive effect on ant abundance (Arnan et al., 2009; Bernadou et al., 2013; Blatrix et al., 2017), which can be explained by the amount of sunlight that reaches the undergrowth, and in turn affects the microclimatic conditions of the understory. As the canopy becomes more open, more light comes through, increasing the temperature locally, and could favor ant colonies, which are mainly thermophilic organisms (Hölldobler and Wilson, 1990). The acceleration of brood development due to increased soil temperature can result in a rapid increase in the number of individuals in the colony (Kipyatkov and Lopatina 2015), as well as an increase in foraging activities and gallery constructions within the colony (Blatrix et al., 2017).

In contrast with ant occurrence response, we found no effect of canopy cover on ant richness. Habitats with higher vegetation cover could contain a low range of thermal niches, as vegetation cover buffers temperature variability (Sánchez-García et al., 2022). This may result in a decrease of species richness compared to more open habitats, where a wider range of thermal niches can sustain different species active at different times of the day (Sánchez-García et al., 2022). However, in this study, the variations in canopy cover were not sufficient to filter ant species based on their thermal niches.

4.3 Effect of texture and heavy metals on ant occurrences

The second factor significantly influencing ant communities is the soil texture. Thus, ant occurrences increased with the percentage of clay, and decreased when the amount of sand increased (Table 1; Fig. 5a). Indeed, in dry environments (like Montpellier in summer), water availability strongly filters ant communities (Blatrix et al., 2017), and sandy soils can increase the risk of colony desiccation (Ali et al., 1986). In contrast, the higher water retention capacity of clay soil compared to sandy soil (Lavelle et al, 2005) could favor ant communities in these urban woodlands (Vasconcelos et al., 2003). Additionally, soil texture can determine the ease with which ants can tunnel the soil and construct chambers and may play a significant role in structuring ant communities (Boulton et al., 2005). Although a high clay content soil is more difficult to dig into, limiting the establishment of new colonies (Boulton et al., 2005), colonies could benefit from the fact that clay is more stable than sand (Lavelle et al, 2005). Indeed, clay can act as cement in the nest, which could require less gallery maintenance within the colony and could allow ants to devote more time to foraging activities.

Furthermore, in our study, we found a significant positive correlation between Ni and Zn and ant occurrences. It is well known that urban soils frequently contain more metals compared to other land-uses (Joimel et al., 2016), which can be mainly caused by road traffic, contact of water with buildings and pavements or industries (Vecchi et al., 2008). Evidence for a direct influence of metal pollution on ant species diversity and occurrences has not yet been provided but some studies show that ants in general are relatively resistant to metal pollution due to their high metal regulation efficiency (Grześ, 2010), with some species, such as *C. scuttelaris* (highly frequent in our study) that can even bioaccumulate heavy metals (Gramigni et al., 2013). Such low sensibility could increase their competition advantage in urban contexts (Grześ, 2009). However, in our study, the positive correlation between metal pollution and ant occurrence does not prove any real effect on ant communities and could just be due to the higher amount of metal when the clay content increased, as clay can adsorb and retain heavy metals due to its mineral composition (Uddin, 2017).

4.4 No effect of landscape properties on communities

We did not observe any effect of landscape variables on ant species richness, occurrences, and community composition. This contrasts with the theory of island biogeography applied to the urban context stating that fragmentation is one of the main drivers of biological communities (TIB, McArthur and Wilson, 1967). In line with this theory, several studies have documented a significant impact of landscape variables on ant communities in various urban settings, spanning different continents; in Europe (Antonova and Penev, 2006; Melliger et al., 2018; Braschler et al., 2021), and in America (Sandford et al., 2010; Egerer et al., 2017; Perez and Diamond, 2019;).

A possible explanation of the lack of responses of ant communities to landscape variables in our study might be due to a restricted range in urbanization levels due to the lack of urban woodland within the city center meeting our selection criteria. The city center of Montpellier has a typical Mediterranean city structure with a highly impermeable city center city center, where woodlands are very rare and their size is insufficient regarding our selecting criteria. Moreover, these city center sites are more diversified in tree species due to the planting of ornamental and exotic species in parks (Zipperer et al., 1997). However, even in the absence of extreme values (both natural and highly urbanized levels), we noted significant variations in impervious surface levels (ranging from 5 to 55%) among the sites. One might reasonably anticipate an influence on ant communities.

Alternatively, ants may exhibit less sensitivity to landscape barriers compared to non-flying species. Indeed, active dispersal capacities of most woodland Mediterranean ant species, thanks to their mating flight (Hölldobler and Wilson 1990), seems to be strong enough to overcome habitat fragmentation filtering in our study, enabling them to colonize isolated habitat patches (Vepsäläinen

and Pisarski, 1982) However, these results must be confirmed in other urban systems, and data on ant dispersal abilities are limited to a few species (Helms, 2017; Hakala et al., 2019).

4.5 Conclusion

This study is the first to investigate the effect of tree species on ant communities in Mediterranean wooded areas within an urban context. While we did not find a significant effect of tree species or landscape variables on ant community composition, our findings highlight the importance of local-scale factors such as canopy cover and soil texture. These factors, specifically the level of canopy openness and soil clay content, were found to influence ant occurrences.

Our results prove the interest in keeping or developing wooded areas in cities. By integrating management measures that promote a balanced canopy structure, urban forest conservation efforts can create more favorable conditions for ant communities. These measures can include selectively pruning or thinning trees to create a mixture of open and shaded areas (canopy management). By addressing these factors, we can support the conservation of ants within urban wooded areas better.

Moving forward, future studies should consider variations in undergrowth management practices and examine the potential competition dynamics between different ant species to further understand the mechanisms underlying community structuring.

5 Supplementary materials

Table S1 Results of MANOVA and Post hoc ANOVA: Testing the link between tree species identity and numerical variables used in GLMs and dbRDA models. The level of significance is indicated (*, ***: p-value <0.01<0), the significant p-value are in bold.

	Tree species identity		
	F	df	P
MANOVA	16.45	1	3.132e-06
Post hoc ANOVA			
Canopy cover	40.72	1	2.02e-06***
Understorey plant cover	2.23	1	0.15
PC1soil	0.42	1	0.52
PC2soil	22.80	1	9.085e-05***
PC1landscape	6.29	1	0.02*
PC2landscape	6e-04	1	0.98

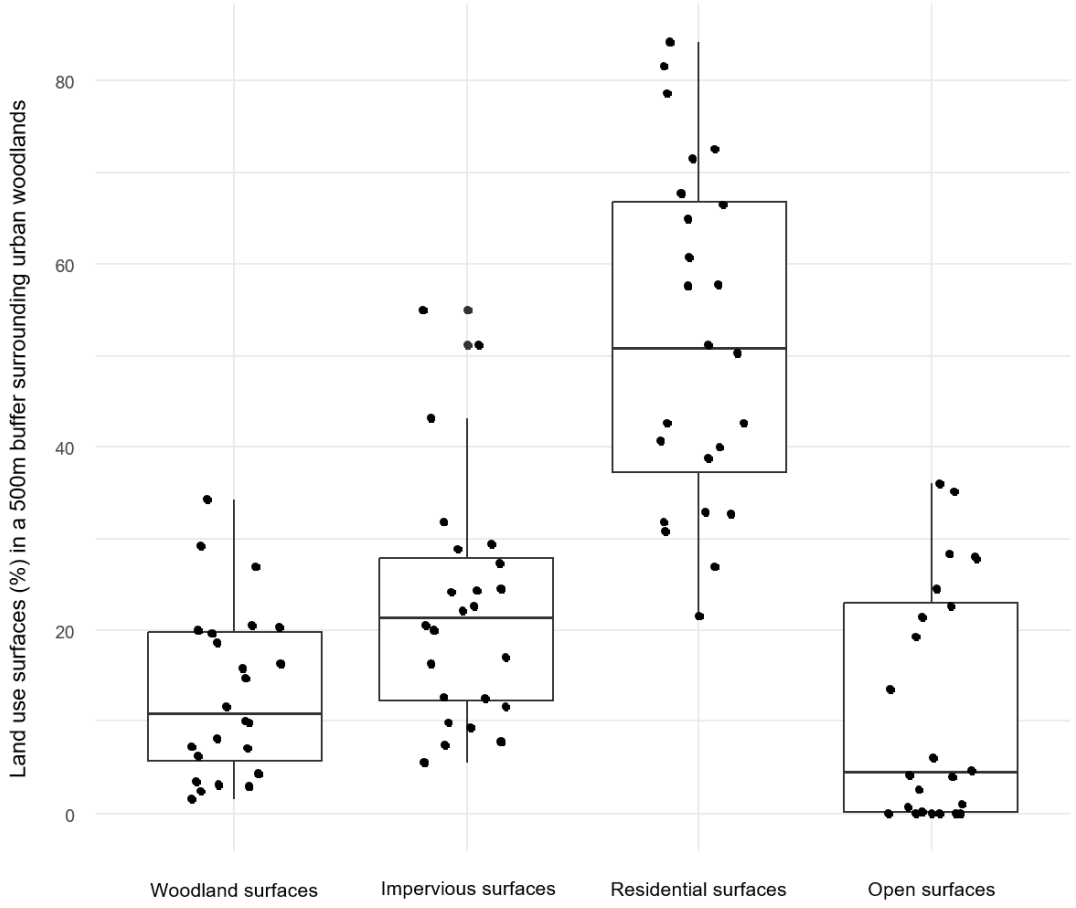


Fig. S1 Variation in the percentage of land use surfaces within a 500m buffer surrounding urban woodlands.

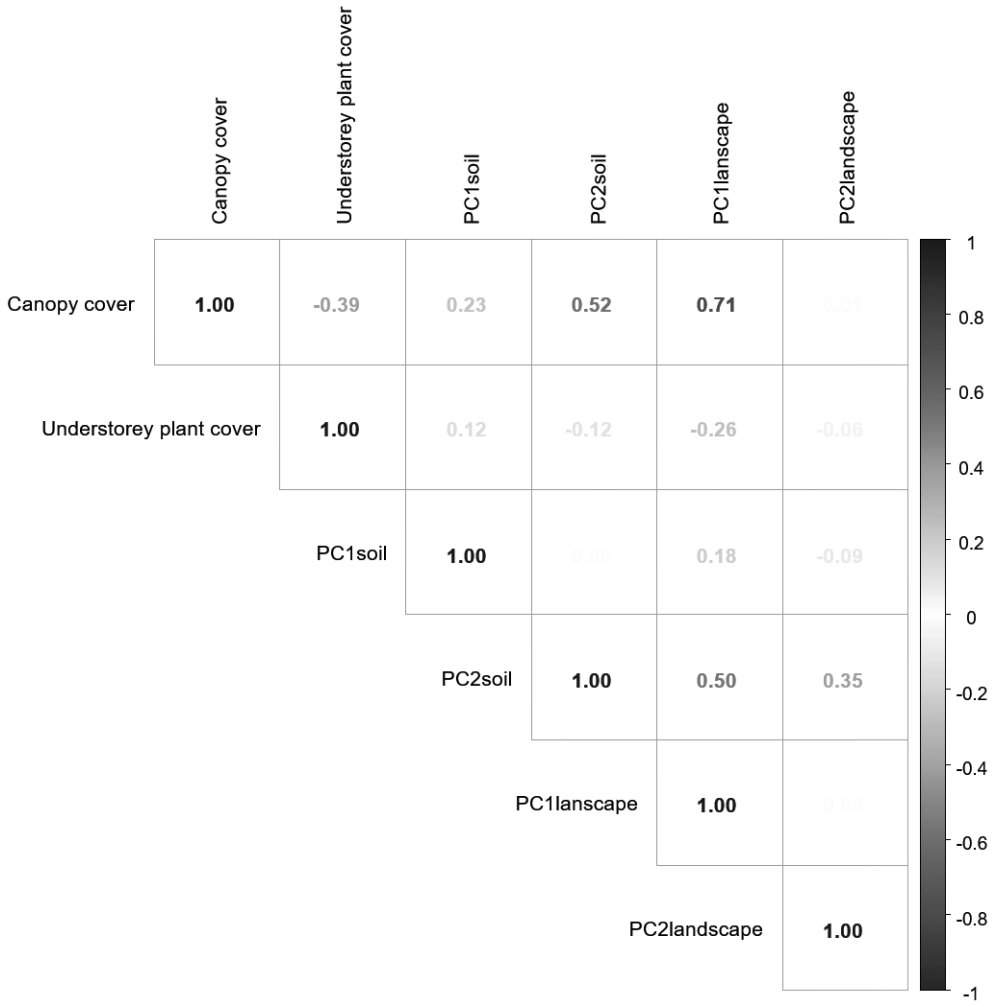


Fig. S2 Corrplot depicting correlation coefficient among the explanatory variables of ant abundance, diversity and community composition. Two variables were considered as correlated if r>0.7.

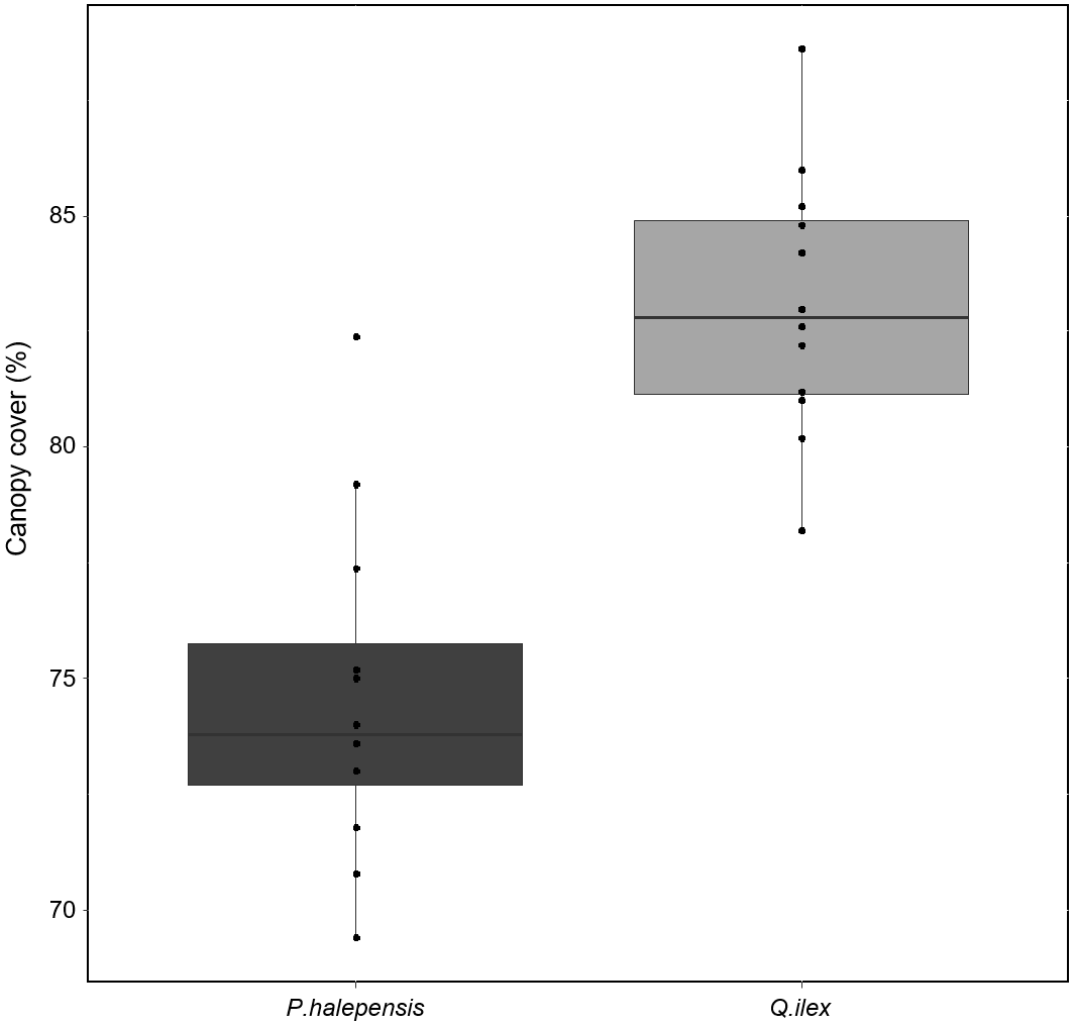


Fig. S3 Variation in canopy cover between *Q. ilex* dominated woodlands and *P. halepensis* dominated woodlands.

6 References

Agosti D, Majer JD, Alonso LE, Schultz TR (2000) Ants: Standard methods for measuring and monitoring biodiversity. Smithsonian Institution Press, Washington, DC.

Ali AD, Hudnall WH, Reagan TE (1986) Effects of soil types and cultural practices on the fire ant, Solenopsis invicta, in sugarcane. Agriculture, Ecosystems & Environment 18(1): 63-71.

Alonso LE, Agosti D (2000) Biodiversity studies, monitoring, and ants: An overview. In: Ants: Standard methods for measuring and monitoring biodiversity, 1.

Andersen AN, Hoffmann BD, Muller WJ, Griffiths AD (2002) Using ants as bioindicators in land management: Simplifying assessment of ant community responses. Journal of Applied Ecology 39(1): 8-17. https://doi.org/10.1046/j.1365-2664.2002.00704.x

Antarea (Accessed 3 June 2023) Répartition du nombre d'espèces par département. http://antarea.fr/fourmi/?repartition/nombre-especes-departement.html

Antonov IA (2008) Ant assemblages of two cities with different ecological conditions in Southern Cisbaikalia. Russian Journal of Ecology 39(6): 454-456. https://doi.org/10.1134/S106741360806012X

Arnan X, Cerdá X, Retana J (2012) Distinctive life traits and distribution along environmental gradients of dominant and subordinate Mediterranean ant species. Oecologia 170(2): 489-500. https://doi.org/10.1007/s00442-012-2315-y

Arnan X, Rodrigo A, Retana J (2007) Uncoupling the effects of shade and food resources of vegetation on Mediterranean ants: An experimental approach at the community level. Ecography 30(2): 161-172. https://doi.org/10.1111/j.0906-7590.2007.04796.x

Arnan X, Gracia M, Comas L, Retana J (2009) Forest management conditioning ground ant community structure and composition in temperate conifer forests in the Pyrenees Mountains. Forest Ecology and Management 258: 51-59.

Barrios E, Sileshi GW, Shepherd K, Sinclair F (2012) Agroforestry and soil health: Linking trees, soil biota and ecosystem services. In: Soil Ecology and Ecosystem Services. Oxford University Press, Oxford, pp. 315-330.

Bayley D (2001) Efficient Weed Management. NSW Agriculture, Paterson.

Beninde J, Veith M, Hochkirch A (2015) Biodiversity in cities needs space: A meta-analysis of factors determining intra-urban biodiversity variation. Ecology Letters 18(6): 581-592. https://doi.org/10.1111/ele.12427

Bernadou A, Céréghino R, Barcet H, Combe M, Espadaler X, Fourcassié V (2013) Physical and land-cover variables influence ant functional groups and species diversity along elevational gradients. Landscape Ecology 28: 1387-1400.

Besse F, Conigliaro M, Fages B, Gauthier M, Mille G, Salbitano F, Sanesi G (2014) Montpellier, green city. Unasylva (English ed.) 65(242): 23-28.

Bestelmeyer BT, Wiens K (2001) Ant biodiversity in semiarid landscape mosaics: the consequences of grazing vs. natural heterogeneity. Ecological Applications 11(4): 1123-1140.

Blatrix R, Galkwoski C, Lebas C, Wegnez P (2013) Fourmis de France. Delachaux & Niestlé, Paris, 287 pp.

Blatrix R, Lebas C, Galkowski C, Wegnez P, Pimenta R, Morichon D (2017) Vegetation cover and elevation drive diversity and composition of ant communities (Hymenoptera: Formicidae) in a Mediterranean ecosystem.

Borcard D, Gillet F, Legendre P (2011) Numerical ecology with R. Springer, New York, Dordrecht, London, Heidelberg, 306 pp.

Boulton AM, Davies KF, Ward PS (2005) Species Richness, Abundance, and Composition of Ground-Dwelling Ants in Northern California Grasslands: Role of Plants, Soil, and Grazing. Environmental Entomology 34(1): 96–104.

Cerdá X, Retana J, & Manzaneda, A (1998). The role of competition by dominants and temperature in the foraging of subordinate species in Mediterranean ant communities. Oecologia, 117, 404-412.

Cesarz S, Ruess L, Jacob M, Jacob A, Schaefer M, Scheu S (2013) Tree species diversity versus tree species identity: Driving forces in structuring forest food webs as indicated by soil nematodes. Soil Biology and Biochemistry 62: 36-45.

Clarke KM, Fisher BL, LeBuhn G (2008) The influence of urban park characteristics on ant (Hymenoptera, Formicidae) communities. Urban Ecosystems 11(3): 317-334.

Climate-data.org (2021) Montpellier Climat (France). Accessed June 4, 2021.

Crawley MJ (2009) The R book. Wiley, Chicago.

Cuttelod A, García N, Malak DA, Temple HJ, Katariya V (2009) The Mediterranean: a biodiversity hotspot under threat. Wildlife in a Changing World–an analysis of the 2008 IUCN Red List of Threatened Species 89(2019): 9.

Cesarz S, Ruess L, Jacob M, Jacob A, Schaefer M, Scheu S (2013) Tree species diversity versus tree species identity: Driving forces in structuring forest food webs as indicated by soil nematodes. Soil Biology and Biochemistry 62: 36-45. https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2013.02.020

Dominik C, Seppelt R, Horgan FG, Settele J, Václavík T (2018) Landscape composition, configuration, and trophic interactions shape arthropod communities in rice agroecosystems. Journal of Applied Ecology 55(5): 2461–2472. https://doi.org/10.1111/1365-2664.13226

Dormann CF, McPherson JM, Araújo MB, Bivand R, Bolliger J, Carl G, Davies RG, Hirzel A, Jetz W, Kissling WD, Kühn I, Ohlemüller R, Peres-Neto PR, Reineking B, Schröder B, Schurr FM, Wilson R (2007) Methods to account for spatial autocorrelation in the analysis of species distributional data: A review. Ecography 30(5): 609-628. https://doi.org/10.1111/j.2007.0906-7590.05171.x

Dormann CF, Elith J, Bacher S, Buchmann C, Carl G, Carré G, G. Davies RG, Gruber B, Lafourcade B, Leitão PJ, Münkemüller T, McClean C, Osborne PE, Reineking B, Schröder B, Skidmore AK, Zurell D, Lautenbach S (2013) Collinearity: A review of methods to deal with it and a simulation study evaluating their performance. Ecography 36(1): 27-46. https://doi.org/10.1111/j.1600-0587.2012.07348.x

Dreistadt SH, Dahlsten DL, Frankie GW (1990) Urban Forests and Insect Ecology. BioScience 40(3): 192-198. https://doi.org/10.2307/1311364

Fahrig L (2003) Effects of Habitat Fragmentation on Biodiversity. Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics 34(1): 487–515. https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.34.011802.132419

Fenoglio MS, Rossetti MR, Videla M (2020) Negative effects of urbanization on terrestrial arthropod communities: A meta-analysis. Global Ecology and Biogeography 29(8): 1412-1429. https://doi.org/10.1111/geb.13107

Forys EA, Allen CR (2005) The Impacts of Sprawl on Biodiversity: The Ant Fauna of the Lower Florida Keys. Ecology and Society 10(1): art25. https://doi.org/10.5751/ES-01307-100125

Fuller RJ, Oliver TH, Leather SR (2008) Forest management effects on carabid beetle communities in coniferous and broadleaved forests: Implications for conservation. Insect Conservation and Diversity 1(4): 242-252. https://doi.org/10.1111/j.1752-4598.2008.00032.x

Ganault P, Nahmani J, Hättenschwiler S, Gillespie LM, David J-F, Henneron L, Iorio E, Mazzia C, Muys B, Pasquet A, Prada-Salcedo LD, Wambsganss J, Decaëns T (2021) Relative importance of tree species richness, tree functional type, and microenvironment for soil macrofauna communities in European forests. Oecologia, 196(2): 455-468. https://doi.org/10.1007/s00442-021-04931-w

Gonsamo A, D'Odorico P, Pellikka P (2013) Measuring fractional canopy element cover and openness – definitions and methodologies revisited. Oikos 122: 1283–1291.

Gotelli NJ, Ellison AM, Dunn RR, Sanders NJ (2011) Counting ants (Hymenoptera: Formicidae): Biodiversity sampling and statistical analysis for myrmecologists.

Gramigni E, Calusi S, Gelli N, Giuntini L, Massi M, Delfino G, Santini G (2013) Ants as bioaccumulators of metals from soils: Body content and tissue-specific distribution of metals in the ant Crematogaster scutellaris. European Journal of Soil Biology 58: 24–31.

Grimm NB, Faeth SH, Golubiewski NE, Redman CL, Wu J, Bai X, et al. (2008) Global change and the ecology of cities. Science 319(5864): 756–760. https://doi.org/10.1126/science.1150195

Grześ IM (2009) Ant species richness and evenness increase along a metal pollution gradient in the Bolesław zinc smelter area. Pedobiologia 53(1): 65-73. https://doi.org/10.1016/j.pedobi.2009.03.002

Grześ IM (2010) Ants and heavy metal pollution – A review. European Journal of Soil Biology 46(6): 350-355. https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2010.09.004

Haddad NM, Brudvig LA, Clobert J, Davies KF, Gonzalez A, Holt RD, et al. (2015) Habitat fragmentation and its lasting impact on Earth's ecosystems. Science advances 1(2): e1500052.

Hakala SM, Perttu S, Helanterä H (2019) Evolution of dispersal in ants (Hymenoptera: Formicidae): A review on the dispersal strategies of sessile superorganisms. Myrmecological News 29.

Helms JA (2018) The flight ecology of ants (Hymenoptera: Formicidae). Myrmecological News 26(2): 19-30.

Hewitt GM (2011) Mediterranean peninsulas: the evolution of hotspots. In Biodiversity hotspots, pp. 123-147. Springer, Berlin, Heidelberg.

Hölldobler B, Wilson EO (1990) The Ants. Cambridge.

Holway DA, Suarez AV (2006) Homogenization of ant communities in mediterranean California: The effects of urbanization and invasion. Biological Conservation 127(3): 319-326. https://doi.org/10.1016/j.biocon.2005.05.016

Ješovnik A, Bujan J (2021) Wooded areas promote species richness in urban parks. Urban Ecosystems 24(6): 1305-1315. https://doi.org/10.1007/s11252-021-01112-8

Jim CY (2017) Conservation and Creation of Urban Woodlands. Greening Cities, 307–330.

Joimel S, Cortet J, Jolivet CC, Saby NPA, Chenot ED, Branchu P, et al. (2016) Physico-chemical characteristics of topsoil for contrasted forest, agricultural, urban and industrial land uses in France. Science of the Total Environnent 545: 40-47.

Joly FX, Milcu A, Scherer-Lorenzen M, Jean LK, Bussotti F, Dawud SM, et al. (2017) Tree species diversity affects decomposition through modified micro-environmental conditions across European forests. New Phytologist, 214, 1281–1293. https://doi.org/10.1111/nph.14452

Jones CG, Lawton JH, Shachak M (1994) Organisms as ecosystem engineers. Oikos, 373-386.

Jung M (2016) LecoS — A python plugin for automated landscape ecology analysis. Ecological Informatics, 31, 18-21. https://doi.org/10.1016/j.ecoinf.2015.11.006

Kamau S, Barrios E, Karanja NK, Ayuke FO, Lehmann J (2017) Soil macrofauna abundance under dominant tree species increases along a soil degradation gradient. Soil Biology and Biochemistry, 112, 35-46. https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2017.04.016

Kassambra A, Mundt F (2020) factoextra: Extract and Visualize the Results of Multivariate Data Analyses. R package version 1.0.7. https://CRAN.R-project.org/package=factoextra

Kipyatkov VE, Lopatina EB (2015) Comparative study of thermal reaction norms for development in ants: Thermal reaction norms in ants. Entomological Science, 18(2), 174-192. https://doi.org/10.1111/ens.12098

Korboulewsky N, Perez G, Chauvat M (2016) How tree diversity affects soil fauna diversity: A review. Soil Biology and Biochemistry, 94, 94-106. https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2015.11.024

Krishnadas M, Stump SM (2021) Dispersal limitation and weaker stabilizing mechanisms mediate loss of diversity with edge effects in forest fragments. Journal of Ecology, 109(5), 2137-2151.

Lavelle P, Senapati B, Barros E (2003) Soil macrofauna. In: Schroth G, Sinclair FL (Eds.), Trees, Crops and Soil Fertility: Concepts and Research Methods. CAB International, Wallingford, pp. 303e323.

Lavelle P, Spain AV (2005) Soil Ecology. Springer, Kluwer Academic Publishers.

Le Coent P et al. (2023) Can NBS Address the Challenges of an Urbanized Mediterranean Catchment? The Lez Case Study. In: López-Gunn E, van der Keur P, Van Cauwenbergh N, Le Coent P, Giordano R (eds) Greening Water Risks. Water Security in a New World. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-031-25308-9_14

Le S, Josse J, Husson F (2008) FactoMineR: An R Package for Multivariate Analysis. Journal of Statistical Software, 25(1), 1-18. 10.18637/jss.v025.i01

Lebas C (2021) «Key to identifying common French ants». Accessed June 10, 2021. [Online]. http://keyants.free.fr/castes-ants.html

Lövei GL, Magura T, Tóthmérész B, Ködöböcz V (2006) The influence of matrix and edges on species richness patterns of ground beetles (Coleoptera: Carabidae) in habitat islands. Global Ecology and Biogeography, 15(3), 283-289.

MacArthur RH, Wilson EO (1967) The Theory of Island Biogeography. Princeton University Press, Princeton, New Jersey.

Magura T, Hornung E, Tóthmérész B (2008) Abundance patterns of terrestrial isopods along an urbanization gradient. Community Ecology, 9(1), 115-120. https://doi.org/10.1556/ComEc.9.2008.1.13

McDonnell MJ, Hahs AK (2008) The use of gradient analysis studies in advancing our understanding of the ecology of urbanizing landscapes: Current status and future directions. Landscape Ecology, 23(10), 1143-1155. https://doi.org/10.1007/s10980-008-9253-4

McKinney ML (2002) Urbanization, biodiversity and conservation. Bioscience 52:883–890.

Melbourne BA (1999) Bias in the effect of habitat structure on pitfall traps: an experimental evaluation. Australian Journal of Ecology, 24, 228-239.

Melliger RL, Braschler B, Rusterholz H-P, Baur B (2018) Diverse effects of degree of urbanisation and forest size on species richness and functional diversity of plants, and ground surface-active ants and spiders. PLOS ONE, 13(6), e0199245. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0199245

Murcia C (1995) Edge effects in fragmented forests: implications for conservation. Trends in Ecology & Evolution, 10(2), 58–62.

Nooten S, Schultheiss P, Rowe R C, Facey S L, Cook J M (2019) Habitat complexity affects functional traits and diversity of ant assemblages in urban green spaces (Hymenoptera: Formicidae).

OpenData Montpellier (2020) « Evolution de l'occupation du sol de Montpellier Méditerranée Métropole ».

Paletto A, De Meo I, Cantiani P, Ferretti F (2014) Effects of forest management on the amount of deadwood in Mediterranean oak ecosystems. Annals of Forest Science, 71(7), 791-800.

Philpott SM, Cotton J, Bichier P, Friedrich RL, Moorhead LC, Uno S, Valdez M (2014) Local and landscape drivers of arthropod abundance, richness, and trophic composition in urban habitats. Urban Ecosyst, 20.

QGIS Development Team (2014) « QGIS Geographic Information System 2.2.0. ».

Quezel P (1979) La région méditerranéenne française et ses essences forestières, signification écologique dans le contexte circum-méditerranéen. Forêt méditerranéenne.

R Development Core Team (2019) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing.

Retana J, Arnan X, Cerdá X (2015) A multidimensional functional trait analysis of resource exploitation in European ants. Ecology, 96(10), 2781-2793. https://doi.org/10.1890/14-2326.1

Sala OE, Stuart Chapin F, Iii, Armesto JJ, Berlow E, Bloomfield J, Dirzo R, Huber-Sanwald E, Huenneke LF, Jackson RB, Kinzig A, Leemans R, Lodge DM, Mooney HA, Oesterheld M, Poff NL, Sykes MT, Walker BH, Walker M, Wall DH (2000) Global Biodiversity Scenarios for the Year 2100. Science, 287(5459), 1770 1774. https://doi.org/10.1126/science.287.5459.1770

Sánchez-García D, Cerdá X, Angulo E (2022) Temperature or competition: Which has more influence on Mediterranean ant communities? PLOS ONE, 17(4), e0267547. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0267547

Sanders NJ, Lessard J-P, Fitzpatrick MC, Dunn RR (2007) Temperature, but not productivity or geometry, predicts elevational diversity gradients in ants across spatial grains. Global Ecology and Biogeography, 16(5), 640-649. https://doi.org/10.1111/j.1466-8238.2007.00316.x

Sanford MP, Manley PN, Murphy DD (2009) Effects of urban development on ant communities: implications for ecosystem services and management. Conservation Biology, 23, 131-141.

Santos MN (2016) Research on urban ants: Approaches and gaps. Insectes Sociaux, 63(3), 359 371. https://doi.org/10.1007/s00040-016-0483-1

Schelfhout S, Mertens J, Verheyen K, Vesterdal L, Baeten L, Muys B, De Schrijver A (2017) Tree Species Identity Shapes Earthworm Communities. Forests, 8(3), 85. https://doi.org/10.3390/f8030085

Schultheiss P, Nooten SS, Wang R, Wong MK, Brassard F, Guénard B (2022) The abundance, biomass, and distribution of ants on Earth. Proceedings of the National Academy of Sciences, 119(40), e2201550119.

Seifert B (2000) Rapid range expansion in Lasius neglectus (Hymenoptera, Formicidae)—an Asian invader swamps Europe. Deutsche Entomologische Zeitschrift, 47(2), 173-179.

Seifert B (2017) The ecology of Central European non-arboreal ants – 37 years of a broad-spectrum analysis under permanent taxonomic control. Soil Organisms 89:1–67.

Tartally A, Antonova V, Espadaler X, Csősz S, Czechowski W (2016) Collapse of the invasive garden ant, Lasius neglectus, populations in four European countries. Biological Invasions, 18(11), 3127-3131. https://doi.org/10.1007/s10530-016-1227-x

Tichý L (2016) Field test of canopy cover estimation by hemispherical photographs taken with a smartphone. Journal of Vegetation Science, 27(2), 427-435. https://doi.org/10.1111/jvs.12350

Thompson B, McLachlan S (2007) The effects of urbanization on ant communities and myrmecochory in Manitoba, Canada. Urban Ecosystems, 10(1), 43-52. https://doi.org/10.1007/s11252-006-0013-4

Traniello JFA (1989) Foraging Strategies of Ants. Annual Review of Entomology, 34(1), 191–210. doi:10.1146/annurev.en.34.010189.001203 (https://doi.org/10.1146/annurev.en.34.010189.001203)

Uddin MK (2017) A review on the adsorption of heavy metals by clay minerals, with special focus on the past decade. Chemical Engineering Journal, 308, 438-462. https://doi.org/10.1016/j.cej.2016.09.029

United Nation (2014) World urbanization prospects. https://www.un.org/fr/desa/world-urbanization-prospects

United Nations (2020) Policies on spatial distribution and urbanization have broad impacts on sustainable development. Population Facts, 2020(1).

Underwood EC, Fisher BL (2006) The role of ants in conservation monitoring: If, when, and how. Biological Conservation, 132(2), 166-182. https://doi.org/10.1016/j.biocon.2006.03.022

Uno S, Cotton J, Philpott SM (2010) Diversity, abundance, and species composition of ants in urban green spaces. Urban Ecosystems, 13(4), 425-441.

U.S. Environmental Protection Agency (1996) « Acid digestion of sediments, sludges and soils ». Test methods for evaluating solid waste, physical/chemical methods, 846 :1–12.

Vasconcelos HL, Macedo ACC, Vilhena JMS (2003) Influence of Topography on the Distribution of Ground-Dwelling Ants in an Amazonian Forest. Studies on Neotropical Fauna and Environment, 38(2), 115-124. https://doi.org/10.1076/snfe.38.2.115.15923

Vergnes A (2012) Connectivité des paysages urbains et faune épigée : approche multi-échelle et multi-taxon. Paris : Muséum national d'histoire naturelle, 248 p.

Vergnes A, Le Viol I, Clergeau P (2012) Green corridors in urban landscapes affect the arthropod communities of domestic gardens. Biological Conservation, 145(1), 171-178.

Vergnes A, Blouin M, Muratet A, Lerch TZ, Mendez-Millan M, Rouelle-Castrec M, Dubs F (2017) Initial conditions during Technosol implementation shape earthworms and ant's diversity. Landscape and Urban Planning, 159, 32-41. https://doi.org/10.1016/j.landurbplan.2016.10.002

Vepsäläinen K, Ikonen H, Koivula MJ (2008) The Structure of Ant Assemblages in an Urban Area of Helsinki, Southern Finland. Annales Zoologici Fennici, 45(2), 109 127. https://doi.org/10.5735/086.045.0203

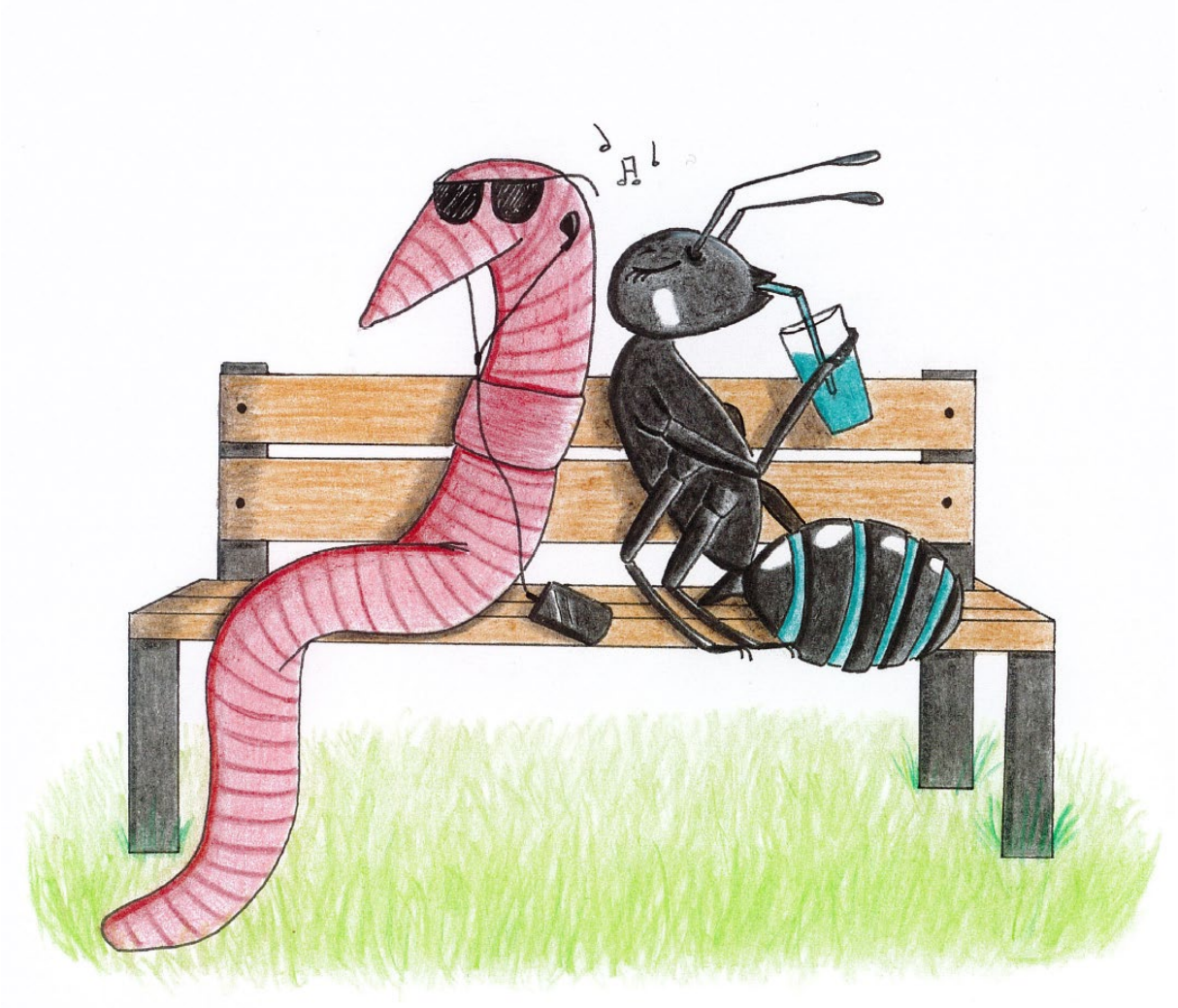
Vepsäläinen K, Pisarski B (2023) Assembly of island ant communities.

Wilson EO, Hölldobler B (2005) The rise of the ants: a phylogenetic and ecological explanation. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 102(21), 7411-7414.

Zipperer WC, Sisinni SM, Pouyat RV, Foresman TW (1997) « Urban Ecosystems, 1(4), 229–246. » https://doi.org/10.1023/A:1018587830636

AXE 2

Réponse des communautés de vers de terre et de fourmis dans des espaces verts productifs et non productifs de la métropole de Montpellier



Résumé long Axe 2

L'objectif de cet axe était de i) comparer l'abondance, la richesse spécifique et la composition des communautés de fourmis et de vers de terre dans une grande variété d'espaces verts urbains à usages productifs et non productifs et de ii) déterminer les caractéristiques de l'habitat et du paysage environnant qui influent sur ces communautés.

Les hypothèses de cette étude sont les suivantes :

- En raison de leurs capacités de dispersion distinctes, les vers de terre et les fourmis ne seront pas influencés par les mêmes variables environnementales. Les communautés de vers de terre seront davantage influencées par les variables paysagères en raison de leur capacité de dispersion limitée, tandis que les communautés de fourmis seront plus influencées par les variables locales liées aux types d'usage du sol en raison de leur plus grande capacité de dispersion.
- Les espaces verts sélectionnés, caractérisés par différents types d'usages du sol, abriteront des communautés distinctes de vers de terre et de fourmis. En effet, les sites productifs présenteront une plus grande diversité de microhabitats par rapport aux autres types d'usages du sol. Cette diversité influencera la composition des communautés de fourmis et de vers de terre.
- Les pratiques de gestion du sol influenceront les catégories écologiques des vers de terre et des fourmis. Dans les usages du sol où le sol est fortement perturbé par le travail du sol ou un piétinement important, seuls les vers de terre endogés seront présents car ils sont particulièrement tolérants aux perturbations du sol, et une majorité de fourmis indicatrices d'environnements perturbés seront observées. Dans les usages du sol avec une perturbation moindre, les trois catégories écologiques de vers de terre seront représentées, et davantage de fourmis indicatrices d'écosystèmes matures seront observées

Cette étude a été réalisée en 2021 dans la métropole de Montpellier ; 40 sites ont été sélectionnés au sein de la métropole en utilisant un plan d'échantillonnage prenant en compte deux modalités croisées : le niveau d'urbanisation environnant et l'usage du sol. Les sites ont été choisis en fonction de leur affiliation à quatre types différents d'usage du sol : Parc urbain (UP), Linéaire de voirie (RL), Rond-point (RB) et Jardin partagé (SG) (Figure I). Les types d'usages du sol ont été classés et regroupés en deux modalités : productive (SG), et non productive, englobant les sites à des fins ornementales ou récréatives (UP, RL et RB). Les sites productifs permettaient le labour du sol, des amendements et l'irrigation, tandis que les sites non productifs étaient couverts de

pelouse permanente et étaient irrigués en été. Pour couvrir un gradient d'urbanisation, la moitié des sites pour chaque type d'usage du sol étaient situés dans le centre-ville, et l'autre moitié en périphérie.



Figure I : photographies illustrant un exemple de chaque type d'espace vert sélectionné, avec d'une part les espaces verts productifs comprenant un rond-point, un parc urbain et un linéaire de voirie, et d'autre part un espace vert non productif comprenant un jardin partagé.

En décembre 2021, l'échantillonnage des vers de terre a été réalisé par l'extraction de 5 blocs de sol par site (mesurant chacun 20 cm × 20 cm avec une profondeur de 20 cm) à l'intérieur d'une parcelle de 100 m², en utilisant la méthode de tri manuel (Figure II). Les espèces de vers de terre ont été associées à un pourcentage d'appartenance à chacune des trois catégories écologiques définies par Bouché (1977) : épigés, endogés ou anéciques.



Figure II : photographies d’une extraction de bloc de sol (à gauche) et du tri manuel de sol en équipe (à droite) (Crédits photos : Ambre Mautuit et Michel Dulcire).

En octobre 2021, l'échantillonnage des fourmis actives à la surface du sol a été réalisé en utilisant cinq pièges Barber par site à l'intérieur d'une parcelle de 100 m² (la même que celle définie pour l’échantillonnage des vers de terre). Ces pièges étaient composés de pots en plastique de 65 mm de diamètre et 85 mm de profondeur, remplis au tiers d'une solution à 50% de glycol de monopropylène. Chaque espèce échantillonnée a été catégorisée selon trois types d'indicateurs : les indicateurs de perturbation, les indicateurs d'écosystème mature et les espèces cryptiques.

Pour chaque site, l'horizon organo-minéral du sol a été échantillonné en neuf points à l'aide d'une tarière à sol de 7 cm de large et 10 cm de profondeur pour créer un échantillon composite de 600 g par site. Les caractéristiques physico-chimiques (texture, structure, stabilité, indicateurs de la fertilité et de disponibilité des nutriments, éléments traces métalliques) du sol ont été analysées dans un laboratoire spécialisé en France. De plus, une estimation de l'âge du sol a été déterminée pour chaque site en utilisant des informations fournies par la métropole et des images d'archives disponibles sur le Geoportail et Google Earth.

Des variables de composition et de configuration du paysage ont également été calculées à partir de la carte d'utilisation des terres de la ville de Montpellier de 2019 (Opendata Montpellier, échelle

maximale disponible 1/5000) dans 3 zones tampon de rayon 100m, 300m, et 500 mètres autour du centre de chaque site. Les mesures calculées dans le rayon de 300m sont celles retenues pour les analyses.

Les résultats de cette étude montrent que les communautés de vers de terre à Montpellier étaient principalement composées d'espèces endogées pérégrines, telles que *Aporrectodea caliginosa*, *Aporrectodea trapezoides* ou *Allolobophora chlorotica*. Cependant, nous avons également échantillonné une espèce méditerranéenne et endémique de la zone d'étude : *Vignysa teres*. Les communautés de fourmis à Montpellier étaient dominées par trois espèces : *Pheidole pallidula*, *Solenopsis sp.* et *Messor barbarus*, qui sont communes dans les zones avec un climat méditerranéen et largement distribuées dans la métropole de Montpellier. Des espèces non indigènes ont également été échantillonnées pour les deux taxons. Pour les fourmis, quelques individus de *Strumigenys membranifera* et *Linepithema humile* ont été trouvés ainsi que deux espèces de fourmis appartenant au complexe *Tapinoma nigerrimum* ; *Tapinoma magnum* et *Tapinoma darioi*, connues pour être proliférantes à Montpellier. Pour les vers de terre, les espèces non-indigènes *Microscolex dubius* et *Amynthas corticis* ont été échantillonnées.

Contrairement à nos attentes, aucune différence significative n'a été observée pour les différentes catégories écologiques pour les vers de terre et les fourmis entre les modalités et les usages du sol. Cependant, nous avons globalement observé que l'abondance moyenne des vers de terre endogés était significativement plus élevée que celle des vers de terre anéciques et épigés, et que la majorité des espèces de fourmis appartenaient à la catégorie des indicateurs d'environnements perturbés. En ce qui concerne la composition des communautés une différence significative a été observée pour les fourmis entre les sites productifs et non-productifs. La richesse spécifique et l'abondance des vers de terre et des fourmis ne différaient pas entre les différents types d'espaces verts urbains sélectionnés. Cependant, des différences dans la composition des communautés ont été observées pour les vers de terre et les fourmis entre les différents types d'usages du sol. En effet, pour les fourmis, une différence significative a été observée entre les usages "linéaire de voirie" (RL) et "parc urbain" (UP), ainsi qu'une tendance entre RL et "rond-point" (RB). Pour les vers de terre, une différence a été observée entre les "jardins partagés" (SG) et les parcs urbains, ainsi qu'entre les parcs urbains (UP) et les ronds-points (RB).

En ce qui concerne la réponse aux variables environnementales, aucun effet n'a été observé sur la composition des communautés de fourmis et de vers de terre. Cependant, un lien positif a été observé entre la richesse en espèces de vers de terre et le phosphore (P), tandis qu'un effet négatif du zinc a également été remarqué. L'âge du site a un impact négatif sur la richesse en espèces de vers de terre,

avec une richesse spécifique plus faible dans les sites plus récents. De plus une tendance négative de la surface urbanisée autour du site a été observée sur la richesse spécifique des vers de terre. Aucune variable environnementale, que ce soit au niveau local ou paysager, n'a eu d'influence sur la richesse spécifique ou l'abondance des fourmis.

Pour conclure, cette étude est la première à s'intéresser à la réponse des vers de terre et des fourmis dans une grande variabilité d'espaces verts urbains méditerranéens. Contrairement à notre hypothèse d'un effet marqué des différents usages du sol sur la réponse des fourmis et des vers de terre, les résultats suggèrent que des assemblages diversifiés d'espèces de fourmis et de vers de terre, y compris des espèces indigènes et endémiques, peuvent coexister au sein d'une même zone urbaine. Les fourmis et les vers de terre ont présenté des réponses distinctes aux différentes variables environnementales mesurées, avec des effets des différents usages du sol sur la composition des communautés pour les deux taxons, ainsi que des effets des variables environnementales locales et paysagères sur la richesse en espèces de vers de terre.

Article 2: Influence of environmental factors on ants and earthworms in Montpellier's urban green spaces

En préparation

Abstract

Rapid urbanization poses a global threat to biodiversity and especially in soils. However, urban green spaces provide opportunities for biodiversity conservation within cities. Among soil communities, ants and earthworms play crucial roles in ecological processes and serve as good biological indicators for assessing habitat disturbances. Moreover, these organisms exhibit differences, including their dispersal abilities, dietary strategies, trophic status, and life history, which can lead to distinct responses to habitat disturbances at various scales. Our goal is to assess the effects of environmental factors, both at the local and landscape scales, on ant and earthworm communities in diverse urban green spaces, which is essential for urban ecological conservation. Our primary hypothesis posits that Earthworm communities are likely to be significantly influenced by landscape variables, given their limited dispersal capacity, whereas ant communities may be more susceptible to local variables associated with different land use types, owing to their higher dispersal capabilities.

We selected 40 green spaces within the Montpellier metropolis (France) including community gardens, roundabouts, roadside linear, and urban parks. Our result highlights that these communities were predominantly composed of generalist species but also included native and endemic species. However, the two taxa did not respond in the same way to environmental variables. Land use had an impact on the composition of both ant and earthworm communities. Earthworm species richness was influenced by factors at both local and landscape scales, exhibiting a positive correlation with phosphorus (P) and soil age, and a negative association with zinc concentration (Zn) and the urbanized surfaces surrounding the green spaces. Our results suggest that green spaces in the city of Montpellier, despite human influence, can play a significant role in biodiversity conservation.

Keywords: land use, soil engineers, Mediterranean, urbanization

1 Introduction

Over recent decades, urbanization has experienced rapid growth, becoming a major concern with significant impacts on biodiversity, ecosystem functioning, and human well-being (Grimm et al., 2008). The resulting urban areas manifest as a mosaic of land use types, which includes green spaces (Breuste et al., 2008). Although there is not a standardized definition for green spaces (Knobel et al., 2019), for the purpose of this study, they can be defined as vegetated areas located within or near urban areas, encompassing parks, private and community gardens, roadside features, and other non-built green areas. These green spaces can be categorized into two types: productive green spaces, primarily for food production, and non-productive green spaces, valued for their aesthetics and recreational purposes (Morel et al., 2005).

The presence of green spaces within cities plays an important role in urban sustainability and livability, especially concerning the health and well-being of city dwellers. These spaces provide a wide range of ecosystem services across all categories defined by the Millennium Ecosystem Assessment: provisioning, regulating, supporting, and cultural services (Wolch et al., 2014, Kabisch, 2016). Green spaces contribute to pollution removal, noise mitigation, temperature reduction, facilitate rainwater drainage, and offer recreational and cultural values (Bolund et Hunhammar, 1999). Moreover, they can also provide food (Escobedo et al., 2011, Groenewegen et al., 2006). Urban green spaces, as an essential component of urban landscapes, also hold significant importance in biodiversity conservation, serving as habitats and wildlife corridors (Zapparoli, 1997). With the large-scale expansion of urban areas, green spaces are becoming increasingly crucial as wildlife habitats. However, not all green spaces hold the same conservation value, as their size, vegetation cover, and environmental quality can vary substantially (Wolch et al., 2014) due to their contacts with the surrounding urban matrix. Some green spaces such as roundabouts and roadside linear, have received very little attention, being poorly or not considered as city's green spaces and consequently, not recognized for their biodiversity conservation potential (Jones and Leather, 2012). Evaluating the ecological and biodiversity conservation roles provided by different types of urban green spaces is, therefore, essential for planning cities that are conducive to both biodiversity and human well-being.

To assess the role of these spaces in biodiversity conservation and evaluate the impact of urbanization on communities of organisms inhabiting these areas, we chose to focus on studying earthworms and ants. These organisms are intimately linked to the soil and are involved in numerous ecosystem processes (Blouin et al., 2013; Lobry De Bruyn & Conacher, 1990) that influence nutrient cycling, soil formation, soil structure maintenance, primary production, depollution, and water and climate regulation. They are considered ecosystem engineers (sensu Jones et al., 1994). However, earthworms

and ants are also sensitive to environmental disturbances and are thus widely used as bioindicators of ecosystem health and functioning (Decaëns and Jiménez 2002; Fragoso et al. 1997; Andersen & al., 2002; Underwood & Fisher, 2006). Comparing the response of earthworms and ants in an urban context is relevant due to their biological differences, such as their dispersal abilities, dietary strategies, trophic status, and life history (Hölldobler & Wilson, 1990; Bouché, 1972). For example, earthworms have very limited active dispersal capabilities, typically covering only 5 to 10 meters per year (Hale et al., 2006). In contrast, ants exhibit higher dispersal capabilities than most other soil organisms, notably through nuptial flight (Hölldobler & Wilson, 1990). Therefore, one can expect them to respond differently to environmental variables at various scales.

The communities of earthworms in the urban green spaces remain relatively understudied. Only few studies have explored the impact of specific environmental variables in these areas, such as local variables with soil properties (Vergnes et al., 2017), site age (Amossé et al., 2016; Vergnes et al., 2017), soil compaction (Pizl et Schlaghamersky, 2007), management practices (Morales et al., 2013), as well as landscape variables (Vergnes et al., 2017; Xie et al., 2018). The effects of urbanization on ants and the features of green spaces that promote their biodiversity are still unclear (Clarke et al., 2008). However, studies have shed light on the impact of urbanization on ants and have revealed characteristics at both local and landscape scales that influence the communities (Suarez et al. 1998; Lopez-Moreno et al. 2003; Lessard and Buddle 2005; Yamaguchi 2005; Pacheco et Vasconcelos 2007; Thompson et McLachlan 2007; Clarke, 2008; Cordonnier et al., 2019; Dáttilo & MacGregor-Fors, 2021). Furthermore, despite the Mediterranean basin being considered a biodiversity hotspot for earthworms, with the presence of many endemic species (Bouché, 1972), and ants (Hewitt, 2011), few studies have been conducted on these two taxa in a Mediterranean urban context so far.

In this study, we compared the abundance, species richness, and community composition of ants and earthworms in urban green spaces to determine the habitat or landscape characteristics that influence these communities. Our study is relatively unique in that we focused on a wide range of urban green spaces (although see Vepsäläinen et al. 2008). We worked in urban parks, roundabouts, roadside linear, urban farms, and community gardens within a Mediterranean metropolis. Specifically, we addressed two research questions: 1) Do the abundance, richness, and community composition of ants and earthworms differ depending on the type of green space? 2) What are the primary local and landscape factors influencing the abundance, richness, and community composition of ants and earthworms in urban green spaces?

We hypothesized that: H1) Earthworms and ants would not be influenced by the same environmental variables due to their distinct dispersal abilities. Earthworm communities would be more influenced

by landscape variables due to their limited dispersal capacity (Vergnes et al., 2017), while ant communities would be more affected by local variables linked to land use types (soil physicochemical parameters and age) due to their higher dispersal abilities (Helms, 2018). H2) The selected land use types, characterized by significant differences in terms of utilization, will host distinct communities of earthworms and ants. Productive sites like community gardens are expected to showcase greater microhabitat diversity compared to other land use types. This diversity is anticipated to influence the composition of ant and earthworm communities, leading to increased species diversity. Indeed, habitat complexity is a key determining factor (Ossola et al., 2015). H3) Ecological categories of earthworms and ants would be influenced by soil practices. In land use types where the soil is highly disturbed by soil work or extensive trampling, only endogeic earthworms will be present as they are particularly tolerant to soil disturbances (Rosas-Medina et al., 2010; Briones and Schmidt, 2017), and a majority of ants indicative of disturbed environments will be found (Vepsäläinen et al. 2008; Menke et al. 2011). In land use types with less soil disturbance, all three ecological categories of earthworms will be represented, and more ants indicative of mature ecosystems will be found.

2 Materials and Methods

2.1 Study sites

Sampling was done in the Montpellier metropolis, which had a population of 499,761 inhabitants in 2020 and covers an area of 421 km². This metropolis is located in the south of France, near the Mediterranean Sea (Fig. 1). The study area is characterized by a Mediterranean climate, with average temperatures ranging from 5.9°C in winter to 22.3°C in summer, an annual average temperature of 13.9°C, and an annual precipitation of around 745 mm (Climate-Data, 2021).

Montpellier is situated in the Mediterranean basin, considered one of the 25 global biodiversity hotspots (Cuttelod et al., 2009) due to its history, topography, climate, and diverse habitats (Hewitt, 1996). The region around Montpellier (Hérault department) hosts nearly half of the described French ant fauna, with 119 species documented (Antarea, 2023). It's also the richest region in France for earthworm, with numerous endemic species (Bouché, 1977). Furthermore, Montpellier is considered a "green city" due to its high density of green spaces (Besse et al., 2014). However, it's experiencing rapid urbanization, associated with significant soil sealing (2,920 hectares of agricultural and natural areas lost between 1990 and 2012) (Le Coent et al., 2023). The combination of high biodiversity value and rapid urban development makes Montpellier an appropriate city to address the research questions of this study.

To investigate the effects of landscape and local factors on ants and earthworms, we selected 40 sites within the metropolis using a sampling design that considered two crossed modalities: the surrounding level of urbanization and the land use. Sites were chosen based on their affiliation with four different land use types: Urban Park (UP), Roadside linear (RL), Roundabout (RB), and Shared Garden (SG) (fig.1; Table 1). The land use types were classified and grouped into two land use modalities: productive, which corresponds to SG, and non-productive, encompassing sites with ornamental or recreational purposes (UP, RL, and RB). Productive sites allowed for soil tilling, amendments, and irrigation, while non-productive sites featured permanent lawn cover and irrigation in summer. To capture an urbanization gradient, half of the sites for each land use were located in the city center, and the other half were in the periphery (Table 1).

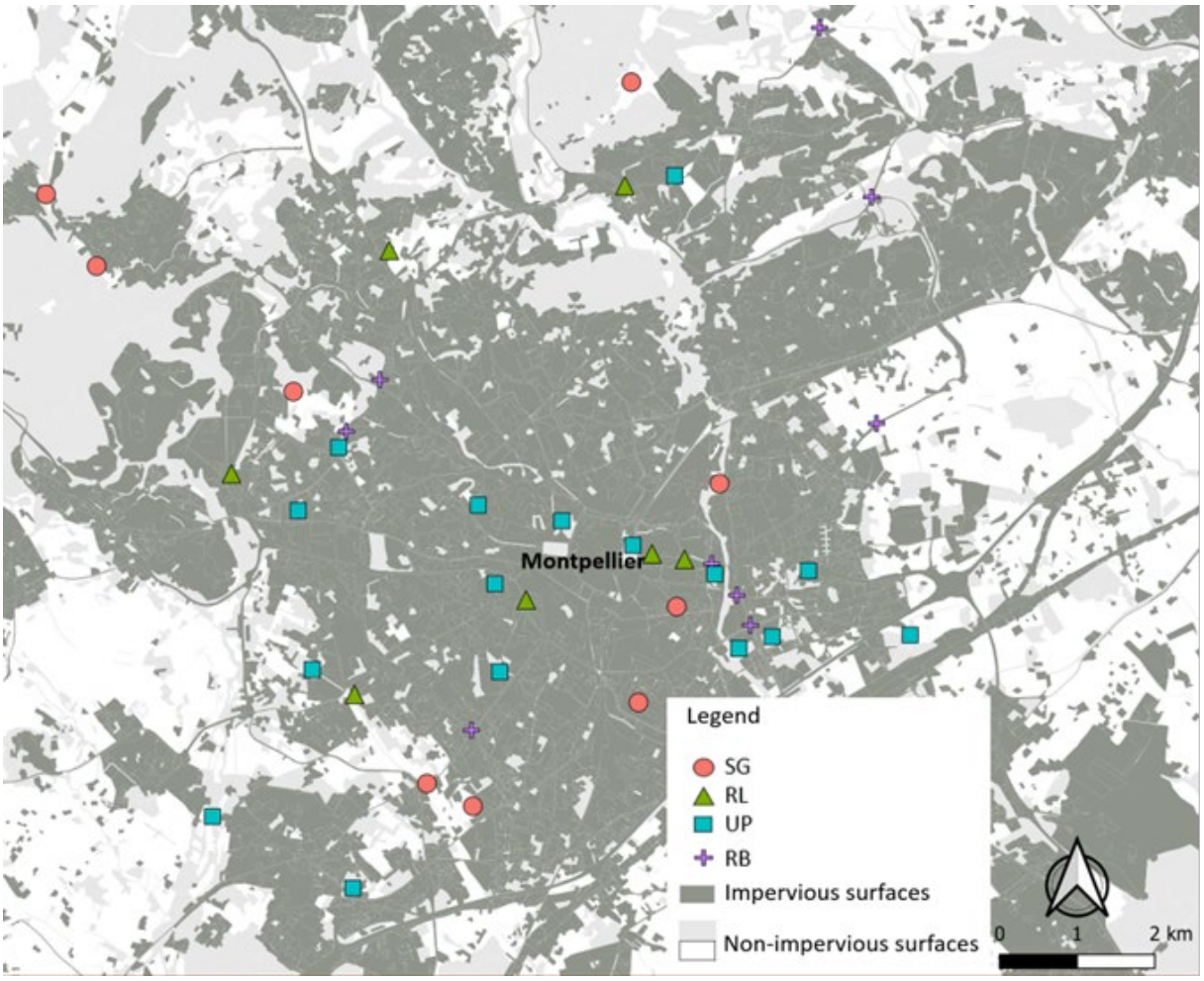


Fig.1. Map depicting the 40 selected sampling sites and their land use types with Shared Garden (SG), Roadside linear (RL), Urban Park (UP), and Roundabout (RB). The impervious surfaces are depicted in dark gray, while the non-impervious surfaces are depicted in light gray and white. (source: Opendata Montpellier).

Table 1: Description of sampling sites, including their land use type (Urban Park (UP), Roadside Linear (RL), Roundabout (RB), and Shared Garden (SG)), their location within the city (In the city center (CT) or in the periphery (P)), and their GPS coordinates.

Sites codes	Land use type	Location	GPS
CHO	RB	P	43°37'52"N 3°50'31"E
ERK	RB	P	43°37'31"N 3°55'16"E
MDF	RB	P	43°40'17"N 3°54'46"E
SUO	RB	P	43°39'06"N 3°55'15"E
RIC	RB	CT	43°36'20"N 3°53'55"E
PTE	RB	CT	43°36'33"N 3°53'41"E
GRM	RB	CT	43°35'25"N 3°51'22"E
ALO	RB	CT	43°37'30"N 3°50'11"E
MER	RL	CT	43°36'35"N 3°53'25"E
FTF	RL	P	43°38'46"N 3°50'37"E
LIB	RL	CT	43°36'19"N 3°51'54"E
RCN	RL	P	43°35'02"N 3°50'56"E
SKT	RL	P	43°39'12"N 3°52'53"E
ERG	RL	CT	43°36'07"N 3°54'03"E
JOF	RL	CT	43°36'38"N 3°53'06"E
SHU	RL	P	43°37'13"N 3°49'05"E
CLP	SG	P	43°39'56"N 3°52'58"E
GRB	SG	P	43°39'11"N 3°47'20"E
MLB	SG	P	43°37'47"N 3°49'41"E
AUB	SG	CT	43°37'07"N 3°53'46"E
MAR	SG	CT	43°35'35"N 3°52'58"E
VOL	SG	CT	43°36'15"N 3°53'20"E
GRI	SG	CT	43°34'53"N 3°51'22"E
MOS	SG	P	43°38'41"N 3°47'49"E
FLB	UP	P	43°35'51"N 3°49'50"E
AZM	UP	P	43°36'57"N 3°49'43"E
BJC	UP	CT	43°35'58"N 3°53'56"E
CDM	UP	P	43°36'02"N 3°55'34"E
CPK	UP	CT	43°36'02"N 3°54'15"E
ELE	UP	CT	43°36'29"N 3°53'42"E
GUI	UP	CT	43°36'26"N 3°51'36"E
JDP	UP	CT	43°36'52"N 3°52'15"E
LEH	UP	P	43°39'16"N 3°53'22"E
LIR	UP	P	43°36'30"N 3°54'36"E
SUP	UP	CT	43°36'59"N 3°51'27"E
ZLG	UP	P	43°34'50"N 3°48'52"E
ECG	UP	CT	43°36'41"N 3°52'55"E
MTC	UP	CT	43°35'49"N 3°51'38"E
PEY	UP	P	43°34'19"N 3°50'12"E
ALC	UP	P	43°37'24"N 3°50'07"E

2.2 Earthworm Sampling and identification

Sampling was conducted in December 2021 taking advantage of the still mild temperatures and moist soil resulting from rainy episodes, promoting important earthworm activity. In each site, earthworms were extracted from 5 soil blocks (each measuring 20 cm × 20 cm with a depth of 20 cm) within a 100 m² plot (Fig. 2), using the hand sorting method (Callaham and Hendrix, 1997; Satchell and Phillipson, 1971) and subsequently preserved in 96% alcohol. Species identifications were done on adult specimens according to Bouché (1972), and species names were updated to account for recent taxonomic literature. Juveniles were separated from adults based on the development of their clitellum. To verify species identifications, total genomic DNA from 285 earthworms was extracted from a tissue sample taken from the ventral tegument (see the "Materials and methods" section of the AXE3). Earthworm species were categorized into one of three functional groups as defined by Bouché (1977): epigeic, endogeic, or anecic. However, some species can belong to multiple categories, which is why each species was associated with a percentage of belonging in each category (Bottinelli et al., 2020).

2.3 Ant Sampling and identification

Surface-active ant sampling was conducted in October 2021, at this time of the year in the south of France, temperatures are still high, and ants are actively foraging on the soil surface. Ants were captured using Barber traps consisting of plastic pots measuring 65 mm in diameter and 85 mm in depth. These traps were filled one-third full of a 50% solution of monopropylene glycol, which is considered neutral (odorless and colorless) and allows for the accidental capture of epigeic fauna moving along the trap path (Vergnes, 2012). Each trap was covered with a plastic lid to prevent leaves and other debris from falling inside and to protect it from rain. Five traps were deployed at each site (Fig. 2), totaling 240 traps that were set up and collected after seven days. The traps were then sorted in the laboratory and ants were identified down to the species level (except for the *Solenopsis* genus, as its taxonomy in Europe remains a subject of debate (Galkowski et al., 2010)), using binocular microscopes and identification keys (Blatrix et al., 2013; Lebas, 2021).

Each species was categorized into one of the three following groups (based on Gómez et al., 2003; Roig & Espadaler 2010; and Carpintero & Reyes-López, 2014):

Disturbance indicators: exotic species, generalists, and/or opportunists.

Mature ecosystem indicators: species specialized in cold/shaded habitats, specialized in hot/open habitats.

Cryptic species: due to various factors such as underground life, small individual size and/or nests, or discreet behavior.

2.4 Measurement of soil variables

In each site, the organo-mineral horizon was sampled at nine points (Fig. 2) using a 7 cm wide and 10 cm deep soil auger. Samples from the nine points were combined to create a composite sample of 600 g per site. Each sample was air-dried and then sieved to 2 mm. The physicochemical characteristics of the soil were analyzed by the SADEF Laboratory in France. Earthworms and ants are organisms intimately linked to the soil and exert influence on its physicochemical parameters. The analysis of numerous soil parameters provides a more nuanced understanding of the impact of the urban environment on earthworm and ant communities, helping determine how variations in these parameters can affect their abundance, diversity, and composition.

The measured physicochemical properties encompassed various parameters: soil texture, indicated by the percentage of sand, silt, and clay (NFX 31-107); pH in water (NF ISO 10390); and total carbonates (%, NF ISO 10693), including active limestone (%, NF X 31-106), which can influence pH. Furthermore, information about soil fertility and nutrient availability was obtained through measurements of organic carbon (%, ISO 14235), organic matter (OM, %, ISO 14235), total nitrogen (N, %, Dumas - ISO 13878), C/N ratio, phosphorus (P, %, NF ISO 11263), cation exchange capacity (CEC, mg.kg-1, NF X 31-130), potassium oxide (K2O, %), magnesium oxide (MgO, %), calcium oxide (CaO, %), and trace metal elements potentially toxic to animals at certain concentrations, including total aluminum (Al, %), total cadmium (Cd, mg.kg-1), total iron (Fe, %), total manganese (Mn, %) (NF ISO 11885/NF EN ISO 5961), total cobalt (Co, mg.kg-1), total chromium (Cr, mg.kg-1), total copper (Cu, mg.kg-1), total nickel (Ni, mg.kg-1), total lead (Pb, mg.kg-1), and total zinc (Zn, mg.kg-1) (NF ISO 11885).

Furthermore, to assess soil structure, soil bulk density was measured on three soil samples (Fig. 2) collected using a metal cylinder (5 cm in height, 5 cm in internal diameter). Soil aggregate stability was determined following the wet sieving method described by Kemper and Rosenau (1986).

An estimation of soil age was also determined for each site using information provided by the metropolis and archival imagery available on the Geoportal and Google Earth. The measured soil age for this study corresponds to the year of the last land-use change (e.g., from agriculture to urban park) or significant disturbances such as important soil transfers during construction work.

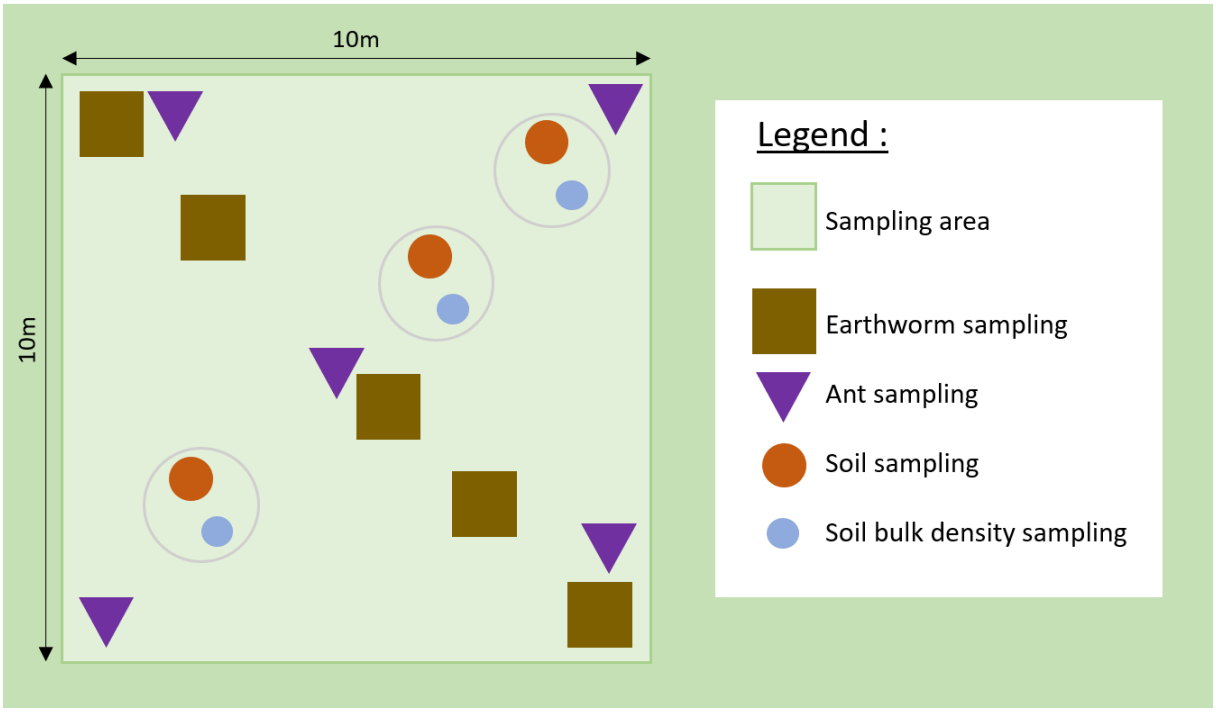


Fig. 2. standard sampling plan for various sites

2.5 Measurement of Landscape Variables

For the 40 sites, two variables were measured using the 2019 land use map of the city of Montpellier (Opendata Montpellier, maximum available scale 1/5000) within three buffer zone sizes around the sites: 100m, 300m, and 500m. The 100m radius was chosen to align with the active dispersal capabilities of earthworms (Edwards & Bohlen, 1996; Marinissen & Van Den Bosch, 1992). The 500m radius is frequently used to match the dispersal abilities of ants (Melliger et al., 2018; Cordonnier et al., 2019; Melo et al., 2021), and the 300m radius represents an intermediate size.

However, this method inevitably involves overlapping landscape scales, potentially increasing similarity between sites. Similarities between different scales and land use types were analyzed using Pearson's correlation test. The 300m scale was chosen for the study because landscape variables at the 100m scale were highly correlated with the land use variable and were also correlated at 64% with landscape variables measured at 300m. The 500m scale was not chosen due to excessive overlap between buffers centered on different sites.

The percentage of land use type coverage was calculated based on five land use categories defined according to the habitat preferences of ants (Hölldobler & Wilson, 1990) and earthworms (Bouché, 1972). Open areas were considered optimal habitat for the target communities, while agricultural crops were regarded as sub-optimal habitats. Wooded areas were also considered as sub-optimal habitats, while urbanized areas were viewed as non-optimal habitats for ants and as a matrix for

earthworms. The area of each land use type was obtained through calculations performed in QGIS (QGIS Development Team, 2014). Furthermore, the area (m²) of each study site was also measured.

2.6 Statistical Analyses

One site categorized as a "roundabout" was excluded from the analyses due to the soil being primarily composed of maritime pine bark (*Pinus pinaster*). Consequently, the analyses were conducted on the remaining 39 sites.

For ant community analyses, occurrence data, representing the number of traps in which a species was present, were used instead of raw abundance data. This approach was chosen because ant abundance can be strongly biased by trap proximity to ant nests (Gotelli et al., 2011).

For earthworm community analyses, juveniles were included in total abundance calculations but not in species richness calculations. To ensure counting accuracy, only earthworms with the anterior part of their bodies were considered. Others from which only a fragment of the rest of the body had been collected (a total of 501 fragments) were treated as unidentified and excluded from subsequent analyses.

2.6.1 Effect of land use and productive vs. non-productive modality on earthworm and ant abundance, species richness, ecological categories, and community composition

Effect on abundance and species richness

To assess differences in ant and earthworm abundances and species richness among various land use types and land use modalities, several linear models were constructed. Homogeneity of variances and data distribution normality were tested for each model using Breusch-Pagan and Shapiro tests, respectively. When assumptions were not met, generalized linear models (GLMs) with Poisson or negative binomial distribution were employed.

Effect on ecological categories

For earthworms, the Community Weighted Mean (CWM) was calculated from the percentage of belonging to ecological categories. Then, Kruskal-Wallis and Wilcoxon-Mann-Whitney tests were used to analyze the effect of land use and "productive" vs. "non-productive" modalities on the ecological categories of earthworms. For ants, differences in the occurrences of the 3 ecological categories between land use types and land use modalities were also analyzed using Kruskal-Wallis and Wilcoxon-Mann-Whitney tests.

Effect on community's composition

From Bray-Curtis distance matrices created from ant and earthworm community composition data, permutation multivariate analysis of variance (PERMANOVA) (with 999 permutations) was used to test the statistical significance of the "land use" variable and "productive" vs. "non-productive" modalities on community composition. To visually represent community differences between land use types and land use modalities for earthworms and ants, ordination analyses based on dissimilarity analysis (PCoA) were performed.

2.6.2 Effect of environmental variables on ant and earthworm abundance, species richness and community composition

Effect on abundance and species richness

To model the environmental characteristics that best explain differences in earthworm and ant abundance and species richness, we used linear models (LM), testing for normal data distribution (Shapiro's test) and homoscedasticity (Breusch-Pagan test) for each model. Response variables were square root-transformed when necessary to meet the conditions for regression analysis (Clarke, 1993; Zar, 1999).

Before conducting the regression analysis, a selection of predictive variables was performed in two complementary steps. First, a correlation matrix of local and landscape environmental variables was created to identify the most correlated variables. If two variables were closely correlated (r-Pearson > 0.60), the one with the stronger assumptions was retained. Linear models were also performed to observe potential links between environmental variables and the land use variable. The variables MVA, MO, C.N, P, K2O, and Fe were related to the land use variable. Second, Lasso regression models (Friedman et al., 2010; Simon et al., 2011; Tibshirani, 1996) were conducted with the remaining variables to exclude uninformative ones (Hesamian and Akbari, 2019) and avoid model overfitting. Following these two steps, the final variables obtained; P, soil age, Zn, urbanized surfaces; were used to predict ant and earthworm species richness and abundance most accurately.

Effect on community's composition

The effects of environmental variables (local and landscape) on ant and earthworm community composition were studied using distance-based redundancy analysis (dbRDA) with the "capscale" function, employing Bray-Curtis distance, followed by a permutation test (n=999) to assess significance. Singletons were excluded to prevent the analyses from being overly influenced by rare species. The dbRDA model was conditioned on site coordinates to address potential spatial autocorrelation and constrained by environmental variables.

3 Results

Description of communities

A total of 3,700 earthworm individuals were sampled, with juveniles accounting for 58% of the total earthworm abundance. Overall, 18 species were observed (Fig. S1), with dominant species including *Allolobophora chlorotica chlorotica* (Savigny, 1826), *Aporrectodea caliginosa* (Savigny, 1826), *Aporrectodea trapezoides* (Duges, 1828), and *Vignysa teres* (Duges, 1828), representing respectively 46%, 11%, 11%, and 8% of the total earthworm abundance (juveniles excluded). The average species richness per site was 3.25 ± 0.26 species.m^{-2}, and the average abundance was 379.25 ± 51.1 individuals.m^{-2}.

For ants, a total of 7,280 individuals were sampled. Overall, 30 species were observed (Fig. S2), with dominant species including *Pheidole pallidula* (Nylander, 1849), *Solenopsis sp.* (Westwood, 1840), and *Messor barbarus* (Linnaeus, 1767), representing 24%, 13%, and 10% of the total sum of occurrences, respectively. The average species richness was 6.25 ± 0.39 per site, and the average sum of occurrences was 15.05 ± 1 ants.

Effect of land use type and land use modalities

The analysis of the effects of the productive modality compared to the "non-productive" variable revealed a significant effect on ant species richness (LR Chisq: 4.72, p-value = 0.03), with higher species richness in the productive modality (Table 2, Table S1). Additionally, a trend was observed for ant abundance (Sum Sq: 133.81, p-value = 0.07), which is also higher in the "productive" variable (Table 2, Table S1). For ants and earthworms, there was a trend in species richness (LR Chisq: 2.716, p-value = 0.09), which also appears to be higher in the "productive" variable. No significant effect of land use modalities on the abundances of earthworms was observed (p-value > 0.5) (Table S1).

No significant effect of land use types on the species richness and abundances of earthworms and ants was observed (Table S1).

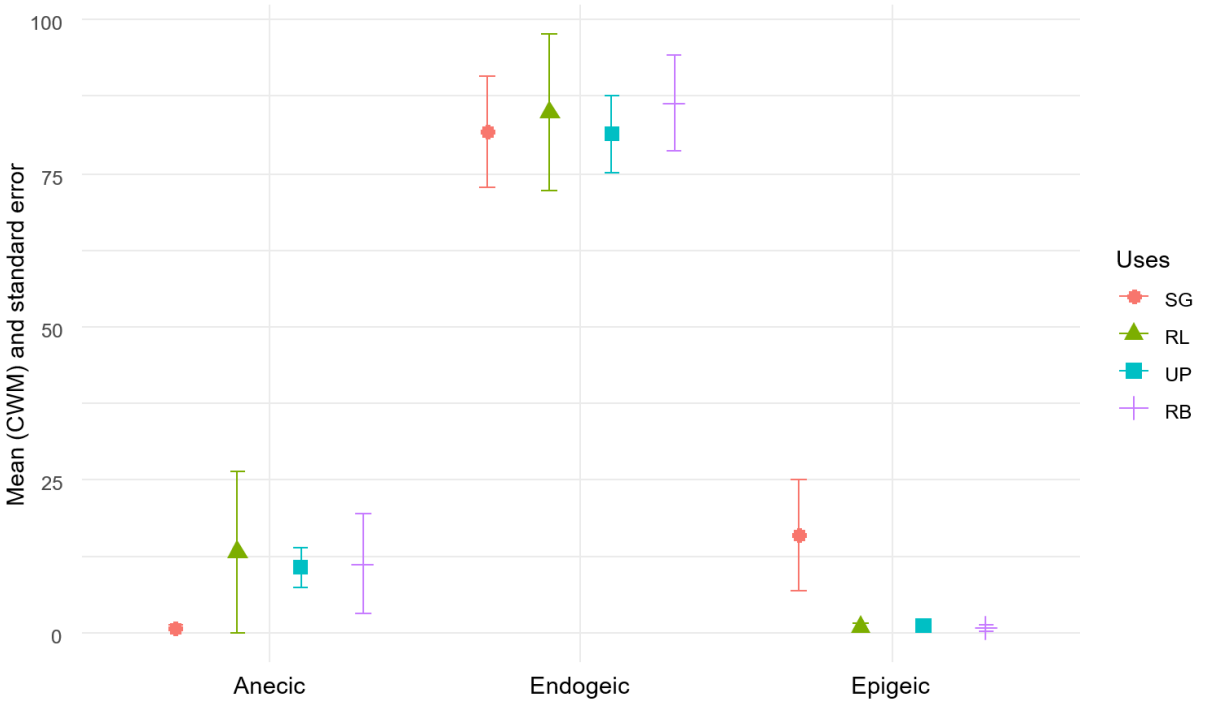


Fig. 3. Mean values of the Community Weighted Means (CWM) of ecological categories and their standard errors for earthworms across different land use types.

Concerning earthworms, the mean for each ecological category, regardless of land use types or land use modalities, was 4.38 ± 2.18 for epigeic, 8.99 ± 2.91 for anecic, and 83.09 ± 3.97 for endogeic categories. For the epigeic category, despite a trend of higher abundance in community gardens compared to other land use types, no significant difference was observed based on land use types (Kruskal test, p-value = 0.34) (Fig. 3) or the "productive" vs. "non-productive" variable (Wilcoxon test, p-value = 0.07). For the anecic category, despite a trend of lower abundance in community gardens, no significant difference was observed based on land use types (Kruskal-Wallis test, p-value = 0.15) or the "productive" vs. "non-productive" variable (Wilcoxon-Mann-Whitney test, p-value = 0.32). For the endogeic category, no significant difference was observed based on land use types (Kruskal-Wallis test, p-value = 0.25) or the "productive" vs. "non-productive" variable (Wilcoxon-Mann-Whitney test, p-value = 0.9).

Regarding ants, considering all species, 15 are indicators of disturbed habitats (47% of total species), 11 are indicators of mature habitats (34%), and 6 are cryptic species (19%). No significant differences were observed in the cryptic category based on land use types (Kruskal test, p-value = 0.32) or the "productive" vs. "non-productive" variable (Wilcoxon test, p-value = 0.18). Similarly, for the disturbed habitats category, no significant differences were found based on land use types (Kruskal-Wallis test,

p-value = 0.60) or the "productive" vs. "non-productive" variable (Wilcoxon-Mann-Whitney test, p-value = 0.90). In the mature habitat category, no significant differences were observed either based on land use types (Kruskal-Wallis test, p-value = 0.89) or the "productive" vs. "non-productive" variable (Wilcoxon-Mann-Whitney test, p-value = 0.9).

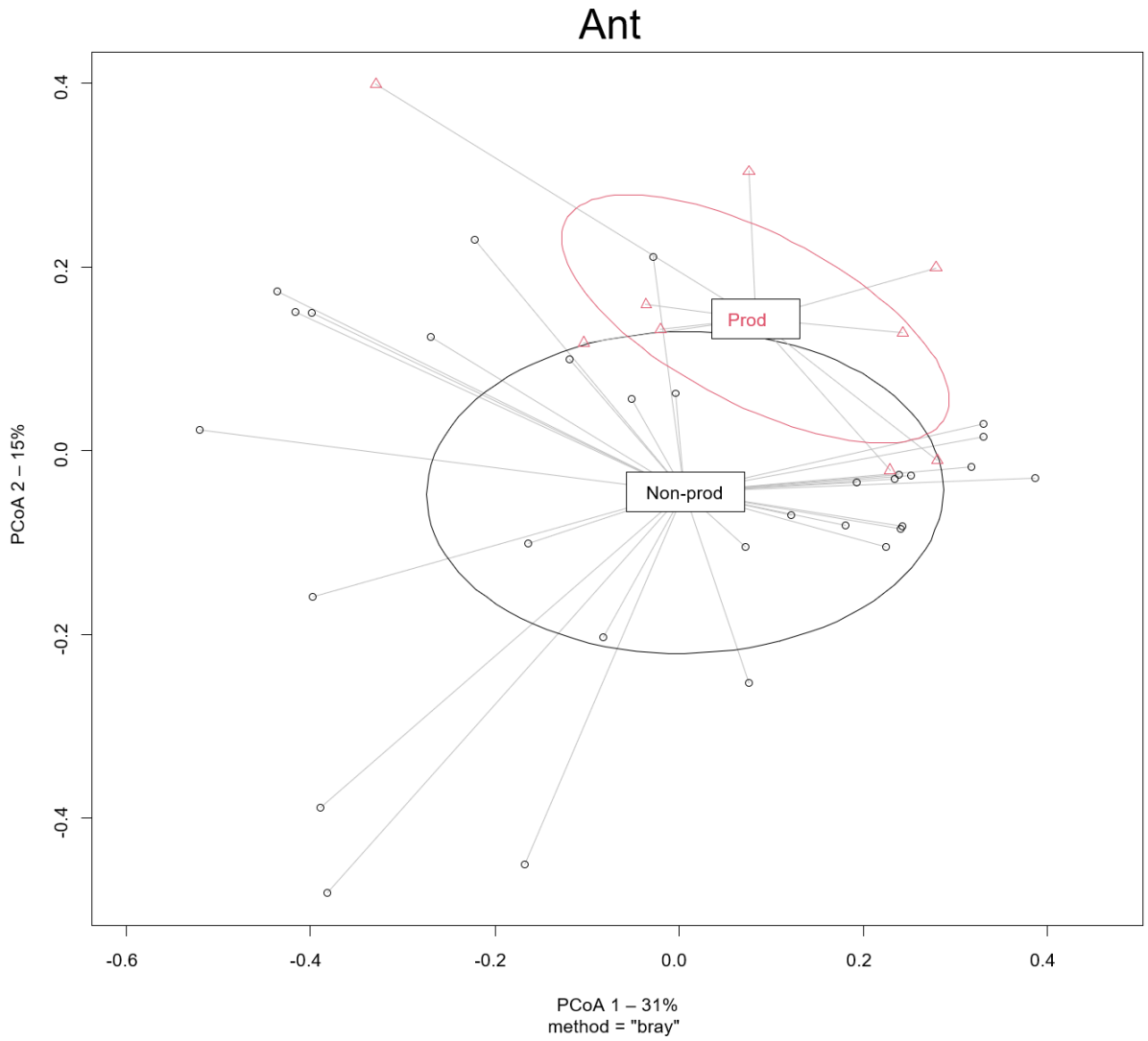


Fig. 4. Principal coordinates analysis based on the Bray-Curtis distance index, displaying dissimilarities in ant communities for each modality. Significant dissimilarities between groups were tested using PERMANOVA. Ellipses represent groups (Prod = productive, Non-prod = non-productive).

The PERMANOVA analysis revealed a significant variation in ant community composition between the productive and non-productive modalities (p-value = 0.02) (Fig. 4). However, no significant difference was observed between these two modalities in earthworm communities (Table 2).

Table 2: Effects of land use types and of land use modalities “non-productive and productive” on earthworm and ant communities, calculated using PERMANOVA. Significance codes for LM and GLM: 0 ‘***’ 0.001 ‘**’ 0.01 ‘*’ 0.05; significant p-values are in bold.

	Ant					Earthworm				
Variables	Sum of squares	R^2	F	df	p	Sum of squares	R^2	F	df	p
Land use types	1.11	0.13	1.75	3	0.034*	1.81	0.14	1.99	3	0.005**
Land use modalities	0.54	0.06	2.51	1	0.02*	0.41	0.03	1.27	1	0.23

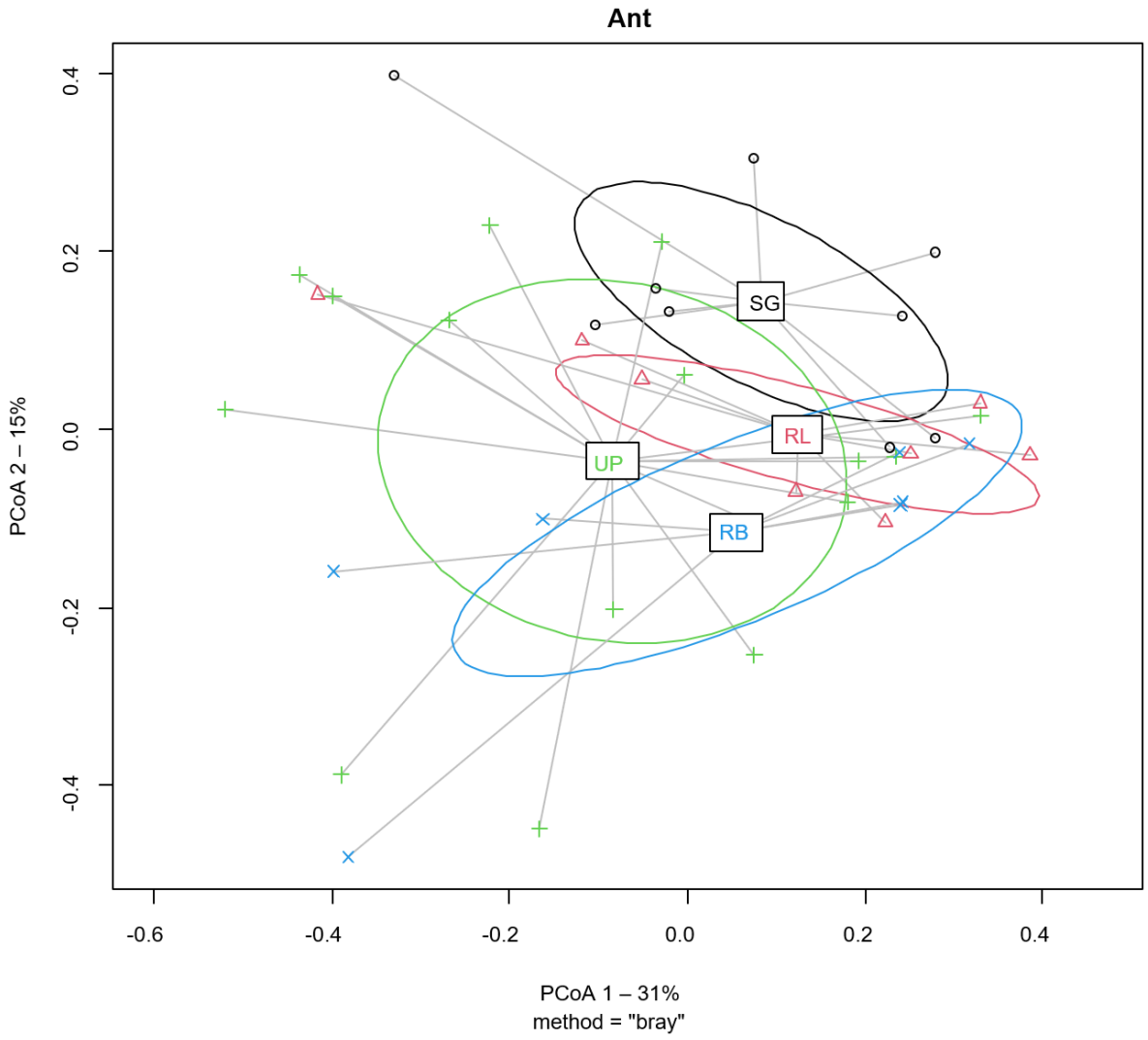


Fig. 5. Principal Coordinates Analysis, based on Bray-Curtis distance index, illustrating dissimilarities among ant communities for each land use. Significant dissimilarities between groups were tested using PERMANOVA. Ellipses represent the groups (SG = shared gardens, RL = roadside linear, RP = roundabouts, UP = urban parks).

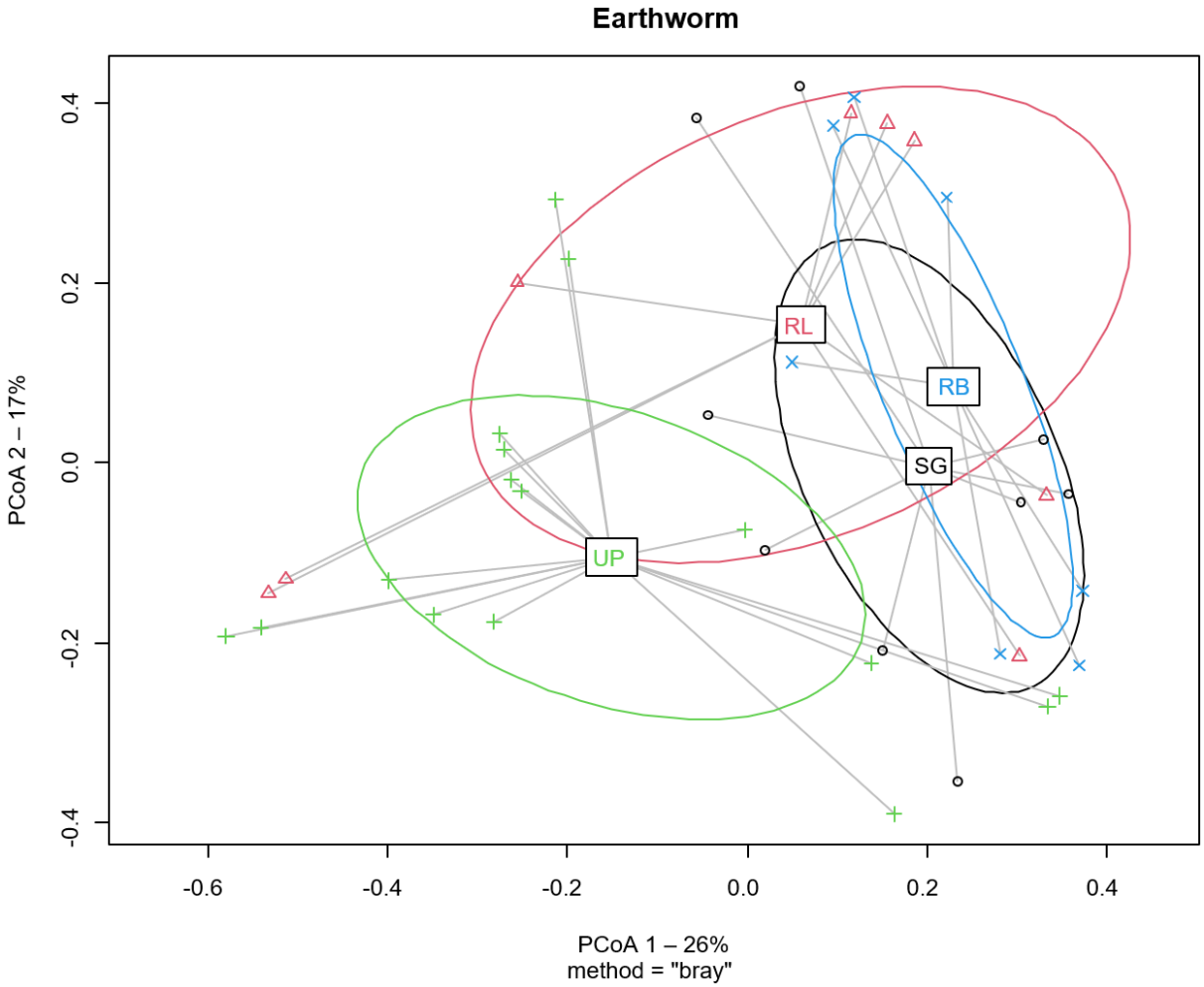


Fig. 6. Principal Coordinates Analysis, based on the Bray-Curtis distance index, displaying dissimilarities among earthworm communities for each land use. Significant dissimilarities between groups were tested using PERMANOVA. Ellipses represent the groups (SG = shared gardens, RL = roadside linear, RB = roundabouts, UP = urban parks).

The PERMANOVA analysis revealed a significant effect of the "land use" variable on the composition of both ant (p-value = 0.034) and earthworm (p-value = 0.005) communities (Table 2). Examining the post-hoc test results, a significant difference in ant community composition was observed between "roadside linear" (RL) and "urban park" (UP) (p-value = 0.01), as well as a trend between RL and "roundabout" (RB) (p-value = 0.06) (Fig. 5). For earthworms, the post-hoc test showed a significant difference between "Shared Garden" (SG) and urban park (p-value = 0.047), as well as between UP and RB (p-value = 0.002) (Fig. 6, Table 2).

Effect of environmental variables

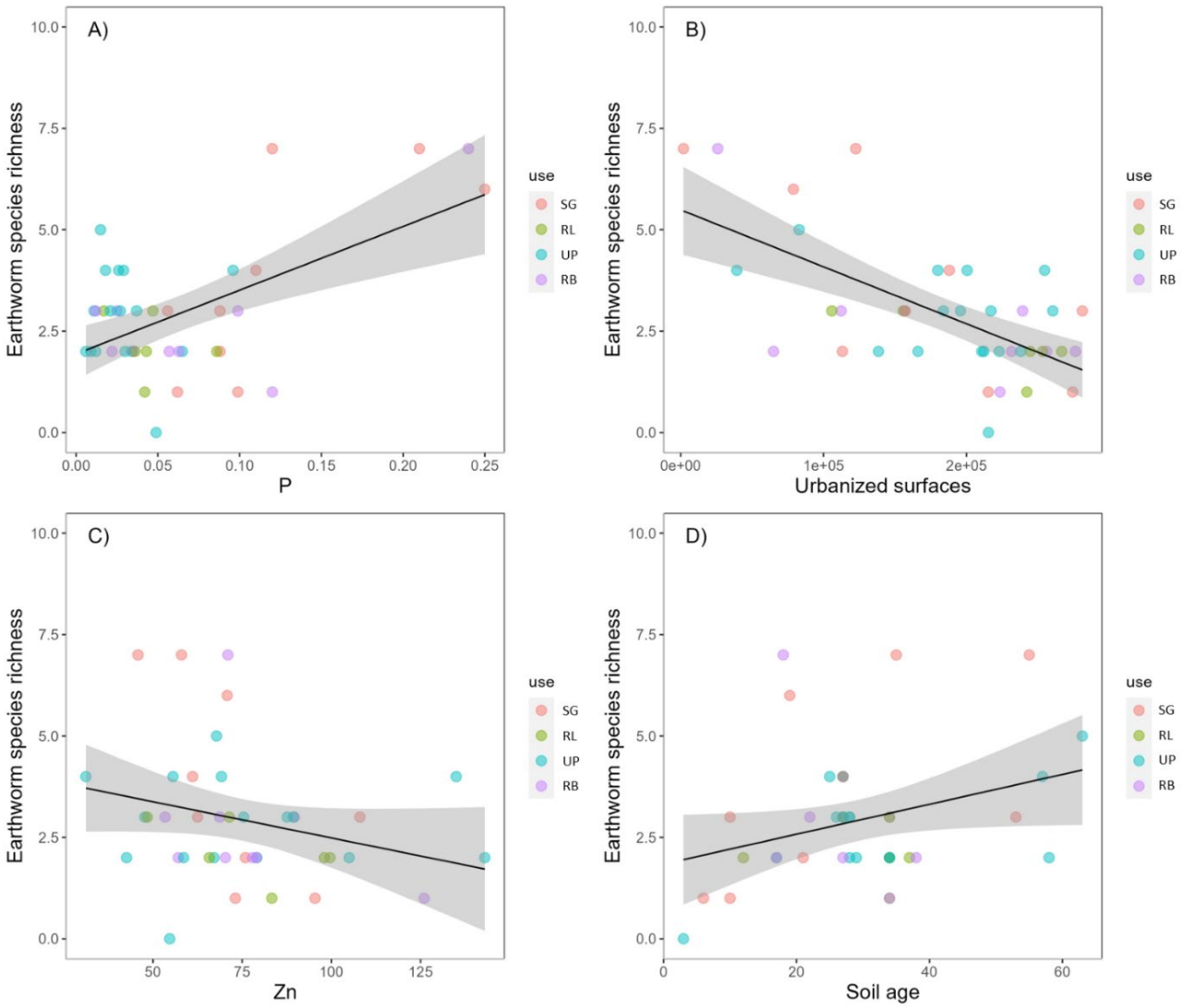


Fig. 7. Relationships between earthworm species richness and P (A), Urbanized surfaces (B), Zn (C), and Soil age (D). Shaded areas around the models indicate 95% confidence intervals.

Table 3: Effects of environmental variables on abundance and species richness of earthworms and ants, calculated using Linear Models (LM). LM significance codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.01; significant p-values are highlighted in bold.

	Earthworm abundance				Earthworm species richness			
Models	Sum of square	df	F-value	p	Sum of square	df	F-value	P
P	36.24	1	2.72	0.11	17.87	1	16.14	0.0003***
Zn	32.81	1	2.46	0.13	9.09	1	8.21	0.007**
Soil age	28.41	1	2.13	0.15	7.67	1	6.92	0.01*
Urbanized surfaces	15.49	1	1.16	0.29	3.95	1	3.57	0.07.
	Ant abundance				Ant species richness			
Models	Sum of square	df	F-value	p	Sum of square	df	F-value	P
P	69.67	1	1.81	0.19	18.83	1	3.38	0.07.
Zn	53.01	1	1.38	0.25	2.08	1	0.37	0.54
Soil age	79.15	1	2.06	0.16	14.85	1	2.66	0.11
Urbanized surfaces	6.50	1	0.17	0.68	5.6	1	0.99	0.32

For earthworms, the model revealed that P has a significantly positive influence on earthworm species richness (p-value = 0.004). A negative effect of Zn (p-value = 0.007), a positive effect of soil age (p-value = 0.01), and a negative trend of urbanized area size on earthworm species richness, were also observed (p-value = 0.07) (Fig. 7., Table 3). No significant effects of environmental variables were observed on earthworm abundance (Table 3).

For ants, no significant effects of environmental variables were observed on abundance and species richness (Table 3).

The dbRDA analysis did not show that environmental variables significantly explained the composition of ant species (16% explained inertia on axis 1 and 8% on axis 2, p-value = 0.39).

The dbRDA analysis did not reveal a significant trend of environmental variables on the composition of earthworm species (p-value = 0.06). The environmental variables constrained the model by 51%, and site coordinates conditioned 6% of the model. Specifically, 18% of inertia was explained by axis 1, and 11% by axis 2.

4 Discussion

To our knowledge, this study is the first to compare the responses of earthworms and ants to different environmental variables in a great number of urban land uses. In this context, we observed that the communities of earthworms and ants were primarily composed of species with a wide geographical distribution. However, their responses to different environmental variables were distinct. Specifically, earthworm species richness was influenced by various environmental variables, whereas ants did not appear to be affected by the measured variables. Furthermore, earthworm and ant community compositions responded differently to the various land use types.

4.1 Community Descriptions

The average earthworm species richness per site was in the same range as that reported in other studies (5.2 in Amossé et al., 2016; 4.6±2.3 in Vergnes et al., 2017; 3.08±2.2 in Xie et al., 2018). Given that this study was conducted in one of the most species-rich earthworm regions in France, it might be surprising to find a similar value to that of Vergnes et al., 2017, located in the Paris region. Indeed, the earthworm communities in Montpellier were primarily composed of generalist endogeic species with a very wide geographical distribution, such as *A. caliginosa*, *A. trapezoides*, or *A. chlorotica* (Bouché, 1972). These species have been sampled in other cities and climatic contexts (Amossé et al., 2016; Pouyat et al., 2010). As proposed by Tóth et al. 2020, this suggests that urbanization may lead to biotic homogenization (McKinney & Lockwood, 1999) in favor of these species, which are well adapted to urban environments. Despite everything, we also sampled a Mediterranean and endemic specie: *V. teres*, a typical endogeic earthworm (Bouché, 1977), whose genus is endemic to southern France, with only 2 known locations, Montpellier and Marseille (Marchan et al., 2018).

The average species richness of ants corresponds to values observed in other studies (7.7±3.1 in Menke et al., 2011; 7.0±1.29 in Philpott et al., 2014). The ant communities in Montpellier were dominated by 3 species: *Pheidole pallidula*, *Solenopsis sp.*, and *M. barbarus*, which are common in Mediterranean climates and widely distributed within the Montpellier metropolitan area, occurring respectively in 85%, 80%, and 53% of the total sites, respectively. Ants of the *Pheidole* and *Solenopsis* genera have a broad geographical distribution and were also among the most frequently encountered ant species in other studies conducted in various climatic contexts (Menke et al., 2011; Carpintero & Reyes Lopez, 2014; Frasconi Wendt et al., 2021). *Messor barbarus* is a common species in Mediterranean grasslands in Southern Europe and North Africa (Detrain et al., 2000); however, its presence has been less documented in Mediterranean urban contexts as studies in this context remain scarce (except for Carpintero & Reyes-López, 2014). Indigenous species can reach high densities in urban areas, usually

due to the more abundant availability of food (Ditchkoff et al., 2006; Shochat & Ovadia, 2011), which may explain the high density of this species in Montpellier.

Finally, although species in urban environments typically originate from the local indigenous species pool, a portion comes from non-indigenous species (Menke et al., 2011). Indeed, urbanization and associated human activities might facilitate the introduction of non-indigenous species through the transport of soil and goods (Heterick et al. 2000; McKinney 2006; Gaertner et al., 2017). In this study, non-indigenous species were present for both taxonomic groups. For ants, a few individuals of *Strumigenys membranifera* (present in 3% of the total sites)) and *Linepithema humile* (present in 3% of the total sites) were found. This is little considering that *L. humile* is listed among the 100 worst invasive species in the world (Lowe et al., 2007). Two ant species belonging to the *Tapinoma nigerrimum* complex, *Tapinoma magnum* and *Tapinoma darioi*, known to be proliferant in Montpellier (Centanni et al., 2022), were sampled in 17% of the total sites which is surprisingly low considering their great expansion in Montpellier (Centanni et al., 2022). For earthworms, numerous individuals of the species *Microscolex dubius* were sampled in 7 sites, and *Amynthas corticis* was found in only one site. Both of these species are not native to Montpellier and were likely introduced by humans through soil transport. *M. dubius* is a peregrine species with an uncertain geographic origin, disseminated by humans and has become cosmopolitan (Bouché, 1972). *A. corticis* is also a cosmopolitan species originating from Asia (Wang et al., 2021) and is considered invasive in several localities (Snyder et al., 2009; Novo et al., 2015).

4.2 Effect of the land use modalities and land use types

Contrary to expectations, there were no significant differences in the various ecological categories defined for earthworms and ants between the land use modalities and land use types. However, it was observed that the average abundance of endogeic earthworms was significantly higher than that of anecic and epigeic earthworms (Fig. 3). This is because, due to their distribution in the soil, endogeic earthworms are particularly tolerant of soil disturbances (Rosas-Medina et al., 2010; Briones & Schmidt, 2017). Additionally, this can be explained by the fact that anecic earthworms are generally under-sampled due to the depth of their burrows, and epigeic earthworms are generally less abundant in lawns where surface litter is absent.

For ants, there were no differences between land use types and land use modalities for the various ecological categories either. Most species belonged to the category of indicators of disturbed environments, which includes opportunistic, generalist, and exotic species, as expected in urban environments (Vepsäläinen et al., 2008; Menke et al., 2011) because they are favored and benefit from

the urban environment. However, species indicatives of mature ecosystems were also well represented, indicating that urban green spaces in Montpellier can support many specialist species.

Between the two modalities, ant species richness significantly differed, and there is a trend for occurrences. Both variables were higher in the productive modality compared to the non-productive modality. Indeed, in community gardens, one can observe heterogeneity in soil conditions and resources due to the addition of organic matter and the cultivation of various plants on different vegetation layers. These factors may favor a greater diversity of ants. This confirms the "habitat heterogeneity" hypothesis, which suggested that structurally more complex habitats can offer a greater variety of niches and resources, thus promoting the presence of more species (MacArthur & MacArthur 1961, MacArthur & Wilson 1967). However, this was not observed for earthworms.

A significant difference in community composition was also observed for ants between the modalities. This can be explained by the fact that the two modalities have very different soil management levels, which can influence the establishment of different ant communities. In productive modalities, the soil can be disturbed, and there is importation of organic matter. Unlike non-productive areas, which are often uniformly covered with herbaceous vegetation, productive areas contain various habitats and resources due to different vegetable crops and may host communities with species that are less sensitive to soil disturbance. Ants were influenced by modality differences, unlike earthworms. When examining the effects of land uses individually, the results may be different.

It has been demonstrated that land use strongly influences the overall abundance, diversity, and composition of soil macrofauna communities (Barros et al. 2002, Barrios et al. 2005). However, in our study, the species richness and abundance of earthworms and ants did not differ between the various types of urban green spaces selected. Each land use, therefore, helps maintain a certain level of species richness and abundance of earthworms and ants. However, differences in community composition were observed for earthworms and ants among the different land uses. Indeed, for ant community composition, a significant difference was observed between the "roadside linear" (RL) and "urban park" (UP) land uses, as well as a tendency between RL and "roundabout" (RB). The difference in community between RL and UP can be explained by the fact that these two land uses differ in terms of disturbance levels. RL areas are influenced by the proximity of roads and the associated nuisances (i.e., pollution, vibrations), while UP areas are influenced by a potentially larger human presence, which can increase soil compaction due to higher levels of pedestrian traffic. Both RL and RB are influenced by roads, but at different levels. RB areas are isolated with no physical continuity with other green spaces, whereas RL areas in some cases be more connected to other green spaces. The ant species that make up the communities in these two habitats will be selected based on their dispersal

capabilities. Ant species with high dispersal abilities will be able to reach these habitats, especially for species whose reproduction occurs during the nuptial flight.

For earthworms, a difference in community composition was observed between "community garden" (SG) and the urban park, as well as between the "urban park" (UP) and the roundabout (RB). Earthworm communities differ between SG and UP because these two land uses serve different purposes and have different management practices. In UP areas, which are designed for ornamental and recreational purposes, there is more human activity and organic matter export due to lawn mowing and leaf collection. In SG areas, on the other hand, organic matter is imported through various composts and plant shredding. However, this area exhibits varying degrees of soil disturbance, including possible tillage and different management practices that can influence communities based on their sensitivity to disturbances and ecological preferences. The difference between UP and RB can be explained by earthworms' dispersal capabilities. RB areas are surrounded by roads and will select species with significant dispersal capabilities or those easily transported by humans through horticultural products.

Therefore, our results confirmed the notion that the type of green space significantly affects the composition of soil macrofauna communities, which aligns with findings from other studies conducted in urban green spaces (Ge et al. 2005, Smith et al. 2006).

4.3 Effect of Environmental Variables

The relatively low levels of variance in the composition of earthworm and ant communities explained by environmental characteristics at different sites may suggest that these communities are adapted to a wide range of environmental parameters, whether at the local or landscape scale. However, other variables not considered in this study could have an impact on these communities.

A positive link between earthworm species richness and Phosphorus (P) was observed. This relation can be explained by the fact that earthworms and their detritivore activity promote a higher concentration of nutrients in the soil, such as P (Bhadauria & Gopal Saxena, 2010). Earthworms contribute to the availability of phosphorus in the soil by facilitating its mixing, redistribution, decomposition, and interaction with plants and microorganisms, thus explaining the positive relationship between species richness and P. Phosphorus was associated to the land use, with higher concentrations in shared gardens where organic matter inputs are greater than in other types of land use. Therefore, P can serve as an indicator of earthworm activity.

A negative effect of zinc was observed on earthworm species richness. Zinc is a metallic element naturally present in the soil, but elevated concentrations can result from human activities, particularly

industry, transportation, and agriculture. Zinc is known as one of the toxic heavy metals for most organisms at concentrations and exposure durations exceeding certain thresholds (Hopkin, 1989). Earthworms are directly linked to soil contamination because they ingest large amounts of soil and are in direct contact with the substrate they consume. They are particularly efficient in accumulating trace metal elements from contaminated soils (Ireland, 1983; Morgan & Morgan, 1999) and have been recommended as suitable indicator organisms for soil contamination (Morgan & Morgan, 1988; Corp & Morgan, 1991; Cortet et al., 1999). When present at high levels in their body tissues, zinc can have harmful effects on earthworms (Panda et al., 1999). Certain earthworm species have been shown to exhibit avoidance responses to zinc-polluted soils, even at low concentrations of 32 mg/kg (Lukkari & Haimi, 2005), explaining its negative impact on species richness in this study, where the mean concentration of Zn is 71.2 ± 20.2 mg/kg, with a maximum concentration value of 143 mg/kg in an urban park.

The age of the site negatively affects earthworm species richness, as demonstrated in several studies (Amossé et al., 2016; Smetak et al., 2007; Xie et al., 2018). To explain why species richness is higher in older sites, McIntyre (2000) hypothesized that invertebrate diversity should increase with the age of an urbanized site. Due to their limited dispersal ability, earthworm recolonization or colonization of a habitat is slow, so an older site will harbor more species than a younger one. Species richness can thus be used as an indicator of soil age. Furthermore, as demonstrated by Smetak et al. (2007), certain soil properties such as bulk density, soil carbon concentration, and nitrogen can be correlated with the age of the site and may impact the site's ability to sustain specific earthworm species. For instance, it has been observed that in recent sites, bulk density is higher, and there are lower concentrations of carbon and nitrogen compared to older sites.

A negative trend in earthworm species richness was observed concerning the urbanized area within a 300-meter radius around the site. In general, an increase in impermeable surfaces such as buildings and roads could decrease the species richness of urban organisms due to habitat destruction (Geslin et al., 2016; Hamer & Parris, 2011; Ikin et al., 2013). Habitats within this impermeable matrix will be more isolated, and earthworms, which have limited mobility, will have locally vulnerable populations with a lower likelihood of recolonization, leading to a gradual loss of species richness.

No environmental variable, whether at the local or landscape level, had any influence on ant species richness or abundance. This can be explained by the fact that the species assemblage in this study is primarily composed of species that are tolerant to variations in soil structure and composition. The absence of landscape-level effects on ants can be explained by the fact that the species in this study have relatively high dispersal abilities, which makes them less affected by landscape filters. Although

limited data are available on the dispersal capabilities of most ant species, it is known that ants, in general, have higher dispersal abilities than earthworms and most other soil fauna.

4.4 Conclusion

Even though we expected the effects of different land uses to be more pronounced on ants and earthworms due to their heterogeneity, the results suggest that diverse assemblages of ant and earthworm species, including native and endemic species, can persist within the same urban area. Ants and earthworms exhibited different responses to urbanization in green spaces, with effects of land use on community composition and impacts of specific environmental variables on earthworm species richness. Therefore, they can be used as complementary indicators. Characterizing earthworm and ant assemblages across different green spaces in the expanding metropolis of Montpellier takes us one step closer to better predicting (and thus preserving) patterns of soil engineer diversity and ecosystem responses to future urban development. We recommend that the green spaces in the Montpellier metropolis be used for biodiversity preservation, not just for landscaping purposes. Pursuing such objectives would not only enhance the functioning of urban ecosystems but also improve the quality of life for their human inhabitants.

5 Supplementary materials

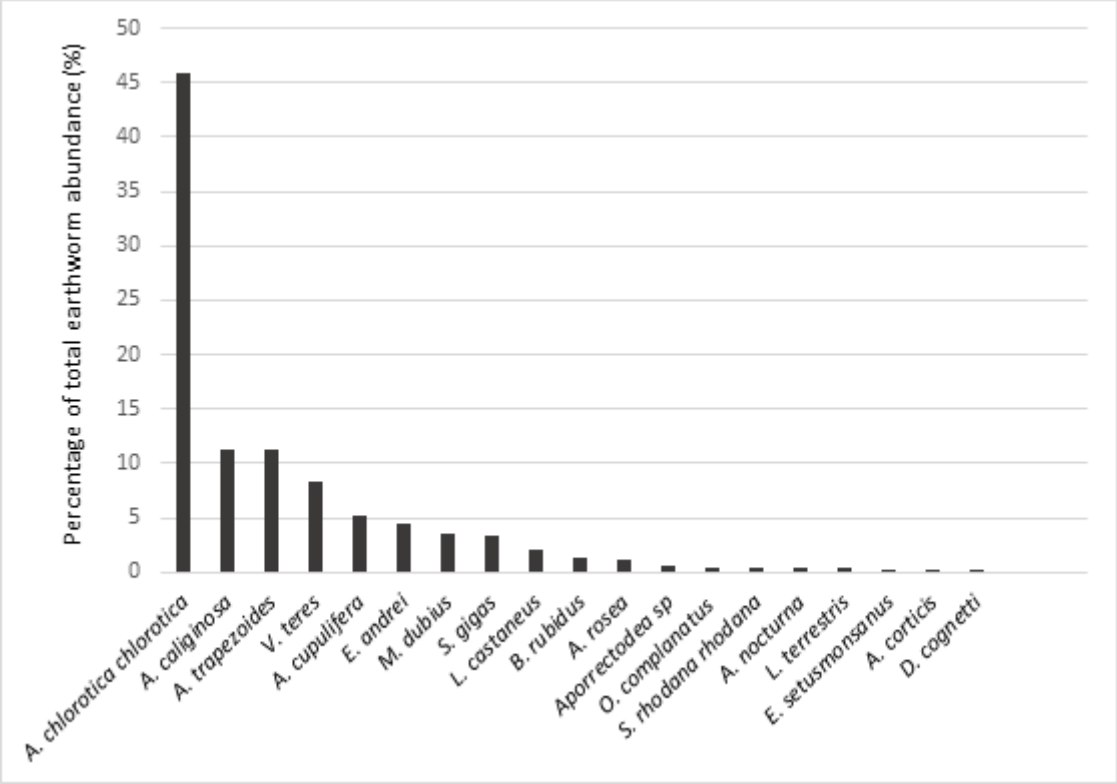


Fig. S1. Percentage of total earthworm abundance (%) for each earthworm specie.

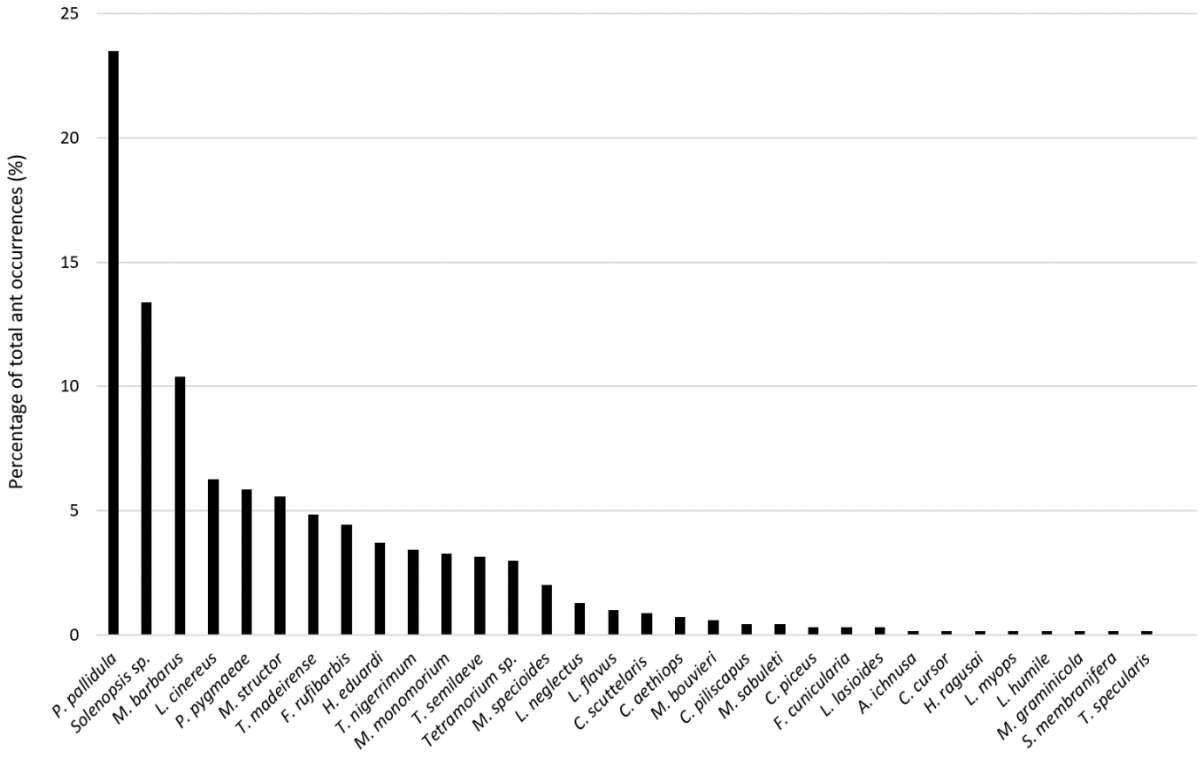


Fig. S2. Percentage of total ant occurrences (%) for each ant specie.

Table S1: The average abundance and species richness of earthworms and ants according to modalities and uses. Values assigned different letters are significantly different at the 5% threshold.

	Earthworm		Ant	
Land use Modalities	Abundance ± se	Species richness ± se	Occurrences ± se	Species richness ± se
Productive	91.55 ± 22.27a	2.68 ± 0.23a	18.44 ± 2.33a	7.89 ± 1.09a
Non-productive	71.29 ± 11.57a	3.78 ± 0.79b	14.06 ± 1.06b	5.77 ± 0.35b
Land uses types	Abundance ± se	Species richness ± se	Occurrences ± se	Species richness ± se
SG	91.56 ± 22.27a	3.78 ± 0.79a	18.44 ± 2.33a	7.89 ± 1.09a
RL	89.17 ± 35.62a	2.16 ± 0.31a	16.67 ± 2.65a	5.83 ± 0.87a
UP	75.44 ± 16.59a	2.81 ± 0.31a	12.88 ± 1.51a	5.69 ± 0.46a
RB	52 ± 14.33a	2.78 ± 0.57a	14.44 ± 1.77a	5.88 ± 0.73a

Acknowledgments

This study is part of the project BISES, it was funded by the French National Research Agency (ANR-19-CE32-0012-04 grant). We would like to extend our gratitude to the city of Montpellier (and the Montpellier Metropolis), who provided extensive support for the project and furnished data. We also wish to express our thanks for their assistance in site selection and obtaining access permissions to Emilie Salles, Patricia Reeb, and Laure Delbergue from Montpellier Mediterranean Metropolis, as well as Stéphanie Grosset from the "Department of Heritage and Biodiversity" of the city of Montpellier. We would also like to express our appreciation to Matthias Brand, Louise Eydoux, Annick Lucas and Quilina Lanfranchi for their invaluable help during field collection.

6 References

Amossé, J., Dózsa-Farkas, K., Boros, G., Rochat, G., Sandoz, G., Fournier, B., Mitchell, E. A. D., & Le Bayon, R.-C. (2016). Patterns of earthworm, enchytraeid and nematode diversity and community structure in urban soils of different ages. European Journal of Soil Biology, 73, 46-58. https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2016.01.004

Andersen, A. N., & Majer, J. D. (2004). Ants show the way down under: invertebrates as bioindicators in land management. Frontiers in Ecology and the Environment, 2(6), 291-298.

Antarea. Répartition du nombre d'espèces par département. Accessed 3 June, 2023. [Online]. http://antarea.fr/fourmi/?repartition/nombre-especes-departement.html

Besse, F., Conigliaro, M., Fages, B., Gauthier, M., Mille, G., Salbitano, F., & Sanesi, G. (2014). Montpellier, green city. Unasylva (English ed.), 65(242), 23-28.

Bhadauria, T., & Saxena, K. G. (2010). Role of earthworms in soil fertility maintenance through the production of biogenic structures. Applied and environmental soil science, 2010.

Blatrix, R., Galkwoski, C., Lebas, C. & Wegnez, P. (2013). Fourmis de France. Delachaux & Niestlé, Paris, 287 pp.

Blouin, M., Hodson, M. E., Delgado, E. A., Baker, G., Brussaard, L., Butt, K., et al. (2013). A review of earthworm impact on soil function and ecosystem services. European Journal of Soil Science, 64(2), 161–182.

Bolund, P., & Hunhammar, S. (1999). Ecosystem services in urban areas. Ecological economics, 29(2), 293-301.

Bottinelli, N., Hedde, M., Jouquet, P., & Capowiez, Y. (2020). An explicit definition of earthworm ecological categories – Marcel Bouché's triangle revisited. Geoderma, 372, 114361. https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2020.114361

Bouché, M. B. (1972). Lombriciens de France. Ecologie et systématique (Vol. 72, No. HS, pp. 671-p). INRA Editions.

Bouché, M. B. (1977). Strategies lombriciennes. Ecological Bulletins, 122-132.

Breuste, J., Niemelä, J., & Snep, R. P. H. (2008). Applying landscape ecological principles in urban environments. Landscape Ecology, 23(10), 1139-1142. https://doi.org/10.1007/s10980-008-9273-0

Briones, M. J. I., & Schmidt, O. (2017). Conventional tillage decreases the abundance and biomass of earthworms and alters their community structure in a global meta-analysis. Global change biology, 23(10), 4396-4419.

Callaham Jr, M. A., & Hendrix, P. F. (1997). Relative abundance and seasonal activity of earthworms (Lumbricidae and Megascolecidae) as determined by hand-sorting and formalin extraction in forest soils on the southern Appalachian Piedmont. Soil Biology and Biochemistry, 29(3-4), 317-321.

Carpintero, S., & Reyes-López, J. (2014). Effect of park age, size, shape and isolation on ant assemblages in two cities of Southern Spain : Urban park characteristics and ant fauna. Entomological Science, 17(1), 41-51. https://doi.org/10.1111/ens.12027

Centanni, J., Kaufmann, B., Blatrix, R., Blight, O., Dumet, A., Jay-Robert, P., & Vergnes, A. (2022). High resolution mapping in Southern France reveals that distributions of supercolonial and monodomous species in the *Tapinoma nigerrimum* complex (Hymenoptera: Formicidae) are related to sensitivity to urbanization. Myrmecological News, 32, 41-50.

Clarke, K. R., & Ainsworth, M. (1993). A method of linking multivariate community structure to environmental variables. Marine Ecology-Progress Series, 92, 205-205.

Clarke, K. M., Fisher, B. L., & LeBuhn, G. (2008). The influence of urban park characteristics on ant (Hymenoptera, Formicidae) communities. Urban Ecosystems, 11(3), 317-334. https://doi.org/10.1007/s11252-008-0065-8

Climate-data.org, 2021. « Montpellier Climat (France) ». Accessed June 4, 2021. [Online]. https://fr.climate-data.org/europe/france/languedoc-roussillon/montpellier-1126/

Cordonnier, M., Blight, O., Angulo, E., & Courchamp, F. (2020). The Native Ant Lasius niger Can Limit the Access to Resources of the Invasive Argentine Ant. Animals, 10(12), 2451. https://doi.org/10.3390/ani10122451

Cordonnier, M., Gibert, C., Bellec, A., Kaufmann, B., & Escarguel, G. (2019). Multi-scale impacts of urbanization on species distribution within the genus Tetramorium. Landscape Ecology, 34(8), 1937-1948. https://doi.org/10.1007/s10980-019-00842-7

Corp, N., & Morgan, A. J. (1991). Accumulation of heavy metals from polluted soils by the earthworm, Lumbricus rubellus: Can laboratory exposure of 'control' worms reduce biomonitoring problems? Environmental Pollution, 74, 39-52.

Cortet, J., Gomot-De Vauflery, A., Poinsot-Balaguer, N., Gomot, L., Texier, C., & Cluzeau, D. (1999). The use of invertebrate soil fauna in monitoring pollutant effects. European Journal of Soil Biology, 35(3), 115-134.

Cuttelod, A., García, N., Malak, D. A., Temple, H. J., & Katariya, V. (2009). The Mediterranean: a biodiversity hotspot under threat. Wildlife in a Changing World–an analysis of the 2008 IUCN Red List of Threatened Species, 89(2019), 9.

Dáttilo, W., & MacGregor-Fors, I. (2021). Ant social foraging strategies along a Neotropical gradient of urbanization. Scientific Reports, 11(1), 6119. https://doi.org/10.1038/s41598-021-85538-2

Decaëns, T., & Jiménez, J. J. (2002). Earthworm communities under an agricultural intensification gradient in Colombia. Plant and Soil, 240, 133-143.

Detrain, C., Tasse, O., Versaen, M., & Pasteels, J. M. (2000). A field assessment of optimal foraging in ants: trail patterns and seed retrieval by the European harvester ant *Messor barbarus*. Insectes sociaux, 47, 56-62.

Ditchkoff, S. S., Saalfeld, S. T., & Gibson, C. J. (2006). Animal behavior in urban ecosystems: modifications due to human-induced stress. Urban ecosystems, 9, 5-12.

Edwards, C. A., & Bohlen, P. J. (1996). Biology and ecology of earthworms (Vol. 3). Springer Science & Business Media.

Escobedo, F. J., Kroeger, T., & Wagner, J. E. (2011). Urban forests and pollution mitigation: Analyzing ecosystem services and disservices. Environmental Pollution, 159(8), 2078–2087.

Espadaler, X., Roig, X., Gomez, K., & Garcia, F. (2010). Formigues de les Planes de Son i la mata de València (Hymenoptera, Formicidae). In Germain, J. (Ed.), Els sistemes naturals de les Planes de Son i la mata de València (pp. 609-627). Barcelona: Institució Catalana d'Història Natural.

Fragoso, C., Brown, G. G., Patrón, J. C., Blanchart, E., Lavelle, P., Pashanasi, B., ... & Kumar, T. (1997). Agricultural intensification, soil biodiversity and agroecosystem function in the tropics: the role of earthworms. Applied soil ecology, 6(1), 17-35.

Frasconi Wendt, C., Frizzi, F., Aiello, G., Balzani, P., & Santini, G. (2021). Ant species but not trait diversity increases at the edges : Insights from a micro-scale gradient in a semi-natural Mediterranean ecosystem. Ecological Entomology, een.13020. https://doi.org/10.1111/een.13020

Friedman, J.H., Hastie, T., Tibshirani, R. (2010). Regularization paths for generalized linear models via coordinate descent. Journal of Statistical Software, 33, 1-22. https://doi.org/10.18637/jss.v033.i01.

Gaertner, M., Wilson, J. R. U., Cadotte, M. W., MacIvor, J. S., Zenni, R. D., & Richardson, D. M. (2017). Non-native species in urban environments: Patterns, processes, impacts and challenges. Biological Invasions, 19(12), 3461-3469. https://doi.org/10.1007/s10530-017-1598-7

Galkowski, C., Casevitz-Weulersse, J., & Cagniant, H. (2010). Redescription de *Solenopsis fugax* (Latreille, 1798) et notes sur les *Solenopsis* de France (Hymenoptera, Formicidae). Revue Française d'Entomologie (Nouvelle Série), 32(3-4), 151-163.

Ge, B. M., Cheng, H. Y., Zheng, X., Kong, J. M., & Bao, Y. X. (2005). Community structure and diversity of soil macrofauna from different urban greenbelts in Jinhua City, Zhejiang Province. Biodiversity Science, 13, 197-203. (en chinois avec résumé en anglais)

Geslin, B., Le Féon, V., Folschweiller, M., Flacher, F., Carmignac, D., Motard, E., ... & Dajoz, I. (2016). The proportion of impervious surfaces at the landscape scale structures wild bee assemblages in a densely populated region. Ecology and evolution, 6(18), 6599-6615.

Gómez, C., & Oliveras, J. (2003). Can the Argentine ant (Linepithema humile Mayr) replace native ants in myrmecochory?. Acta Oecologica, 24(1), 47-53.

Gotelli, N. J., Ellison, A. M., Dunn, R. R., & Sanders, N. J. (s. d.). Counting ants (Hymenoptera : Formicidae) : Biodiversity sampling and statistical ana- lysis for myrmecologists. 7.

Grimm, N. B., Faeth, S. H., Golubiewski, N. E., Redman, C. L., Wu, J., Bai, X., & Briggs, J. M. (2008). Global Change and the Ecology of Cities. Science, 319(5864), 756-760. https://doi.org/10.1126/science.1150195

Groenewegen, P., van den Berg, A., de Vries, S., & Verheij, R. (2006). Vitamin G: Effects of green space on health, well-being, and social safety. BMC Public Health, 6(1),149.

Hale, C. M. (2008). Evidence for human-mediated dispersal of exotic earthworms: support for exploring strategies to limit further spread.

Hamer, A. J., & Parris, K. M. (2011). Local and landscape determinants of amphibian communities in urban ponds. Ecological Applications, 21(2), 378-390.

Helms, J. A. (2018). The flight ecology of ants (Hymenoptera: Formicidae). Myrmecological News, 26(2), 19-30.

Hesamian, G., Akbari, M.G., 2019. Fuzzy Lasso regression model with exact explanatory variables and fuzzy responses. Int. J. Approx. Reason. 115, 290–300. https://doi. org/10.1016/j.ijar.2019.10.007.

Heterick, B. E., Casella, J., & Majer, J. D. (2000). Influence of Argentine and coastal brown ant (Hymenoptera: Formicidae) invasions on ant communities in Perth gardens, Western Australia. Urban Ecosystems, 4, 277-292.

Hewitt, M. G. (1996). Some genetic consequences of ice ages, and their role in divergence and speciation. Zoological Journal of the Linnean Society, 58, 247–276.

Hewitt, G. M. (2011). Mediterranean peninsulas: the evolution of hotspots. In Biodiversity hotspots (pp. 123-147). Springer, Berlin, Heidelberg.

Hölldobler, B., & Wilson, E. O. (1990). The ants. Harvard University Press.

Hopkin, S. P. (1989). Ecophysiology of metals in terrestrial invertebrates. Elsevier Applied Science Publishers.

Ikin, K., Beaty, R. M., Lindenmayer, D. B., Knight, E., Fischer, J., & Manning, A. D. (2013). Pocket parks in a compact city: how do birds respond to increasing residential density?. Landscape ecology, 28, 45-56.

Ireland, M. P. (1983). Heavy metal uptake and tissue distribution in earthworms. In Earthworm ecology: From Darwin to vermiculture (pp. 247-265). Dordrecht: Springer Netherlands.

Jones, E. L., & Leather, S. R. (2012). Invertebrates in urban areas: A review. European Journal of Entomology, 109(4), 463-478. https://doi.org/10.14411/eje.2012.060

Jones, C. G., Lawton, J. H., & Shachak, M. (1994). Organisms as ecosystem engineers. Oikos, 69(3), 373–386.

Kabisch, N. (2015). Ecosystem service implementation and governance challenges in urban green space planning—The case of Berlin, Germany. Land use policy, 42, 557-567.

Kemper, W. D., & Rosenau, R. C. (1986). Aggregate stability and size distribution. Methods of soil analysis: Part 1 Physical and mineralogical methods, 5, 425-442.

Knobel, P., Dadvand, P., & Maneja-Zaragoza, R. (2019). A systematic review of multi-dimensional quality assessment tools for urban green spaces. Health & place, 59, 102198.

Kowarik, I. (2011). Novel urban ecosystems, biodiversity, and conservation. Environmental Pollution, 159(8-9), 1974-1983. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2011.02.022

Lebas, C., (2021). «Key to identifying common French ants». Accessed June 10, 2021. [Online]. http://keyants.free.fr/castes-ants.html

Le Coent, P. et al. (2023). Can NBS Address the Challenges of an Urbanized Mediterranean Catchment? The Lez Case Study. In: López-Gunn, E., van der Keur, P., Van Cauwenbergh, N., Le Coent, P., Giordano, R. (eds) Greening Water Risks. Water Security in a New World. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-031-25308-9_14

Lobry De Bruyn, L., & Conacher, A. (1990). The role of termites and ants in soil modification - a review. Soil Research, 28(1), 55–93.

Lowe, S., Browne, M., Boudjelas, S., & De Poorter, M. (2007). 100 Espèces Exotiques Envahissantes parmi les plus néfastes au monde. Une sélection de la Global Invasive Species Database. Publié par le Groupe de spécialistes des espèces envahissantes (Invasive Species Specialist Group – ISSG), un groupe de spécialistes de la Commission de la Sauvegarde des Espèces (CSE) de l'Union Mondiale pour la Nature (UICN), 12pp. Première édition (en anglais), en tant qu'encart dans Aliens du 12 Décembre 2000. Version traduite et mise à jour : Juin 2007.

Lukkari, T., & Haimi, J. (2005). Avoidance of Cu- and Zn-contaminated soil by three ecologically different earthworm species. Ecotoxicology and Environmental Safety, 62(1), 35-41. doi: 10.1016/j.ecoenv.2004.11.012

MacArthur, R. H., & MacArthur, J. W. (1961). On bird species diversity. Ecology, 42(3), 594-598.

MacArthur, R. H., & Wilson, E. O. (1967). The theory of island biogeography. Princeton University Press.

Marchán, D. F., Decaëns, T., Domínguez, J., & Novo, M. (2022). Perspectives in Earthworm Molecular Phylogeny : Recent Advances in Lumbricoidea and Standing Questions. Diversity, 14(1), 30. https://doi.org/10.3390/d14010030

Marinissen, J. C. Y., & Van den Bosch, F. (1992). Colonization of new habitats by earthworms. Oecologia, 91, 371-376.

McIntyre, N. E. (2000). Ecology of Urban Arthropods : A Review and a Call to Action. Annals of the Entomological Society of America, 93(4), 825-835. https://doi.org/10.1603/0013-8746(2000)093[0825:EOUAAR]2.0.CO;2

McKinney, M. L. (2006). Urbanization as a major cause of biotic homogenization. Biological Conservation, 127(3), 247-260. https://doi.org/10.1016/j.biocon.2005.09.005

McKinney, M. L., & Lockwood, J. L. (1999). Biotic homogenization : A few winners replacing many losers in the next mass extinction. Trends in Ecology & Evolution, 14(11), 450-453. https://doi.org/10.1016/S0169-5347(99)01679-1

Menke, S. B., Guénard, B., Sexton, J. O., Weiser, M. D., Dunn, R. R., & Silverman, J. (2011). Urban areas may serve as habitat and corridors for dry-adapted, heat tolerant species; an example from ants. Urban Ecosystems, 14(2), 135-163. https://doi.org/10.1007/s11252-010-0150-7

Melliger, R. L., Braschler, B., Rusterholz, H.-P., & Baur, B. (2018). Diverse effects of degree of urbanisation and forest size on species richness and functional diversity of plants, and ground surface-active ants and spiders. PLOS ONE, 13(6), e0199245. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0199245

Melo, T. S., Moreira, E. F., Lopes, M. V. A., Andrade, A. R. S., Brescovit, A. D., Peres, M. C. L., & Delabie, J. H. C. (2021). Influence of Urban Landscape on Ants and Spiders Richness and Composition in Forests. Neotropical Entomology, 50(1), 32-45. https://doi.org/10.1007/s13744-020-00824-4

Morales, P. K., Yunusa, I. A. M., Lugg, G., Li, Z., Gribben, P., & Eamus, D. (2013). Belowground eco-restoration of a suburban waste-storage landscape : Earthworm dynamics in grassland and in a succession of woody vegetation covers. Landscape and Urban Planning, 120, 16-24. https://doi.org/10.1016/j.landurbplan.2013.06.007

Morel, J. L., Schwartz, C., Florentin, L., & de Kimpe, C. (2005). Urban soils. In D. Hillel (Ed.), Encyclopedia of Soils in the Environment (pp. 202-208). Elsevier Ltd., Academic Press, London.

Morgan, J. E., & Morgan, A. J. (1999). The accumulation of metals (Cd, Cu, Pb, Zn and Ca) by two ecologically contrasting earthworm species (Lumbricus rubellus and Aporrectodea caliginosa): implications for ecotoxicological testing. Applied Soil Ecology, 13(1), 9-20.

Morgan, J. E. & Morgan, A. J. (1988). Les vers de terre en tant que moniteurs biologiques du cadmium, du cuivre, du plomb et du zinc dans les sols métallifères. Environ. Pollut., 54, 123-38.

Novo, M., Cunha, L., Maceda-Veiga, A., Talavera, J. A., Hodson, M. E., Spurgeon, D., ... & Kille, P. (2015). Multiple introductions and environmental factors affecting the establishment of invasive species on a volcanic island. Soil Biology and Biochemistry, 85, 89-100.

Ossola, A., Nash, M. A., Christie, F. J., Hahs, A. K., & Livesley, S. J. (2015). Urban habitat complexity affects species richness but not environmental filtering of morphologically-diverse ants. PeerJ, 3, e1356.

Panda, R., Pati, S. S., & Sahu, S. K. (1999). Accumulation of zinc and its effects on the growth, reproduction and life cycle of *Drawida willsi* (Oligochaeta), a dominant earthworm in Indian crop fields. Biology and fertility of soils, 29, 419-423.

Philpott, S. M., Cotton, J., Bichier, P., Friedrich, R. L., Moorhead, L. C., Uno, S., & Valdez, M. (2014). Local and landscape drivers of arthropod abundance, richness, and trophic composition in urban habitats. Urban Ecosyst, 20.

Pickett, S. T. A., Cadenasso, M. L., Grove, J. M., Boone, C. G., Groffman, P. M., Irwin, E., Kaushal, S. S., Marshall, V., McGrath, B. P., Nilon, C. H., Pouyat, R. V., Szlavecz, K., Troy, A., & Warren, P. (2011). Urban ecological systems: Scientific foundations and a decade of progress. Journal of Environmental Management, 92(3), 331-362. https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2010.08.022

Pižl, V., & Schlaghamerský, J. (2007). The impact of pedestrian activity on soil annelids in urban greens. European journal of soil biology, 43, S68-S71.

Pouyat, R. V., Szlavecz, K., Yesilonis, I. D., Groffman, P. M., & Schwarz, K. (2010). Chemical, Physical, and Biological Characteristics of Urban Soils. Urban Ecosystems Ecology, 34. https://doi.org/10.2134/agronmonogr55.c7

QGIS Development Team. (2014). « QGIS Geographic Information System 2.2.0. ».

Rosas-Medina, M. Á., de León-González, F., Flores-Macías, A., Payán-Zelaya, F., Borderas-Tordesillas, F., Gutiérrez-Rodríguez, F., & Fragoso-González, C. (2010). Effect of tillage, sampling date and soil depth on earthworm population on maize monoculture with continuous stover restitutions. Soil and Tillage Research, 108(1-2), 37-42.

Satchell, J. E. (1971). In. Methods of study in Quantitative Soil Ecology-Population, Production and Energy Flow. Phillipson, J.(ed). IBP Hand book 18.

Shochat, E., & Ovadia, O. (2011). Invasion, evenness, and species diversity in human-dominated ecosystems. The Importance of Biological Interactions in the Study of Biodiversity. InTech, Rijeka, 75-88.

Simon, N., Friedman, J., Hastie, T., Tibshirani, R. (2011). Regularization paths for Cox's proportional hazards model via coordinate descent. Journal of Statistical Software, 39, 1-13.

Smetak, K. M., Johnson-Maynard, J. L., & Lloyd, J. E. (2007). Earthworm population density and diversity in different-aged urban systems. Applied Soil Ecology, 37(1-2), 161-168. https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2007.06.004

Smith, J., Chapman, A., & Eggleton, P. (2006). Baseline biodiversity surveys of the soil macrofauna of London’s green spaces. Urban Ecosystems, 9, 337-349.

Snyder, B. A., Boots, B., & Hendrix, P. F. (2009). Competition between invasive earthworms (Amynthas corticis, Megascolecidae) and native North American millipedes (Pseudopolydesmus erasus, Polydesmidae): effects on carbon cycling and soil structure. Soil Biology and Biochemistry, 41(7), 1442-1449.

Tibshirani, R. (1996). Regression shrinkage and selection via the lasso. Journal of the Royal Statistical Society: Series B (Methodological), 58, 267-288. https://doi.org/10.1111/j.2517-6161.1996.tb02080.x.

Tóth, Z., Szlavecz, K., Schmidt, D. J. E., Hornung, E., Setälä, H., Yesilonis, I. D., ... & Csuzdi, C. (2020). Earthworm assemblages in urban habitats across biogeographical regions. Applied Soil Ecology, 151, 103530.

Tratalos, J., Fuller, R. A., Warren, P. H., Davies, R. G., & Gaston, K. J. (2007). Urban form, biodiversity potential and ecosystem services. Landscape and Urban Planning, 83(4), 308-317. https://doi.org/10.1016/j.landurbplan.2007.05.003

Underwood, E. C., & Fisher, B. L. (2006). The role of ants in conservation monitoring: if, when, and how. Biological conservation, 132(2), 166-182.

Vergnes, A., Blouin, M., Muratet, A., Lerch, T. Z., Mendez-Millan, M., Rouelle-Castrec, M., & Dubs, F. (2017). Initial conditions during Technosol implementation shape earthworms and ants diversity. Landscape and Urban Planning, 159, 32-41. https://doi.org/10.1016/j.landurbplan.2016.10.002

Vergnes, A., Viol, I. L., & Clergeau, P. (2012). Green corridors in urban landscapes affect the arthropod communities of domestic gardens. Biological Conservation, 145(1), 171-178. https://doi.org/10.1016/j.biocon.2011.11.002

Vepsäläinen, K., Ikonen, H., & Koivula, M. J. (2008). The Structure of Ant Assemblages in an Urban Area of Helsinki, Southern Finland. Annales Zoologici Fennici, 45(2), 109-127. https://doi.org/10.5735/086.045.0203

Wang, X., Zhang, Y., Zhang, Y., Kang, M., Li, Y., James, S. W., ... & Sun, Z. (2021). Amynthas corticis genome reveals molecular mechanisms behind global distribution. Communications biology, 4(1), 135.

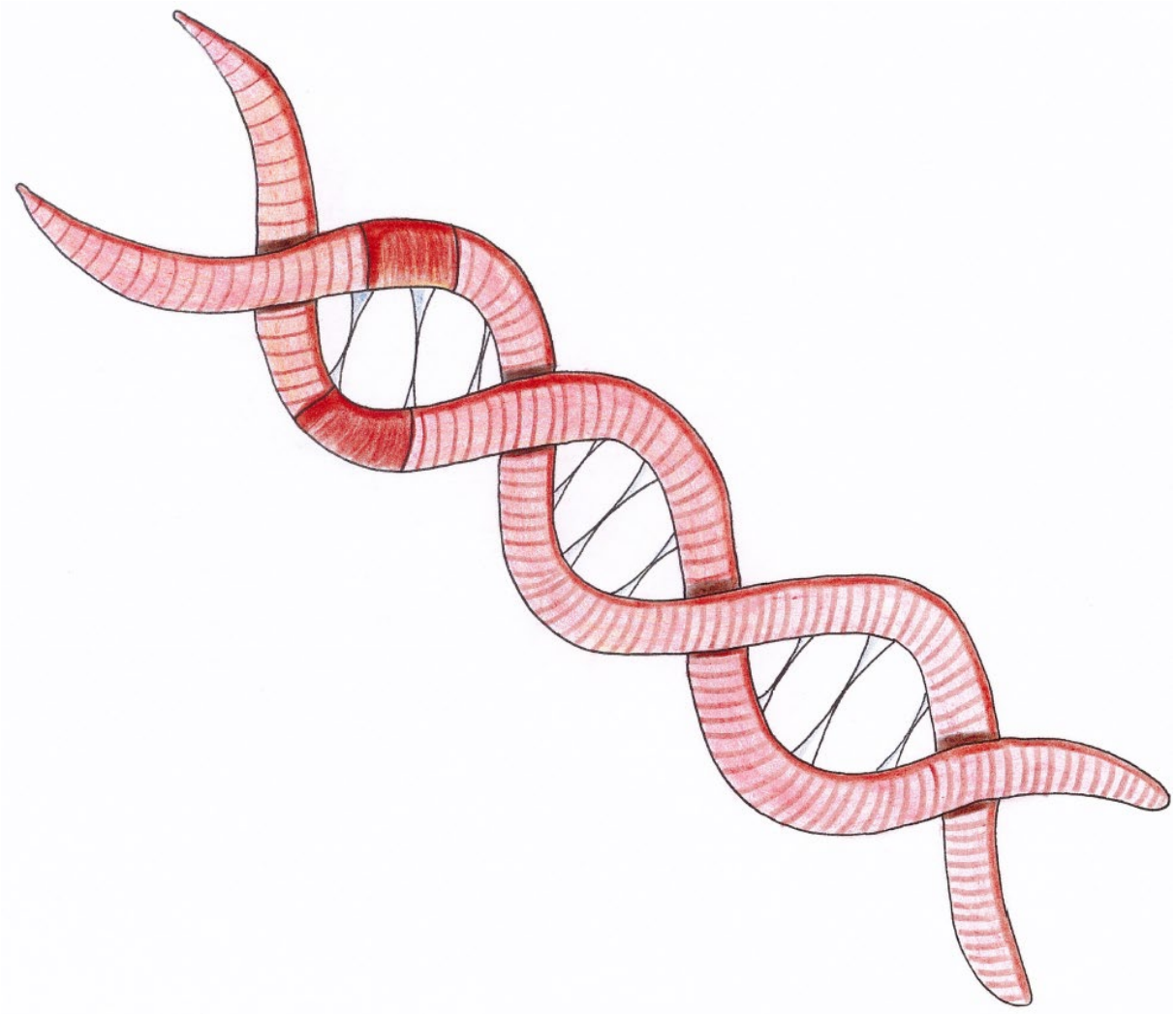
Wolch, J. R., Byrne, J., & Newell, J. P. (2014). Urban green space, public health, and environmental justice: The challenge of making cities 'just green enough'. Landscape and Urban Planning, 125, 234-244. https://doi.org/10.1016/j.landurbplan.2014.01.017

Xie, T., Wang, M., Chen, W., & Uwizeyimana, H. (2018). Impacts of urbanization and landscape patterns on the earthworm communities in residential areas in Beijing. Science of The Total Environment, 626, 1261-1269. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.01.187

Zapparoli, M. (1997). Urban development and insect biodiversity of the Rome area, Italy. Landscape and Urban Planning, 38(1-2), 77-86. https://doi.org/10.1016/S0169-2046(97)00020-0

AXE 3

Etude de la diversité génétique et de la phylogéographie des populations de vers de terre de la métropole de Montpellier



Résumé long Axe 3

L'objectif de cet axe d'étude était i) d'explorer l'effet des variables environnementales à l'échelle des sites d'étude et du paysage environnant sur la diversité génétique des espèces de vers de terre en contexte urbain méditerranéen, et ii) de mieux comprendre quels mécanismes peuvent expliquer la distribution spatiale des populations à l'aide d'analyses phylogéographiques.

Les hypothèses de cette étude sont les suivantes :

- La diversité génétique sera plus faible dans les espaces verts productifs car les perturbations du sol dans ces sites limiteront l'établissement de populations stables et entraîneront une réduction de la diversité génétique ;
- L'âge du sol influencera la diversité génétique, avec une diversité plus élevée observée dans les sites plus anciens en raison d'un temps plus important pour la colonisation par différentes lignées ou de la préservation sur le long terme de la diversité génétique initialement présente ;
- Les caractéristiques du paysage environnant, affecteront la diversité génétique des populations. En particulier, nous nous attendons à ce que la superficie du site et une proportion plus élevée d'espaces verts environnants augmentent la variabilité du flux génétique entrant ;
- Les espèces pérégrines introduites dans les sites de Montpellier présenteront une structure génétique plus faible par rapport aux espèces indigènes de la région.

L'étude a été réalisée dans la métropole de Montpellier au sein d'un sous-échantillons de sites qui avaient été sélectionné dans l'Axe 2. Les sites de cette étude ont été sélectionnés dans le but de : 1) présenter des pourcentages variés d'espaces verts et de zones construites environnantes ainsi que des sols d'âges différents ; 2) être distribués le plus uniformément possible dans la zone d'étude ; et 3) inclure à la fois des sites productifs et non productifs. Les sites productifs étaient destinés à la production alimentaire, où une variété de cultures, y compris des légumes, des fruits et des herbes, pouvaient être cultivées collectivement, comprenant des jardins partagés et des fermes urbaines. Les jardins partagés font généralement référence à des parcelles gérées par la communauté où des individus ou des groupes de personnes qui cultivent des légumes. Les "fermes urbaines" englobent de plus vastes zones de terre dédiées à l'agriculture commerciale dans des environnements urbains. Les espaces non productifs comprennent des espaces couverts de pelouses, incluant des linéaires de voirie, des ronds-points et des parcs urbains, qui ne sont pas destinés à la production alimentaire mais plutôt à un usage récréatif ou ornemental. Cela a abouti à la sélection de 23 sites d'étude au total, comprenant 6 sites productifs et 17 sites non productifs.

Dans chaque site, les vers de terre ont été collectés en novembre 2021 en utilisant la méthode de tri manuel à l'intérieur d'une parcelle de 100 m². Les spécimens ont été prélevés dans cinq blocs de sol par parcelle (mesurant chacun 20 cm x 20 cm avec une profondeur de 20 cm) espacés de deux mètres, puis conservés dans de l'éthanol à 96%. Pour chaque site, cinq individus par espèce ou morpho-groupes pour les juvéniles ont été sélectionnés, ce qui a donné une taille d'échantillons finale de 285 individus. Pour chacun d'entre eux, un échantillon de tissu cutané de 1 à 2 mm² a été prélevé dans la section postérieure du corps et soigneusement nettoyé à l'eau distillée pour éliminer les particules de sol (Figure I). L'extraction d'ADN, l'amplification et le séquençage du marqueur mitochondrial cytochrome c oxydase sous-unité 1 (COI) ont été réalisés à l'Institut de la Biodiversité de l'Ontario en respectant les protocoles établis du projet Barcode of Life international (http://ibol.org/).



Figure I : Photographie d'un *Aporrectodea trapezoides* dont un morceau de tissu à été prélevé pour analyses dans la partie postérieure du corps.

Les variables paysagères ont été évaluées à l'aide de la carte d'utilisation des terres de la ville de Montpellier de 2019 (Opendata Montpellier, échelle maximale disponible 1/5000) dans une zone tampon de 300 mètres, centrée sur chaque site. A l'échelle du site, nous avons mesuré la surface de chaque site échantillonné en m² et nous avons pris en compte une estimation de l'âge du sol du site en utilisant les informations fournies par les autorités métropolitaines ainsi que des images archivées disponibles sur Geoportail et Google Earth. L'âge estimé du sol du site pour cette étude correspond à

l'année où il y a eu un changement dans l'utilisation des terres du site (par exemple, de l'agriculture au parc urbain) ou une perturbation significative, telle que des travaux de construction.

Les résultats de notre étude ont mis en évidence la présence de lignées cryptiques chez les espèces *Aporrectodea rosea* (trois lignées) et *Allolobophora chlorotica* (trois lignées), et c'est la première étude à montrer que *Vignysa teres*, une espèce endémique de deux territoires du sud de la France (observée à Marseille et Montpellier), présente une diversité génétique étonnamment élevée avec quatre lignées cryptiques. En ce qui concerne les effets des variables environnementales, nous avons observé un effet significatif de l'âge du sol sur la diversité haplotypique, avec une diversité plus élevée observée dans les sols anciens par rapport aux plus jeunes. Ce résultat soutient notre hypothèse selon laquelle, dans les sols plus anciens, il y a plus de temps disponible pour la colonisation de différentes lignées de vers de terre, par dispersion passive ou active. Nous n'avons pas observé d'effet de la superficie du site sur la diversité génétique, mais nous avons constaté que la diversité génétique était positivement corrélée au nombre de parcelles d'espaces verts dans le paysage environnant. Nous avons également observé un effet positif de la densité des parcelles construites sur la diversité nucléotidique. Contrairement à ce qui était attendu, nous n'avons trouvé aucun effet significatif du type (productive vs non productive) d'usage du sol sur la diversité génétique des vers de terre. Enfin, les réseaux d'haplotypes ont révélé des patterns de distribution génétique complexes et diversifiés liés à la structure de la population, et aux événements d'introductions et de dispersions.

Pour conclure, cette étude est la première à comparer la diversité génétique et les patrons phylogéographiques de différentes espèces de vers de terre dans un contexte urbain méditerranéen. Une diversité génétique remarquablement élevée et qui peut être influencée par des facteurs environnementaux, à la fois à l'échelle locale et paysagère, a été observé, ainsi que des patrons phylogéographique contrastés entre les espèces. Cette étude contribue de manière significative à notre connaissance de la diversité des vers de terre dans les environnements urbains, mettant en évidence l'importance des techniques de codage moléculaire et fournissant des informations sur les interactions complexes entre les populations de vers de terre, l'urbanisation et les facteurs environnementaux.

Article 3: Environmental drivers of genetic diversity and phylogeographic pattern in urban earthworms

Publié dans « European Journal of Soil Biology »

Ambre Mautuit [a*], Daniel Fernández Marchán [b], Sandra Barantal [a], Matthias Brand [a], Annick Lucas [c], Jérôme Cortet [a], Alan Vergnes [a], Thibaud Decaëns [c]

[a] CEFE, Univ Paul Valéry Montpellier 3, Univ Montpellier, CNRS, EPHE, IRD, Montpellier, France

[b] CEFE, Université de Montpellier, CNRS, EPHE, IRD, 1919, route de Mende, F-34293 Montpellier cedex 5 (France) and Biodiversity, Ecology and Evolution Department, Faculty of Biology, Universidad Complutense de Madrid, Avenida de Séneca, 2 Ciudad Universitaria E-28040 Madrid (Spain)

[c] CEFE, Univ Montpellier, CNRS, EPHE, IRD, Montpellier, France

*Corresponding author Ambre Mautuit

E-mail: ambre.mautuit-damalix@univ-montp3.fr/mbrmtt@gmail.com

Postal address: UMR – Centre d'Ecologie Fonctionnelle et Evolutive, Route de Mende – 34293 Montpellier cedex 5

Abstract

Urbanization induces habitat loss and fragmentation, impacting genetic diversity in small, isolated populations of organisms, particularly those with limited dispersal capabilities like soil organisms. Earthworms, due to their low dispersal capabilities, serve as excellent models for phylogeographic studies. However, research on their genetic response to urbanization is scarce, and there is a lack of studies comparing multiple species.

We sequenced the COI DNA barcode for 13 earthworm species across 23 sites within the Montpellier Metropolis in France. We investigated the impact of environmental factors, such as landscape configuration (number of habitat patches), urban land use (open green spaces vs agricultural practices), and soil age, on population genetic diversity, and used haplotype networks to visualize and compare population relationships in detail.

Our results highlight a significant genetic diversity within Montpellier, characterized by extensive haplotypic and nucleotide diversity. Additionally, we identified cryptic lineages within three species (*Allolobophora chlorotica*, *Aporrectodea rosea*, and *Vignysa teres*). We found a positive correlation between haplotypic diversity and the number of habitat patches around the sampled sites, likely due to enhanced landscape connectivity facilitating earthworm lineages dispersal. Older soils also promoted haplotypic diversity, allowing more time for the colonization by diverse earthworm lineages. Moreover, we observed a positive link between nucleotide diversity and the number of constructed patches. This could be attributed to environmental disturbance from these patches, potentially leading to higher mutation rates in earthworm species and an increased likelihood of introducing new haplotypes. Haplotype networks displayed distinct patterns among species, with human-mediated dispersal being a key factor.

This study enhances our understanding of the mechanisms governing the spatial distribution of earthworms in urban environments and sheds light on the influence of environmental factors on genetic diversity. Moreover, it highlights the effectiveness of molecular barcoding as a valuable tool for comprehending genetic diversity within urban habitats.

Keywords Cytochrome c oxidase subunit 1, Montpellier, colonization, Human-mediated dispersal, landscape

Highlights

- The earthworm population in Montpellier exhibits remarkably high genetic diversity
- Haplotypic and nucleotidic diversities of earthworms are influenced by environmental factors.
- Cryptic lineages were identified in three earthworm species
- Human-mediated transports significantly contribute to the distribution patterns of earthworms in Montpellier
- This study affirms the efficacy of molecular barcoding as a valuable tool for unraveling genetic diversity within urban habitats.

1 Introduction

Cities represent expanding landscapes across the Earth's surface, significantly replacing natural and agricultural landscapes [1,2] and are projected to cover 8% of the world's land area by 2050 [3]. Since 2017 more than half of the human population (i.e. around 4 billion individuals) live in cities, and this figure is set to double by 2030 [4,5]. Urban landscapes are not only composed of roads or buildings but also patches of vegetated and unsealed terrestrial habitats often referred as green spaces. These green spaces are typically classified according to their uses by urban population: city parks, shared gardens, roundabouts and even urban farms [6,7]. Some can be defined as productive green spaces, i.e. designed for food production purposes, while others are non-productive green spaces which are valued for their ornamental and recreational qualities [8]. They can either origin from pre-existing patches embedded in the urban fabric during its expansion [9] or implemented as part of urban greening initiatives [10]. Due to their integration into the urban matrix, green spaces are affected by urbanization at the local level (e.g. pollutions, trampling, management) and at the landscape level, particularly through the process of habitat fragmentation and isolation in a matrix limiting the dispersal and movement of most organisms. Urban green spaces shelter many non-human communities and except for soil biodiversity, their responses to socio-ecological factors is beginning to be well understood [11,12]. More broadly, those studies take much more account of the taxonomic component of biodiversity than of intraspecific genetic diversity [13]. The ecological and evolutionary dynamics that occur in the species inhabiting these anthropized environments can be explored from a genetic perspective to quantify the degree of impact that urbanization and other anthropic effects have on genetic diversity patterns and population structure [14]. Urban evolutionary ecology is a relatively new approach, but it has garnered increasing attention and has been rapidly evolving since 2010 [15]. Indeed, urbanization is now regarded as a new selective force, which imposes unique pressures, at different scales, that alter patterns of genetic variation in populations occupying green spaces [16].

Fragmentation is referred as the division of a patch of habitat into several patches with reduced sizes [17]. Those patches are thus separated by the inhospitable component of the landscape or matrix. The matrix often limits the movements and dispersal of organisms, leading to a loss in genetic diversity linked with the reduction of reduced population sizes and interpopulation connectivity [18,19,20]. Reduced gene flow among small populations can result in an increased probability of reproduction among closely related individuals, which in turn leads to increased inbreeding. Ultimately this can result in reduced survival and reproductive success [21,22]. Lowered immigration rates can also heighten the risk of local populations extinction and decrease the likelihood of recolonization [23,24,25]. Species with limited dispersal and adaptative capacities are especially vulnerable to habitat

fragmentation in urban environments [26]. This is the case for many soil-dwelling invertebrates, which often have restricted dispersal abilities, such as isopods [27] or scolopendra [28]. Recent studies have demonstrated a significant reduction in genetic diversity of different soil-dwelling invertebrates, like isopod populations in agricultural fields [29] or in earthworm and slug populations inhabiting soils subjected to similar tillage systems [30]. Some studies have also been conducted in urban environments on other invertebrate taxa, such as the ladybird (*Harmonia axyridis*) [31], the honey bee [32], and soil arthropods like *Scolopendra mutilans* [28]. However, despite a rapidly growing interest in understanding the effects of urbanization on genetic diversity, studies focusing on genetic differences among earthworm populations in urban areas are still scarce.

Among soil invertebrates, earthworms represent the largest living biomass in terrestrial ecosystems [33] and are key actors in many soil processes that influence nutrient cycling, soil formation, soil structure maintenance, primary production, depollution, water and climate regulation [34]. Due to their particular biological characteristics, earthworms have been the subject of some recent phylogeographic studies in diverse contexts [35,36,37]. The substantial genetic diversity observed in some earthworm species makes them excellent models for phylogeographic investigations [38] and interesting cases of cryptic speciation has also been shown [39,40]. The active dispersal rates of earthworms are generally limited, estimated to range between 2.5 and 14 meters per year, which translates to approximately 0.25 to 1.4 kilometer every 100 years [41]. This slow autonomous expansion of populations means that these animals often remain in the same location for extended periods, closely tied to their habitat and geographical area [42]. However, passive dispersal mechanisms by animals, water, and human activities, are believed to make possible long-distance movement [43,44,45]. In urban environments, for instance, earthworms and their cocoons can be inadvertently transferred through soil or gravel transport during construction or plantation of potted plants, or when cocoons attach to tire treads or other parts of vehicles [46]. This type of passive transport has facilitated the distribution of several peregrine species worldwide, often leading them to become invasive species [47]. Only a few studies have focused on the genetic diversity of earthworms in urban environments. Klein et al. [48] investigated the genetics of *Lumbricus terrestris*, an invasive species in the United States, along an urban-rural gradient in North America. Additionally, Dupont et al. [49] studied the genetics of *Lumbricus castaneus* in the Paris region, France. Both *L. castaneus* and *L. terrestris* are peregrine species and are commonly found in cities [50]. However, no studies have been conducted in a Mediterranean context, despite the high diversity of earthworms in this region, including numerous endemic species [51]. Furthermore, in urban areas, little is known about the effects of land use on the genetic variability of earthworms.

In this study, we carried out a comparative phylogeographic study of earthworm fauna in urban green spaces of a Mediterranean metropolis (Montpellier, France). Our overall aim was to provide new insights into the understanding of urbanization impacts on earthworm genetic diversity and population dynamics. Montpellier is located in the Mediterranean Basin, considered as one of the 25 hotspots of global biodiversity [52], and one of the richest regions in France in terms of earthworm species, including numerous endemic species [51]. The city is experiencing rapid urbanization with a loss of nearly 3000 hectares of agricultural and natural areas between 1990 and 2012 [53] and a population that tripled in 50 years, reaching 499 761 inhabitants.

Our specific aims were to investigate whether environmental variables have driving effect on the genetic diversity of the most prevalent earthworm species within Montpellier, and to infer population mechanisms from observed phylogeographic patterns. We hypothesized H1) that genetic diversity would be lower in productive green spaces because soil disturbance in these sites may hinder the establishment of stable populations and lead to a reduction in genetic diversity; H2) that soil age would influence genetic diversity, with higher diversity observed in older sites due to more time for colonization by different lineages or the preservation of ancient diversity without disturbance; H3) that landscape features, including site area and the surrounding landscape, would affect genetic diversity by influencing gene flow between populations [54] – especially we expect larger site area and a higher proportion of surrounding green areas to increase the variability of incoming gene flow; H4) that the introduced peregrine species in the Montpellier sites are expected to have a weaker genetic structure compared to the native species of the area.

2 Materials and Methods

2.1 Study sites

Sampling was done in the metropolitan area of Montpellier (population of 499 761 in 2020; area of 421 km²), which is located in southern France. The study area features a Mediterranean climate, with average temperatures ranging from 5.9 °C in winter to 22.3 °C in summer, an annual average temperature of 13.9 °C, and an annual precipitation of approximately 745 mm mostly concentrated from September to January [55]. The study sites were selected in order to: 1) have varying percentages of surrounding green spaces and constructed areas and different soil ages, 2) have them distributed the most evenly possible across the study area, and 3) comprise both productive sites and non-productive sites, with productive sites intended for food production where a variety of cultivated crops, including vegetables, fruits, and herbs, may be grown collectively, comprising shared gardens and urban farms. Shared gardens typically refer to community-managed plots where individuals or groups of people grow vegetables. "Urban farms" encompass larger areas of land dedicated to

commercial farming within urban settings. And non-productive grassy spaces, permanently covered by lawn, comprising roadside strips, roundabouts, and urban parks which do not serve fodd production but rather are intended for recreational or ornamental use. This resulted in the selection of a total of 23 study sites, with 6 productive sites and 17 non-productive sites. The characteristics of each sampling site are provided in the supplementary material (Table A.1).

2.2 Earthworms sampling

In each site, earthworms were collected in November 2021 using hand-sorting [56,57] within a 100 m² plot. Specimens were collected from five soil blocks per plot (each measuring 20 cm x 20 cm with a depth of 20 cm) spaced two meters apart and subsequently preserved in 96% ethanol. Species identifications were done on adult specimens according to Bouché [58], and species names were updated to account for recent taxonomic literature [59]. The juveniles, which could not be identified to the species level before DNA analysis, were classified based on their color and morphology. Then whenever possible, five individuals per species or juvenile morpho-groups were selected from each site, yielding a final sample size of 285 individuals. For each of them, a 1-2 mm² cutaneous tissue sample was taken in the posterior body section and carefully cleaned with distilled water to remove soil particles. DNA extraction, amplification and sequencing of the mitochondrial marker cytochrome c oxidase subunit 1 (COI) were conducted at the Biodiversity Institute of Ontario, using primers detailed in Hernández-Triana et al. [60] and adhering to the established protocols of the International Barcode of Life project (http://ibol.org/). For further analyses, a selection was made of the most abundantly represented lumbricid species, resulting in the inclusion of thirteen species.

2.3 Measurement of environmental variables

We described the surrounding landscape of each sampling site using two metrics classically thought to influence genetic diversity: the surface of the surrounding land use type in % (i.e. constructed vs. green areas), and the patch density for both types of surrounding land use [54]. These landscape variables were assessed using the 2019 land use map of Montpellier city (Opendata Montpellier, maximum available scale 1/5000). Green areas, which include meadows and pastures, represent suitable habitats that could be crossed by earthworm species and thus represent dispersal corridors, while constructed areas, which included built surface, roads, and impervious surfaces, represent dispersal barriers. To quantify the surface area of surrounding green and constructed areas, we calculated the sum of the surface area of each patch within the 300-meter buffer zone centered on each site using QGIS [60]. Subsequently, we determined the patch density for each land use type to evaluate the degree of habitat fragmentation and isolation around each site. A higher patch density indicates a more fragmented habitat with smaller average patch sizes [62]. The boundaries between patches were

delineated by physical features such as urban infrastructure (roads, buildings), natural elements (rivers, urban forests), or variations in land use (e.g., a park surrounded by residential areas), which can significantly restrict or even prevent the passive dispersal of earthworms. Additionally, at the site scale, we measured the area of each sampled site in m^2 and we considered an estimation of site soil age using the information provided by the metropolitan authorities as well as archived images available on Geoportal and Google Earth. The site soil age estimated for this study corresponds to the year in which there was a change in the site land use (e.g., from agriculture to urban park) or a significant disturbance, such as construction work.

2.4 Genetic analysis

All the sequences used in genetic analyses are available in the dataset DS-EWMTP "Earthworms of urban areas from the Montpellier metropolitan area (France)" (dx.doi.org/10.5883/DS-EWMTP) on the BOLD database [63]. The dataset contains the sequences obtained in this study, and 20 reference sequences of previously confidently identified earthworm species that were used as a benchmark to validate taxonomic assignments. We used the Automated Simultaneous Analysis Phylogenetics (ASAP) approach [64, 65] to cluster original and reference sequences into 25 species-level lineages or operational taxonomic units (OTUs), which included several cryptic lineages (i.e. different OTUs that correspond to a single taxonomic assignment based on morphological characters).

We used the sequences obtained from our study to build haplotype networks with TCS 1.21 using a 95% probability connection limit to identify disconnected networks, this method helps to visualize the genetic relationships between the individuals of each species, as well as to make inference about biogeography and history of populations. In addition, haplotype networks were inferred in PopART 1.7 for their graphical representation. To enhance the readability of the figures, we separated species into different groups based on their eco-morphological categories [58], cryptic lineages, and geographic distribution patterns. These categories included widely distributed epigeic and anecic species, peregrine species, cryptic lineages, rare species, and native anecics. Moreover, to facilitate the interpretation, networks were represented on a satellite map background of the Montpellier metropolitan area. For each population comprising a minimum of four individuals, we calculated haplotypic diversity (H) and nucleotide diversity (π) using DnaSP 6. These indices are commonly used and provide information for each population regarding the number of distinct sequences and the proportion of differing nucleotides between sequences. When cryptic lineages were found in a given species, we did not attempt to separate them and thus treated them as a single species in further analyses. This has potentially week impact on our results, as cryptic lineages usually did not co-occur in a given site.

2.5 Statistical analysis

Variations of genetic diversity indices among land use types (i.e. productive vs. non-productive greenspaces) and with environmental variables were assessed with linear models (LM). A previous selection of predictive variables was done using a correlation matrix to identify the most strongly correlated variables; when two variables showed a high degree of correlation (Pearson's $r > 0.60$), only one of them was retained for analysis. After selecting the predictive variables, we included green patch density, constructed patch density, green area, site areas, site soil age, and site land use as predictors in our models. Before adjusting linear models (LM) to the data, we checked for normal data distribution (Shapiro test) and homogeneity of variances (Breusch-Pagan test). Both diversity indices (haplotypic and nucleotide) were analyzed separately. Analyses were performed with R using the “stats” and “car” packages [66,67].

3 Results

3.1 Haplotypic and nucleotide diversities

The analyses revealed cryptic lineages within *Vignysa teres* (Dugès, 1828) (four lineages), *Aporrectodea rosea* (Savigny, 1826) (three lineages) and *Allollobophora chlorotica* (Savigny, 1826) (three lineages) (dx.doi.org/10.5883/DS-EWMTP).

Table 1: Genetic diversity of different earthworm species in the Montpellier metropolitan area. Values are means of the mean of n populations values, each of them contained a minimum of 4 individuals per site. H: Haplotypic diversity; π: nucleotide diversity; N: the number of populations with a minimum of 4 individuals.

Earthworm species	H	Π	N	Cryptic lineages
Allolobophora chlorotica (Savigny, 1826)	0.85 ± 0.08	0.04 ± 0.006	6	3
Aporrectodea caliginosa (Savigny, 1826)	0.8	0.003	1	
Aporrectodea cupulifera (Tetry, 1937)	0.89	0.02	1	
Aporrectodea nocturna (Evans, 1946)	0.8	0.02	1	
Aporrectodea rosea (Savigny, 1826)	0.25 ± 0.25	0.02 ± 0.01	2	3
Aporrectodea trapezoides (Dugès, 1828)	0.07 ± 0.04	0.0002 ± 0.0001	4	
Eisenia andrei (Bouché, 1972)	0.536	0.001	1	
Lumbricus castaneus (Savigny, 1826)	0.65 ± 0.25	0.02 ± 0.02	2	
Kritodrilus setusmontanus (Qiu & Bouché, 1998)				
Microscolex dubius (Fletcher, 1887)	0 ± 0	0 ± 0	2	
Octodrilus complanatus (Dugès, 1828)	0.67	0.001	1	
Scherotheca gigas (Dugès, 1828)	0.68 ± 0.08	0.008 ± 0.005	4	
Scherotheca rhodana Bouché, 1972	0.6	0.002	1	
Vignysa teres (Dugès, 1828)	0.71 ± 0.07	0.02 ± 0.01	7	4

Genetic diversity parameters for the species are presented in Table 1. Haplotype diversity ranged from 0 for *Microscolex dubius* (Fletcher, 1887) to 0.89 for *Aporrectodea cupulifera* (Tetry, 1937), with an average of 0.57 ± 0.06. Nucleotide diversity ranged from 0 for *M. dubius* to 0.04 for *All. chlorotica*, with an average of 0.02 ± 0.004 overall. Differences between both productive and non-productive sites were not significant for either of the two indices (Wilcoxon p-value of 0.41 and 0.29, respectively).

3.2 Effect of environmental variables on genetic diversity

Table 2: Effects of environmental variables on haplotypic and nucleotide diversity, determined with Linear Models (LM). The significant p-values are highlighted in bold and the significance levels are reported as follows: *** (p < 0.001), ** (p < 0.01) * (p < 0.05)

	Haplotypic diversity (H)				Nucleotidic diversity			
Model	Sum of square	Df	F-value	p-value	Sum of square	Df	F-value	p-value
Green area	0.02	1	1.81	0.21	0.0003	1	1.42	0.26
Green patch density	0.25	1	22.19	**0.0008*** **	0.0004	1	1.71	0.22
Constructed patch density	0.03	1	2.76	0.13	0.002	1	6.09	**0.03***
Site size	0.43	1	0.68	0.43	0.0002	1	0.81	0.39
Site soil age	0.32	1	27.52	**0.0004*** **	0.0004	1	1.64	0.23
Site land use	0.009	1	0.84	0.38	0.0003	1	1.31	0.28

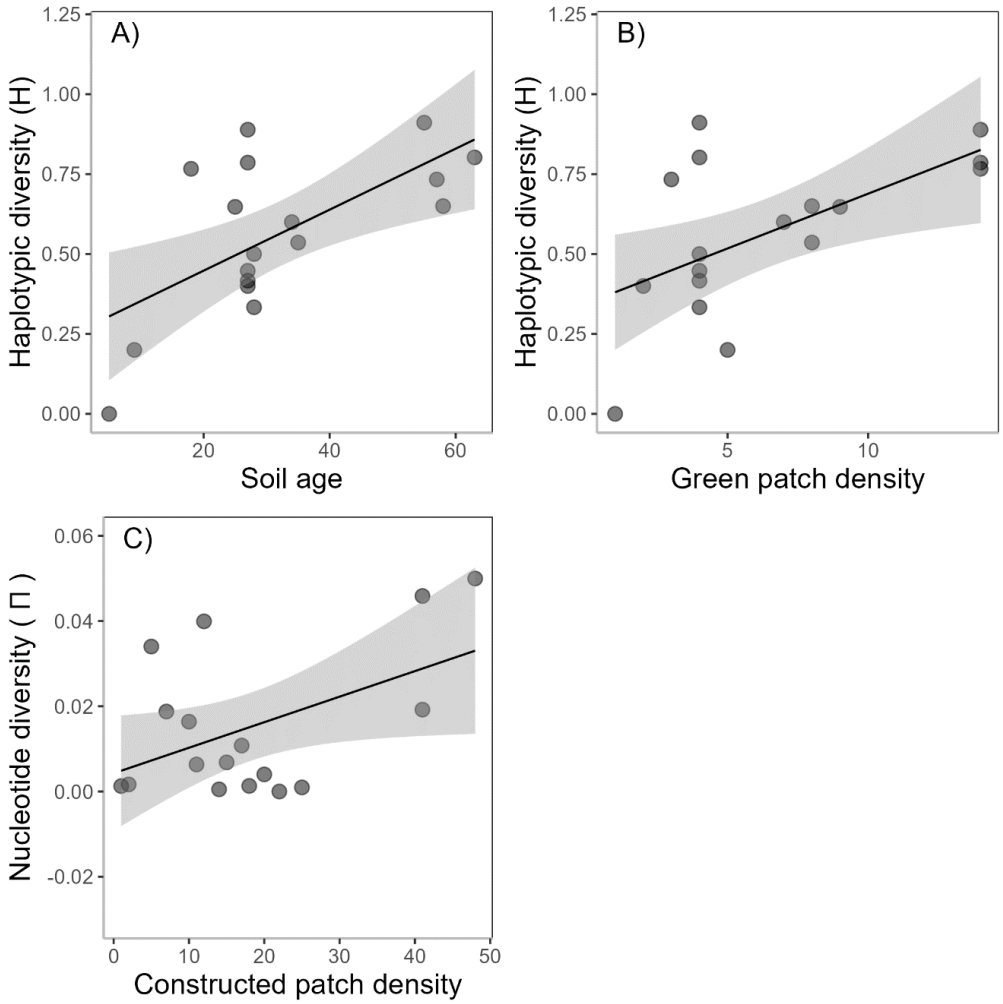


Fig. 1. Relationships between haplotypic diversity and soil age (A), green patch density (B), and relationships between nucleotide diversity and constructed patch density (C). Shaded areas around linear models represent 95% confidence intervals.

Haplotypic diversity exhibited significant variation in response to soil age (r^2: 0.79, p-value = 0.0004) and the green patch density (r^2: 0.86, p-value = 0.0002) (Table 2, Fig. 1A and 1B). This diversity increased as soil age increased, with higher diversity in older soils, and increased with a greater green patch density. Nucleotide diversity significantly increased with constructed patch density in the buffer area (r^2: 0.36, p-value = 0.03) (Table 2, Fig. 1C). No significant relationship was observed between land use, site area, and genetic diversity (Table 2).

3.3 Haplotype networks

Haplotype networks exhibited distinct phylogeographic patterns among the various species within the Montpellier metropolis.

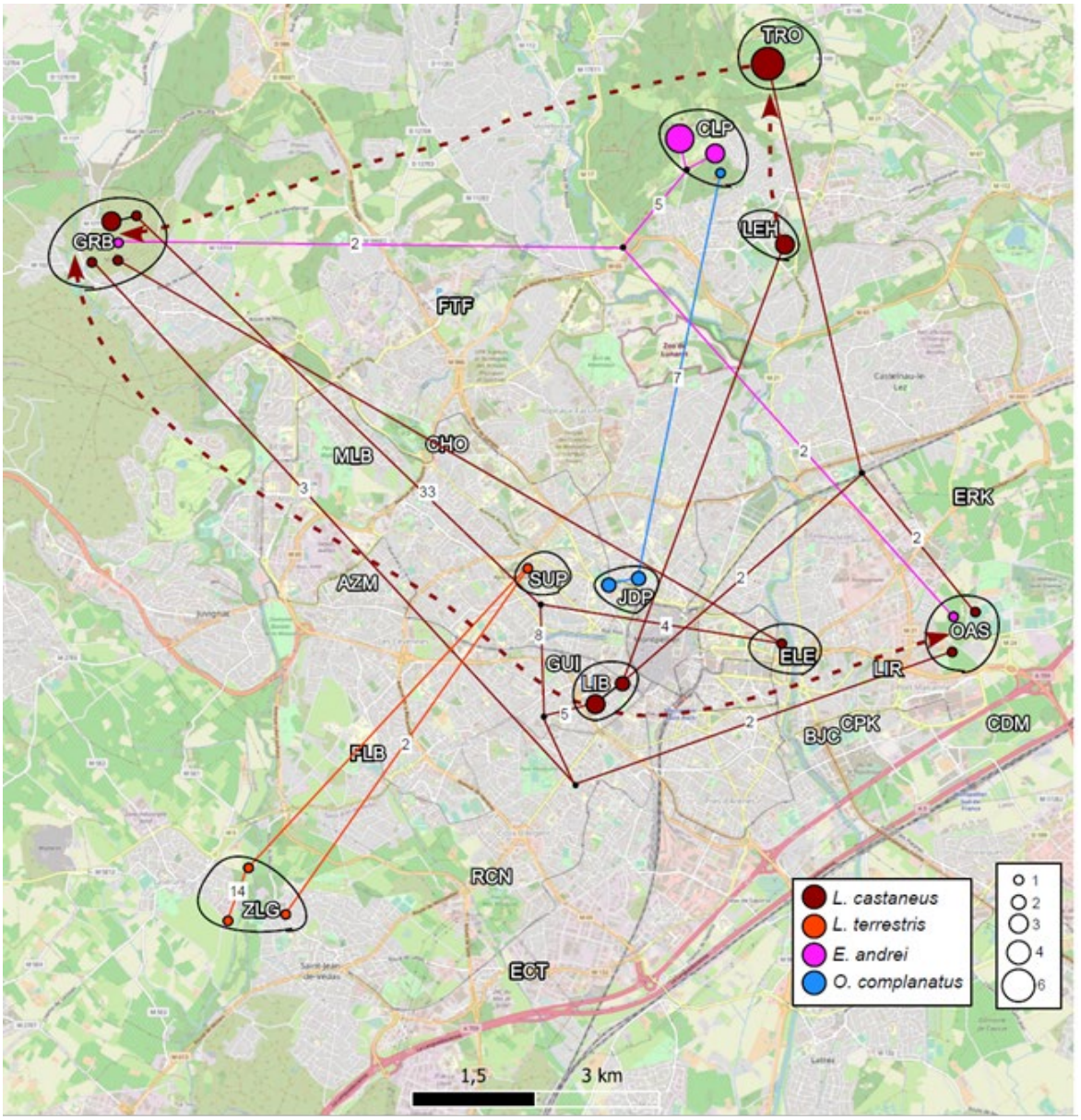


Fig. 2. Haplotype networks of the widely distributedepigeic *L. castaneus*, *E. andrei* and anecic *L. terrestris*, *O. complanatus*, overlaid on the geographical locations of the species on the Montpellier metropolis. Connection limit between haplotypes corresponds to 95% probability (11 steps); site names are indicated in white; black outlines represent sites, where considered species were collected; the hatched arrows indicate the distribution of haplotypes present in multiple sites, and the direction of the arrow originates from the site where the haplotype is most prevalent ; numbers on solid lines represent mutational steps between each haplotype; circle diameter is proportional to the number of individuals in each haplotype (Source : OpenStreetMap).

Within the widely distributed epigeic and anecic species, the epigeic *Lumbricus castaneus* (Savigny, 1826) exhibited substantial genetic diversity, with a haplotype network characterized by a complex structure across the Montpellier metropolis. It was found in six sites, comprising 11 haplotypes, some of these being closely related, differing by only one mutational step, while others showed more significant mutational divergence (i.e. up to 33 steps). Three haplotypes were observed in multiple localities (Fig. 2). *Eisenia andrei* (Bouché, 1972) was present in three sites, exhibiting four haplotypes separated by either four or seven mutational steps (Fig. 2).

Other species were found in a lower number of sites: the anecic *L. terrestris* was found in two sites, displaying four closely related haplotypes, except for one haplotype that was separated by 14 mutational steps (Fig. 2); *Octodrilus complanatus* (Dugès, 1828) was also present in two sites, with seven mutational steps separating the two populations, and 3 haplotypes present with two of them closely related within the same site (i.e. separated by one mutational step) (Fig. 2).

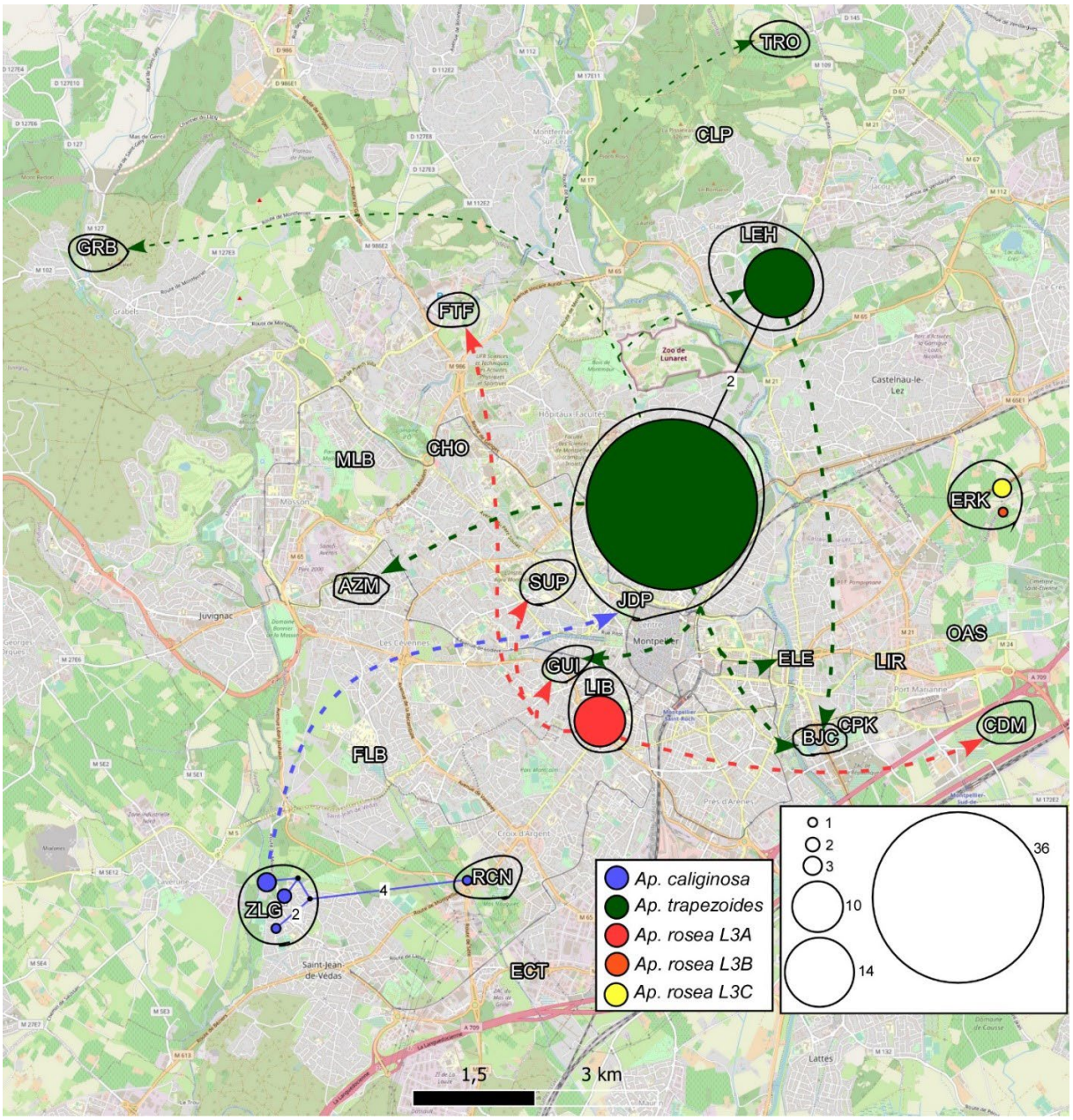


Fig. 3. Haplotype networks of the peregrine *Aporrectodea caliginosa*, *Aporrectodea trapezoides* and the three cryptic lineages (L3A, L3B, L3C) of *Aporrectodea rosea*, overlaid on the geographical locations of the species on the Montpellier metropolis. Connection limit between haplotypes corresponds to 95% probability (11 steps); site names are indicated in white; black outlines represent sites where considered species were collected; the hatched arrows indicate the distribution of haplotypes present in multiple sites, and the direction of the arrow originates from the site where the haplotype is most prevalent ; numbers on solid lines represent mutational steps between each haplotype; circle diameter is proportional to the number of individuals in each haplotype (Source : OpenStreetMap).

Within peregrine endogeic species, *Aporrectodea caliginosa* (Savigny, 1826) was present in three sites and had a total of four haplotypes. One population consisted of three closely related haplotypes (i.e.

separated by one or two mutations), including one haplotype also found in another site; another population comprised a single haplotype genetically distinct from the haplotype network of the first population by four mutational steps; the third population comprised a single haplotype (Fig. 3). *Ap. trapezoides* was found in 10 localities, characterized by two frequent and closely related haplotypes differing by only two mutational steps, both of them observed in multiple localities; the more common haplotype (36 individuals) was found in seven different sites (Fig. 3). *Ap. rosea* exhibited 3 cryptic lineages (corresponding to L3 from Porco et al. [68], with *Ap. rosea* L3A being the most widespread, represented by a single haplotype found in five distant sites. The two other lineages (L3B and L3C) were present in a single site, each represented by only one haplotype (Fig. 3).

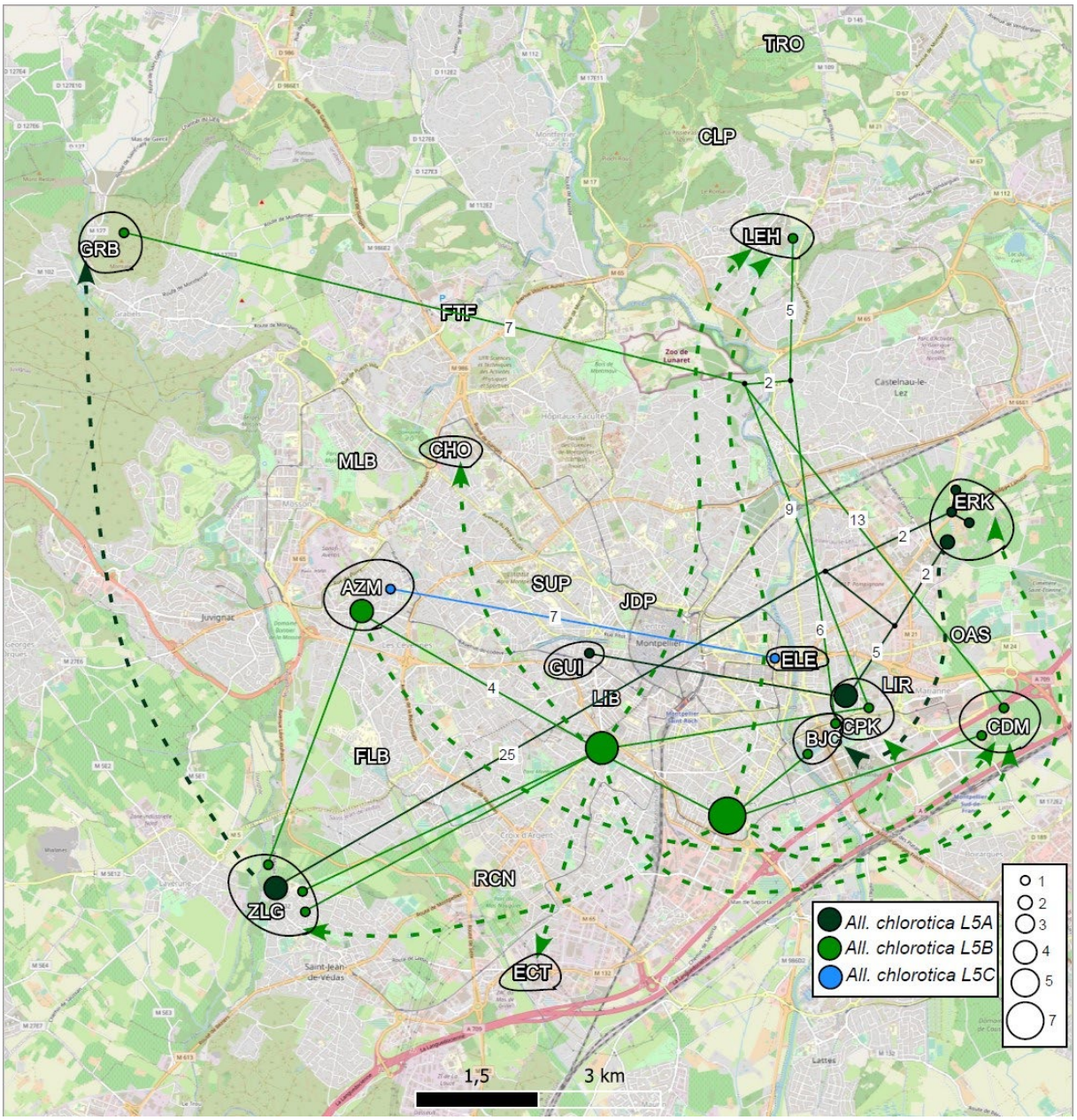


Fig. 4. Haplotype networks of the three cryptic lineages (L5A, L5B, L5C) of *Allolobophora chlorotica*, overlaid on the geographical locations of the species on the Montpellier metropolis. Connection limit between haplotypes corresponds to 95% probability (11 steps); site names are indicated in white; black outlines represent sites where considered species were collected; the hatched arrows indicate the distribution of haplotypes present in multiple sites, and the direction of the arrow originates from the site where the haplotype is most prevalent ; numbers on solid lines represent mutational steps between each haplotype; circle diameter is proportional to the number of individuals in each haplotype (Source : OpenStreetMap).

The genetic diversity of *All. chlorotica* was remarkably high, with three cryptic lineages (L5A, L5B, and L5C, corresponding to lineage 5 from Dupont et al. 2011), each composed of several haplotypes of

varying dissimilarity. The L5B was the most prevalent across Montpellier, being found in 10 distinct sites distributed throughout the study area. It consisted of common haplotypes present in multiple localities and rarer haplotypes exclusive to specific sites, separated from each other by mutational steps ranging from one to 20. The L5A also demonstrated considerable diversity, occurring in six well-distributed sites across the Montpellier metropolis, comprising seven haplotypes, with the two more distant separated by 31 mutational steps and two of them present in at least two sites. The L5C appeared in 2 sites with unique haplotypes separated by seven mutational steps (Fig. 4).

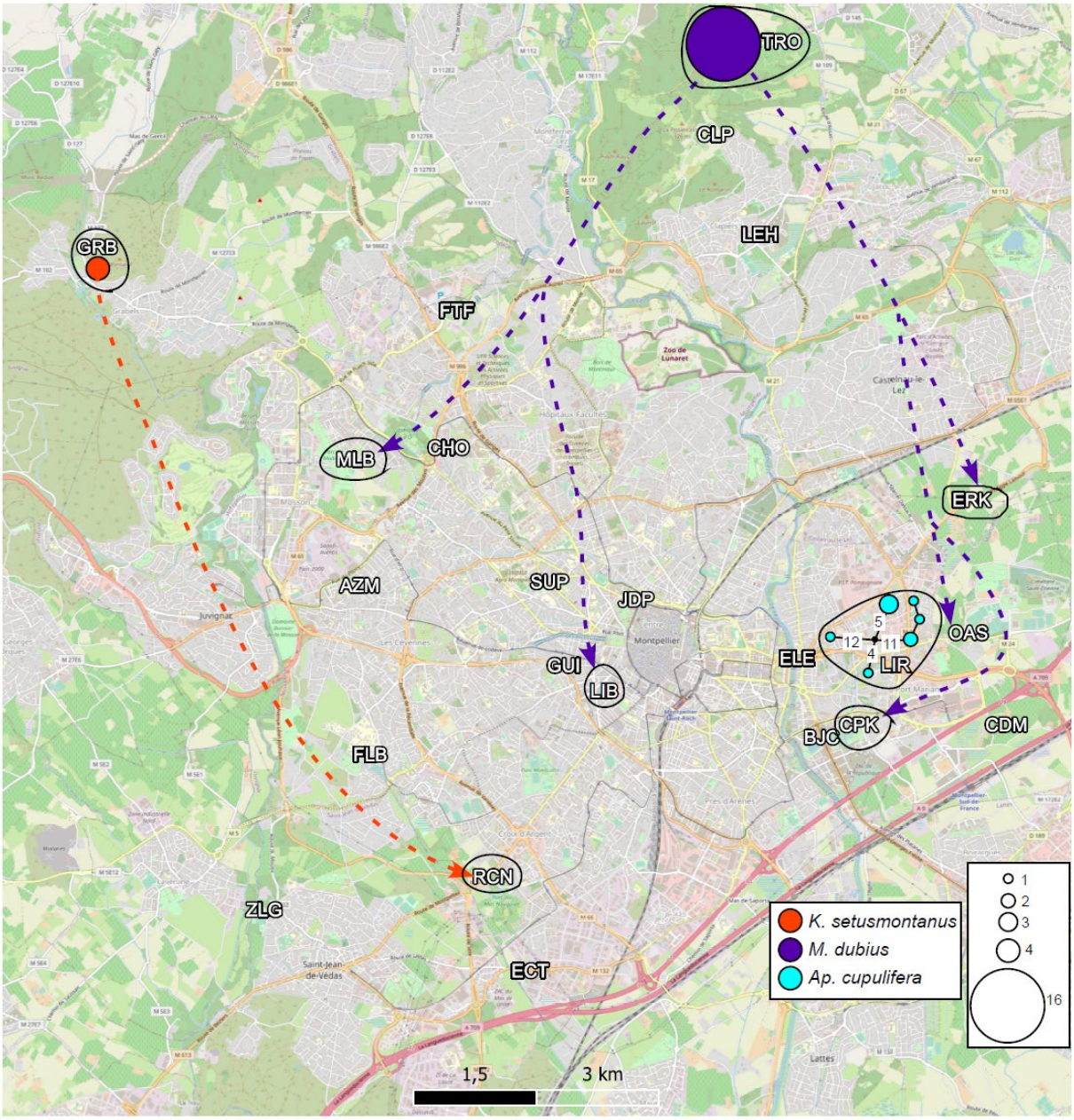


Fig. 5. Haplotype networks of the endogeic species found in few sites *Kritodrilus setusmontanus*, *Microscolex dubius*, and *Aporrectodea cupulifera*, overlaid on the geographical locations of the species on the Montpellier metropolis. Connection limit between haplotypes corresponds to 95% probability (11 steps); site names are indicated in white; black outlines represent sites where considered species were collected; the hatched arrows indicate the distribution of haplotypes present in multiple sites, and the direction of the arrow originates from the site where the haplotype is most prevalent ; numbers on solid lines represent mutational steps between each haplotype; circle diameter is proportional to the number of individuals in each haplotype (Source : OpenStreetMap).

Within the endogeic species found in few sites, *Kritodrilus setusmontanus* (Qiu & Bouché, 1998) was represented by a single haplotype identified in two distant sites (Fig. 5). *M. dubius* displayed wide distribution across Montpellier, being observed in six distinct sites with all populations sharing a single haplotype (Fig. 5). *Ap. cupulifera* was found exclusively in one site, yet it exhibited considerable genetic diversity with 6 haplotypes, three of them differing by only one mutational step, while the remaining 3 were separated by mutational steps ranging from nine to 23 (Fig. 5).

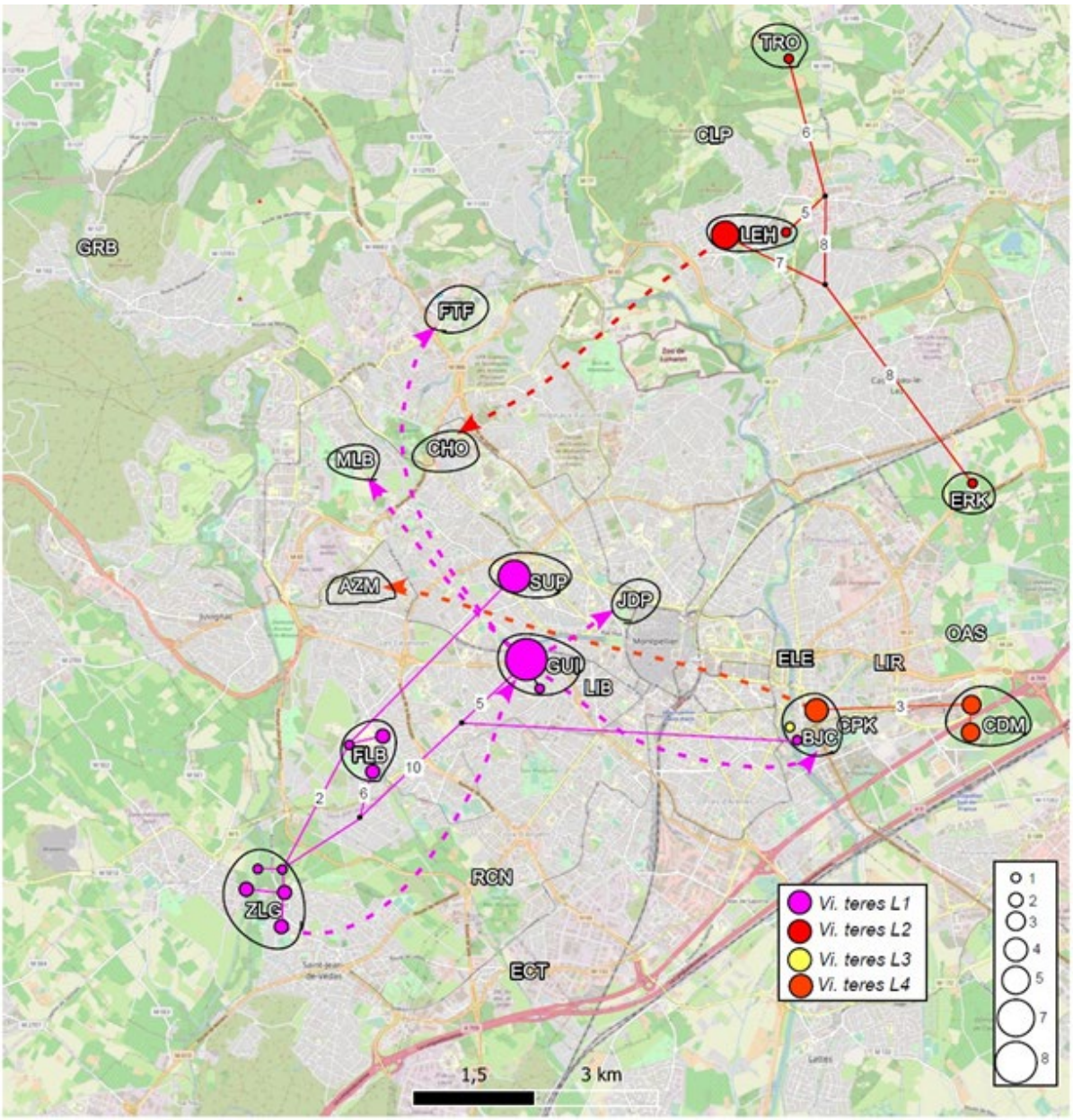


Fig. 6. Haplotype networks of the four lineages of *Vignysa teres* (L1, L2, L3, L4), overlaid on the geographical locations of the species on the Montpellier metropolis. Connection limit between haplotypes corresponds to 95% probability (11 steps); site names are indicated in white; black outlines represent sites where considered species were collected; the hatched arrows indicate the distribution of haplotypes present in multiple sites, and the direction of the arrow originates from the site where the haplotype is most prevalent ; numbers on solid lines represent mutational steps between each haplotype; circle diameter is proportional to the number of individuals in each haplotype (Source : OpenStreetMap).

V. teres presented a substantial genetic diversity and was widely distributed throughout the Montpellier metropolis and was represented by four distinct cryptic lineages observed for the first

time and further designated as L1, L2, L3, and L4. The distribution of these lineages did not overlap, except for a single location where three of them coexisted. Lineage L1 emerged as the most prevalent, being present in eight sites mostly situated to the western part of the city center. This lineage displayed remarkable genetic diversity, encompassing 12 distinct haplotypes separated by substantial mutational steps (15 or more). The most frequent was present in five distant sites, while another one was found only in two sites. Lineage L2 was found in four sites northeast of Montpellier center. It contained four haplotypes separated by a minimum of 15 mutational steps, the most frequent being observed in two sites. Lineage L3 was confined to a single locality, featuring a solitary haplotype carried by a single individual. In contrast, lineage L4 was present in three sites located east of the city center. It was represented by three haplotypes separated by a maximum of four mutational steps, with the most frequent haplotype identified in two sites (Fig. 6).

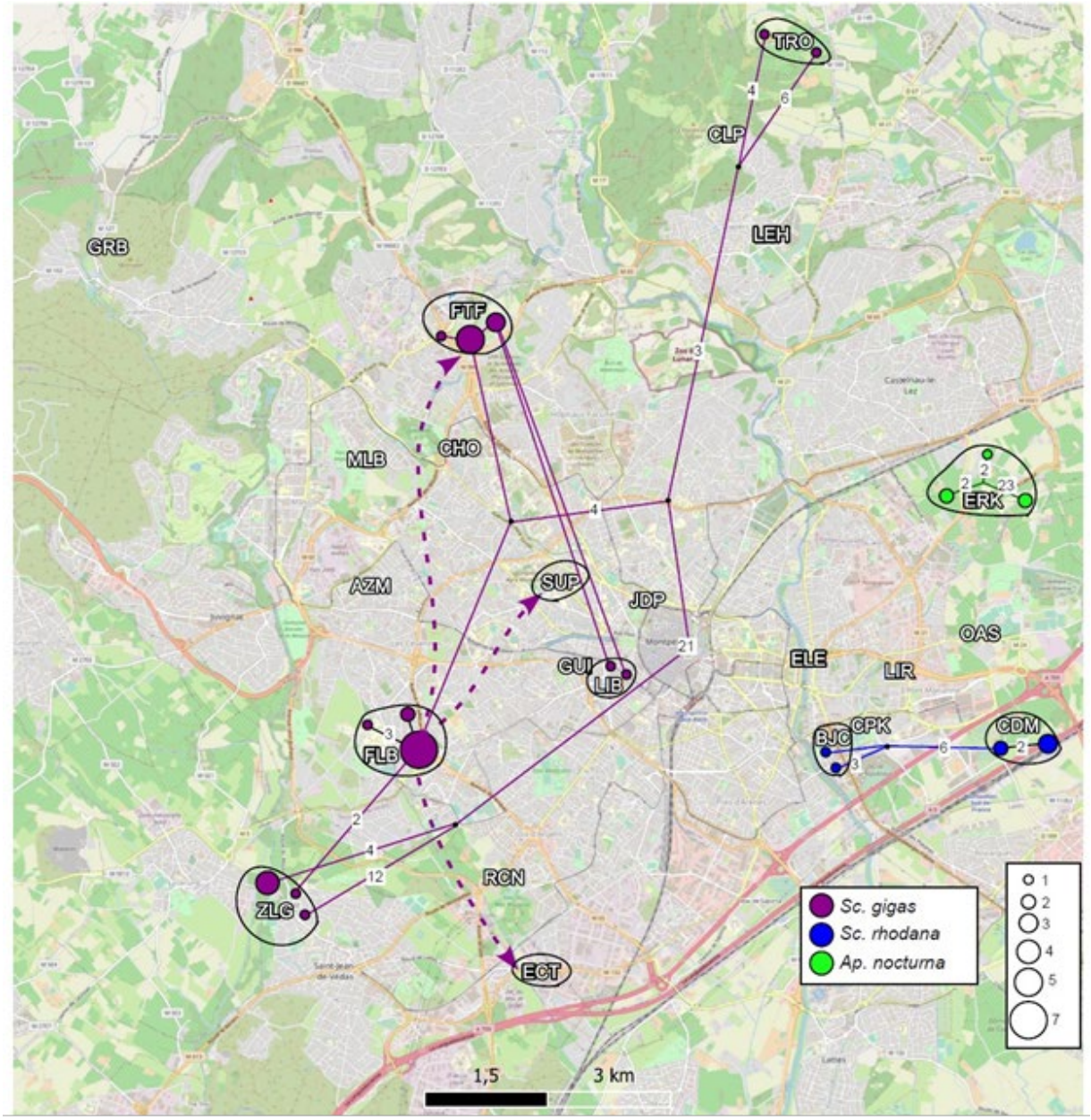


Fig.7. Haplotype networks of the native anecics *Scherotheca gigas*, *Scherotheca rhodana* and *Aporrectodea nocturna*, overlaid on the geographical locations of the species on the Montpellier metropolis. Connection limit between haplotypes corresponds to 95% probability (11 steps); site names are indicated in white; black outlines represent sites where considered species were collected; the hatched arrows indicate the distribution of haplotypes present in multiple sites, and the direction of the arrow originates from the site where the haplotype is most prevalent ; numbers on solid lines represent mutational steps between each haplotype; circle diameter is proportional to the number of individuals in each haplotype (Source : OpenStreetMap).

Within the group of large anecics, *Scherotheca gigas* (Dugès, 1828) was widely distributed throughout Montpellier and exhibited significant genetic diversity. It was found across seven distant sites and

encompassed 13 distinct haplotypes separated by one to over 30 mutational steps from each other. The most frequent haplotype was observed in four different sites (Fig. 7). In contrast, *Scherotheca rhodana* Bouché, 1972 was found in only two sites and exhibited lower genetic diversity, with four haplotypes (two in each site) separated by a maximum distance of nine mutational steps (Fig. 7). Finally, *Ap. nocturna* was present in a single site, yet it displayed substantial genetic diversity with three haplotypes, two of which being closely related (i.e. separated by four mutational steps), while the third diverged from the others by 25 mutational steps (Fig. 7).

4 Discussion

To our knowledge, the present work is the first comparing genetic diversity and phylogeographic pattern of various earthworm species in an urban context and Mediterranean context. We show a remarkably high genetic diversity which is influenced by environmental factors at both local and landscape scale, and contrasted phylogeographic pattern among species.

4.1 A high genetic diversity in Montpellier metropolis

Our results provide new evidence of the existence of cryptic diversity in temperate earthworms. We actually found cryptic lineages in species such as *Ap. rosea* (three lineages), and *All. chlorotica* (three lineages). This confirms the results of previous studies that highlighted that this pattern is quite common in temperate regions [39,69]. In fact, cryptic lineages have previously been documented in *Ap. rosea* and *Ap. chlorotica*, which are peregrine species [39,40], but never in an urban context. For example, in our study, we found nearly as many cryptic lineages for these two species within a single city as in the study by King et al. [39], which was conducted throughout the United Kingdom. Our study is the first to demonstrate that *V. teres*, which is an endemic species of two areas of Mediterranean France: Marseille and Montpellier [70], also exhibits surprisingly high genetic diversity with four cryptic lineages. A comparable level of genetic diversity was also observed in a somewhat similar Hormogastridae species in the study conducted by Marchán et al. [71], where six cryptic lineages were identified. However, this study covered a less urbanized area and a much larger geographical expanse (spanning more than 50 x 50 km) than our study which covers 12 x 12 km. Further research on the ecology of these different lineages would be necessary to determine if these well-individualized lineages can be considered as cryptic species. The large number of cryptic lineages found in Montpellier metropolis could be attributed to one or more scenarios. Certain past and present elements within the city may act as geographic barriers to individual dispersal, thereby creating genetically isolated groups that evolve independently [72]. For instance, rivers, highways, or other infrastructures can separate populations. Different parts of the city may also provide distinct ecological niches in terms of soil physico-chemical properties, which could promote population specialization based on their ecological

preferences and, consequently, genetic divergence [73,74]. Additionally, *All. chlorotica* and *Ap. rosea* are highly susceptible to be accidentally transported by human activities (through the movement of soil, gardening materials, or ornamental plants) due to their small size and their parthenogenetic reproduction mode [39,40]. Such human-mediated transport can facilitate genetic mixing among populations of the same species, even if they are relatively distant. This can lead to the introduction of new genetic lineages of peregrine species into the city from distant sources.

4.2 Effect of environmental factors on genetic diversity

In our study, we found a significant effect of soil age on haplotypic diversity, with higher diversity observed in older soils compared to younger ones. This result aligns with our hypothesis H2 that in older soils, there is more time available for the colonization, through passive or active dispersal, by different earthworm lineages. The exchange of individuals from other populations participating in reproduction facilitates genetic mixing, which can enhance genetic diversity [75]. Additionally, in undisturbed soils for a long time, earthworm populations may have accumulated substantial intraspecific genetic diversity over time, thanks to the ancient history of these populations.

Interestingly, we did not observe any effect of site area on genetic diversity, but we did find that genetic diversity was positively correlated with the number of habitat patches in the surrounding landscape, which aligns with our hypothesis H3. The presence of numerous habitat patches around the sampled green spaces increases landscape connectivity, those patches acting like 'stepping stones' and 'corridors' that can facilitate active dispersal [76]. Moreover, it increases the likelihood of having patches with different histories of practices and management, thereby increasing the probability of introducing different haplotypes to a given site. Consequently, the increased likelihood of haplotype mixing through reproduction may enhance the probability that several haplotypes will co-occur locally [77]. In contrast, a lower number of habitat patches around a site may increase population isolation, reducing the probability of recruiting new haplotypes. This isolation can potentially result in intrinsic loss of diversity due to genetic drift and inbreeding [78].

Surprisingly, we observed a positive effect of the constructed patch density on nucleotide diversity. This could be explained by the fact that environmental disturbances induced by urbanization, such as habitat fragmentation and pollution, act as significant selective pressures on organisms, leading to important genetic variation [15]. Soil pollution can be caused by the construction of buildings, roads, industry, and associated activities. For example, some studies have highlighted that pollution can induce higher mutation rates in some species of bird or mammals [79,80]. Indeed, some pollutant sources can act as mutagens, increasing mutation rates in the germline or within somatic tissues that later differentiate into reproductive tissue [16]. However, despite numerous studies investigated the

effects of pollutants on earthworms, few have investigated genetic variation-induced (but see Dupont et al., 2019). Another explanation for the correlation between constructed patch density and nucleotide diversity could be that constructed surfaces often entail varying degrees of soil exchange from different sources, increasing the likelihood of introducing new haplotypes that may be genetically distant from those originally present at the site.

Contrary to what was expected with our hypothesis H1 we did not find any significant effect of land use type (productive vs non productive) on earthworm genetic diversity. In an urban context, human mediated transport of earthworms through the introduction of soil, litter, and compost into productive systems can lead to multiple introductions of earthworms. This can help maintaining a high genetic diversity despite soil disturbances, allowing these areas to achieve nearly the same levels of diversity as non-productive and less disturbed urban spaces. Although our study did not reveal significant differences between different land uses, it is worth noting that both productive and non-productive systems seem to play important roles in maintaining earthworm genetic diversity.

4.3 Widespread species with high genetic diversity

Among the phylogeographic patterns of the most widespread earthworm species in Montpellier, those of the species *All. chlorotica*, *L. castaneus*, *E. andrei*, *V. teres*, and *S. gigas* are relatively similar. Indeed, they exhibit significant diversity in Montpellier with several cryptic lineages, most composed of several haplotypes, often separated by high numbers of mutational steps. These species are also characterized by their high population density and widespread distribution in the study area, with the most frequent haplotypes occurring in multiple sites.

It is well-known that earthworms have limited active dispersal abilities. However, species like *All. chlorotica, L. castaneus* and *E. andrei* have achieved global distribution and can be easily transported by human-mediated transport through the movement of soil, compost, and horticultural products [39]. In our study, these species exhibit a weak genetic and spatial structure which align with our hypothesis H4. Certain haplotypes, typically the most common ones, are found in distant populations which are often separated by highly urbanized landscapes, such as streets and roads. Within Montpellier Metropolis, these species seem to be spreading through a series of human-mediated long-distance dispersal events. This aligns with the understanding that their active dispersal abilities are limited [81,82]. Montpellier is a highly dynamic city, experiencing an annual influx of approximately 4,000 new residents [83]. Consequently, the substantial genetic diversity observed in this city for these species could be attributed to multiple introductions of individuals from potentially distant populations.

On the contrary, *S. gigas* and *V. teres* are species with a limited geographic range. *V. teres*, for instance seem endemic to two areas of Mediterranean France: Marseille and Montpellier [70]. Moreover, these

species are large and are known for their deep burrowing habits, which makes their accidental transport more complex (and even more so for *V. teres*, which is an earthworm particularly soft and fragile), though not entirely impossible. This transport might however occur through the unwitting transfer of cocoons or smaller juvenile individuals. Given the diversity and extensive distribution of these species in Montpellier, it is plausible that these populations have been evolving in the area for an extended period, potentially spanning thousands or even millions of years. This is suggested by the considerable number of mutational steps observed between certain pairs of haplotypes. The current populations we observe could represent remnants of ancient, spatially structured, and diversified populations that have been recently fragmented due to urbanization. In the absence of human interference, these species would likely have maintained a more robust genetic structure. However, human actions have disrupted this natural pattern by relocating some individuals via human-mediated transport and introducing new complexities to their genetic makeup [84].

Despite human-mediated mixing of some individuals, the distinct lineages within *V. teres* exhibit greater spatial structuring compared to *All. chlorotica* and *E. andrei*. Each of the four lineages has a rather limited distribution, with no geographic overlap between them except in a single site where all three coexist. Typically, cryptic species within a morphological taxon can display distinct, non-overlapping geographical distributions [85,86,71]. The most common lineage of *V. teres* is located to the west of the city center of Montpellier, while the other three lineages are situated to the east, with one to the north and two to the south. Geographically, the separation of the most widespread lineage from the other three can be explained by the presence of the Lez River, which would constitute a significant barrier to earthworm dispersal through time. This could also explain why *S. gigas* is only found to the west of the Lez. The differences in distribution between the different cryptic lineages and the minimal geographic overlap may be explained by biological differences between the lineages [87,88]. Barcode data allows us to differentiate lineages, and ecological differences may be highlighted. If we consider all the species without distinguishing them into lineages, we lose this valuable information.

4.4 Recently introduced species with low genetic diversity

Unlike the previously discussed species, widespread and exhibiting significant genetic diversity, other less common species within the Montpellier metropolitan area display low genetic diversity, characterized by few haplotypes and minimal mutations between haplotypes. This is notably the case for *M. dubius*, *Ap. trapezoides*, *Ap. rosea*, and *K. setusmontanus*, which exhibit relatively similar phylogeographic patterns.

The most striking example is that of *M. dubius*. This species serves as a perfect illustration of an introduced species, characterized by a single haplotype that is highly prevalent in only one location. Interestingly, this particular haplotype is found in six different populations, suggesting two possible introduction scenarios. First, they might have been multi-introduced from the same source, possibly via horticultural products from another country that were planted in various locations throughout Montpellier. Alternatively, if they originated from different sources, we would expect to observe different haplotypes [89]. Furthermore, they could have initially been introduced at a single point, which would be more likely to contain unique haplotypes [89,90], and subsequently spread from this source to multiple areas through soil transport within Montpellier. This is coherent with what we know about this species and others in the genus *Microscolex* which are peregrine species likely originating from southern South America [47], that have been spread by humans and have become peregrine [58,91].

The same pattern is observed with the two species, *Ap. trapezoides* and *Ap. rosea*, for which we can consider the same two introduction hypotheses as for *M. dubius*. Both species are highly susceptible to dispersal by humans and are found in various temperate soils around the world [93,94]. *Ap. trapezoides* displays only two haplotypes and *Ap. rosea* comprises three lineages and is quite common in our study. This species is known to exhibit high intraspecific variation with numerous cryptic genetic lineages. Both species demonstrate a high degree of colonization efficiency, potentially arriving once and then being disseminated by humans, or they might have been introduced multiple times by humans. For *Ap. rosea*, two rare haplotypes are present, and both likely arrived here on a single occasion.

The case of *K. setusmontanus* illustrates a markedly different scenario. This species was previously documented at a single location in the city of Sète, situated approximately 30 km away from Montpellier [94]. The observed low genetic diversity in this species can be attributed to its inherent rarity [95]. Given the significant geographical separation between the two sites, it is highly likely that the unique haplotype identified in Montpellier was transported by humans between these locations. Upon comparing the haplotype of the individuals found in this study with the one initially observed in Sète, it becomes evident that the Montpellier haplotype significantly differs from its Sète counterpart by 68 mutational steps. By the huge number of mutational steps and the rarity of this species, it is plausible that the populations in Montpellier and Sète represent vestiges of a once more extensive geographical range, which may have been fragmented due to environmental shifts and/or human activities.

4.5 Species found in few sites but exhibiting high genetic diversity

The species *Ap. nocturna*, *S. rhodana*, *L. terrestris*, *O. complanatus*, *E. andrei*, and *Ap. cupulifera* all exhibit similar phylogeographic patterns. Despite being restricted in our dataset to few sites in Montpellier (i.e. one to three), they display a high level of genetic diversity, with numerous haplotypes separated by substantial numbers of mutational steps.

The French endemic *S. rhodana* was found in two locations, each hosting a population composed of two haplotypes with six mutations among them. Obviously, we cannot rule out the possibility that other haplotypes are present in the study area but were not sampled in our study. Interestingly, according to Bouché [58], *S. rhodana* appears to be more widespread in regions located in the Mediterranean part of the Rhone Basin, such as Provence region, rather than in Montpellier. The two populations we discovered are probably recent arrivals due to human-induced dispersal. In fact, there are only a few mutations separating the haplotypes within each population, and these populations are confined to a limited area, suggesting that they may not have been established for an extended period.

L. terrestris, *O. complanatus*, *E. andrei*, and *Ap. nocturna* probably exhibit similar patterns because they are found in only a few sites and display high genetic diversity. This diversity could reflect two different scenarios. Firstly, a recent introduction from multiple locations, as observed in the cases of *O. complanatus* and *E. Andrei*. *O. complanatus* is not native to France [58] and was found in only two populations, with one consisting in two very similar haplotypes, separated by 7 mutations from the other. This suggests it might have been introduced from multiple locations, possibly Italy where it is very common [58], and probably originating from two different populations. Similarly, *E. andrei* appears to have been introduced from different places and populations, with three populations originating from different locations through compost introduction. As an epigeic species, *E. andrei* primarily resides at or near the surface of leaf litter [51], which may facilitate its dispersal across landscapes by humans compared to deeper soil-dwelling earthworms [96].

Alternatively, these species could represent ancient populations that diversified locally before declining due to urbanization expansion. This might be the case for *Ap. nocturna* wich is native of the region [97] and was found in only one site and *L. terrestris* which was found in only two sites but exhibit significant genetic diversity. Given the number of haplotypes and mutational steps present within their populations, it can be inferred that these species have been evolving within these sites for a considerable period. Regarding *L. terrestris* and *Ap. nocturna* haplotypes that are in the BOLD database (370 sequences for *L. terrestris*, and 94 for *A. nocturna*) [63], none of the observed haplotypes in our study sites are shared with any other sites worldwide. While this observation does not constitute formal proof, it is consistent with the hypothesis of ancient diversification (prior to urbanization) rather

than recent introductions from source populations. Some species may correspond to one or both of these scenarios, but the available data does not allow us to make a definitive determination.

Ap. cupulifera is also only present in a single site, but it exhibits a high level of genetic diversity, possibly ranking as the most diverse within the dataset. There are six distinct haplotypes, with some of them being separated by numerous mutational steps. Those that are closely related likely evolved within the same area, while those that are markedly different may have originated elsewhere. However, it is puzzling because the most distant haplotypes are found at this single location. It could be that this site provides particularly favorable conditions for the persistence of this species. Indeed, *Ap. cupulifera* is typically associated with moist soils and wetlands [98] and was found in a location both crossed by a river and nearby the larger Lez River. Water-mediated dispersal could have occurred through the transport of earthworms or cocoons during heavy rainfall, resulting in repeated haplotype introductions from locations upstream, which may have combined with the appearance of new haplotypes following mutations in the local population. By following the river north into the riverside grasslands, more populations of *Ap. cupulifera* could potentially be found, shedding light on the source of colonization.

4.6 Conclusion

This study represents the first comprehensive investigation of the genetic diversity and phylogeographic patterns of various earthworm species in an urban context. Our findings underscore the potential of systematic DNA barcoding initiatives for earthworms and biodiversity surveys, as already proposed by Decaëns et al. [99]. The substantial amount of cryptic diversity we uncovered suggests the potential existence of many more cryptic lineages yet to be revealed.

We were unable to verify hypothesis H1 as no effect of land use was shown on genetic diversity. Hypothesis H2 was confirmed for haplotypic diversity as it was higher in older soils. We partially validated hypothesis H3; indeed, genetic diversity was influenced by landscape variables, with higher haplotype diversity associated with a higher proportion of surrounding green areas. Additionally, a positive effect of constructed patches surrounding the site was also identified. However, there was no effect of site area on earthworm genetic diversity. Finally, hypothesis H4 has been verified, but the haplotype networks have also revealed significantly more complex genetic structures that are challenging to interpret.

We highlight a remarkably high genetic diversity within earthworms' populations in urban green areas of Montpellier, and show that this diversity can be influenced by environmental factors. This advances our understanding of environment as a driving factor of genetic diversity. Urban habitats in Montpellier

are evidently crucial for earthworms, and although we did not find significant differences among land uses, all of them seem to be valuable for maintaining earthworm diversity.

The haplotype networks revealed intriguing patterns related to population structure, introductions, and dispersal events, emphasizing the effectiveness of molecular markers in studying earthworm patterns. They provide a valuable tool for understanding earthworm species diversity in urban habitats, offering multiple benefits; 1) Facilitating earthworm species identification 2) Identifying different lineages 3) Linking variations in genetic diversity to environmental factors 4) Enhancing our comprehension of population structure, introductions, and the concurrent dispersal through the construction of haplotype networks.

In conclusion, this study contributes significantly to our knowledge of earthworm diversity in urban environments, highlighting the importance of molecular barcoding techniques and providing insights into the complex interplay between earthworm populations, urbanization, and environmental factors.

5 Appendices

Table A.1: Sampling sites description, with the different land use types: Urban farm (UF), Shared Garden (SG), Roadside strip (RS), Urban Park (UP) and roundabout (RB)

Sites codes	Land-use	Site age (years)	Site size (m^2)	Surrounding green area (%)	Surrounding green patch density	Surrounding constructed patch density	GPS
TRO	Productive	9	1492	10.65	5	1	43°40'32"N 3°53'33"E
CLP	Productive	35	2961	36.82	8	2	43°39'56"N 3°52'58"E
GRB	Productive	55	15832	13.93	4	12	43°39'11"N 3°47'20"E
MLB	Productive	19	7457	66.55	3	14	43°37'47"N 3°49'41"E
OAS	Productive	5	5955	1.72	1	22	43°36'39"N 3°55'14"E
LEH	Non-productive	27	2061	7.02	4	17	43°39'16"N 3°53'22"E
FTF	Non-productive	27	3553	32.80	14	20	43°38'46"N 3°50'37"E
CHO	Non-productive	34	6881	65.03	14	28	43°37'52"N 3°50'31"E
AZM	Non-productive	28	1088	1.21	4	41	43°36'57"N 3°49'43"E
SUP	Non-productive	34	857	7.03	7	25	43°36'59"N 3°51'27"E
JDP	Non-productive	28	1001	2.55	4	14	43°36'52"N 3°52'15"E
GUI	Non-productive	27	264	1.03	2	15	43°36'26"N 3°51'36"E
LIB	Non-productive	27	847	1.97	4	18	43°36'19"N 3°51'54"E
FLB	Non-productive	58	12561	20.28	8	11	43°35'51"N 3°49'50"E
ZLG	Non-productive	63	51560	35.28	4	7	43°34'50"N 3°48'52"E
RCN	Non-productive	34	1382	21.51	14	17	43°35'02"N 3°50'56"E
ECT	Non-productive	34	14174	4.23	7	30	43°34'25"N 3°51'16"E
ERK	Non-productive	18	991	6.07	14	5	43°37'31"N 3°55'16"E
LIR	Non-productive	27	5818	25.16	14	41	43°36'30"N 3°54'36"E
ELE	Non-productive	28	5622	10.31	7	31	43°36'29"N 3°53'42"E
BJC	Non-productive	25	3919	29.36	9	48	43°35'58"N 3°53'56"E
CPK	Non-productive	26	53854	35.59	11	61	43°36'02"N 3°54'15"E
CDM	Non-productive	57	1308	7.04	3	10	43°36'02"N 3°55'34"E

Acknowledgments

This study is part of the BISES project, which received funding from the French National Research Agency (ANR-19-CE32-0012-04 grant). DNA barcoding was supported by the University of Montpellier Barcode of Life (UM-BOL) funded by the iSite MUSE through the TakeOff 2020. Our sincere gratitude goes to the city of Montpellier (and the Montpellier Metropolis) for their generous support throughout the project and for providing valuable data. Special thanks are due to Emilie Salles, Patricia Reeb, and Laure Delbergue from Montpellier Mediterranean Metropolis, as well as Stéphanie Grosset from the "Department of Heritage and Biodiversity" of the city of Montpellier, for their assistance in site selection and obtaining access permissions. We would also like to express our appreciation to Louise Eydoux, and Quilina Lanfranchi for their invaluable help during field collection. Furthermore, our thanks extend to Laure Vidal-Baudet and Christophe Schwartz for their significant contributions to the drafting of method specifications.

6 References

[1] Groom, M.J., Meffe, G.K., & Carroll, C.R. (2006). Principles of Conservation Biology, Third Edition. Sinauer Associates.

[2] Aronson, M. F., La Sorte, F. A., Nilon, C. H., Katti, M., Goddard, M. A., Lepczyk, C. A., ... & Winter, M. (2014). A global analysis of the impacts of urbanization on bird and plant diversity reveals key anthropogenic drivers. Proceedings of the royal society B: biological sciences, 281(1780), 20133330.

[3] Angel, S., Parent, J., Civco, D. L., Blei, A., & Potere, D. (2011). The dimensions of global urban expansion: Estimates and projections for all countries, 2000–2050. Progress in Planning, 75(2), 53-107.

[4] Fragkias, M., Güneralp, B., Seto, K. C., & Goodness, J. (2013). A synthesis of global urbanization projections. Urbanization, biodiversity and ecosystem services: Challenges and opportunities: A global assessment, 409-435.

[5] United nations. (2015). Population 2030 Demographic challenges and opportunities for sustainable development planning. Economic & Social Affairs, New York

[6] Breuste, J., Niemelä, J., & Snep, R. P. H. (2008). Applying landscape ecological principles in urban environments. Landscape Ecology, 23(10), 1139-1142. https://doi.org/10.1007/s10980-008-9273-0

[7] Vidal-Beaudet, L., Schwartz, C., Auclerc, A., Barantal, S., Cortet, J., Dozières, A., ... & Vergnes, A. (2022, August). An innovative site sampling strategy to assess urban soil biodiversity. In XXXI International Horticultural Congress (IHC2022): II International Symposium on Greener Cities: Improving Ecosystem Services 1374 (pp. 213-220).

[8] Morel, J. L., Schwartz, C., Florentin, L., & de Kimpe, C. (2005). Urban soils. In D. Hillel (Ed.), Encyclopedia of Soils in the Environment (pp. 202-208). Elsevier Ltd., Academic Press, London.

[9] Clergeau, P. (2007). Une écologie du paysage urbain. Apogée, Rennes, France.

[10] Ahern, J. (2007). Green infrastructure for cities: The spatial dimension. In V. Novotny & P. Brown (Eds.), Cities of the Future: Towards Integrated Sustainable Water and Landscape Management (pp. 267-283). IWA Publishers.

[11] Pickett, S. T. A., Cadenasso, M. L., Grove, J. M., Boone, C. G., Groffman, P. M., Irwin, E., Kaushal, S. S., Marshall, V., McGrath, B. P., Nilon, C. H., Pouyat, R. V., Szlavecz, K., Troy, A., & Warren, P. (2011). Urban ecological systems: Scientific foundations and a decade of progress. Journal of Environmental Management, 92(3), 331-362. https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2010.08.022

[12] Hahs, A. K., Fournier, B., Aronson, M. F. J., Nilon, C. H., Herrera-Montes, A., & Moretti, M. (2023). Urbanisation generates multiple trait syndromes for terrestrial animal taxa worldwide. Nature Communications, 14(1), 4751.

[13] Guilland, C., Maron, P., Damas, O., & Ranjard, L. (2018). Biodiversity of urban soils for sustainable cities. Environmental Chemistry Letters, 1-16.

[14] Fusco, N., Carlen, E., & Munshi-South, J. (2021). Urban landscape genetics: Are biologists keeping up with the pace of urbanization? Current Landscape Ecology Reports, 6, 35-45.

[15] Rivkin, L. R., Santangelo, J. S., Alberti, M., Aronson, M. F., de Keyzer, C. W., Diamond, S. E., ... & Johnson, M. T. (2019). A roadmap for urban evolutionary ecology. Evolutionary applications, 12(3), 384-398.

[16] Johnson, M. T. J., & Munshi-South, J. (2017). Evolution of life in urban environments. Science, 358(6363), eaam8327. https://doi.org/10.1126/science.aam8327

[17] Burel, F., & Baudry, J. (2006). Ecologie du paysage : Concepts, méthodes et applications (6e édition). Editions Technique et Documentation, Paris.

[18] Dayanandan, S., Dole, J., Bawa, K. S., & Kesseli, R. (1999). Population structure delineated with microsatellite markers in fragmented populations of a tropical tree, *Carapa guianensis* (Meliaceae). Molecular Ecology, 8(10), 1585-1592.

[19] Gerlach, G., & Musolf, K. (2000). Fragmentation of landscape as a cause for genetic subdivision in bank voles. Conservation biology, 14(4), 1066-1074.

[20] Goossens, B., Sharma, R., Othman, N., Kun-Rodrigues, C., Sakong, R., Ancrenaz, M., ... & Chikhi, L. (2016). Habitat fragmentation and genetic diversity in natural populations of the Bornean elephant: Implications for conservation. Biological Conservation, 196, 80-92.

[21] Frankham, R., Briscoe, D. A., & Ballou, J. D. (2002). Introduction to conservation genetics. Cambridge university press.

[21] Reed, D. H., & Frankham, R. (2003). Correlation between fitness and genetic diversity. Conservation biology, 17(1), 230-237.

[22] Andren, H. (1994). Effects of habitat fragmentation on birds and mammals in landscapes with different proportions of suitable habitat: a review. Oikos, 355-366.

[24] Crooks, K. R., Suarez, A. V., Bolger, D. T., & Soulé, M. E. (2001). Extinction and colonization of birds on habitat islands. Conservation Biology, 15(1), 159-172.

[25] Templeton, A. R., Robertson, R. J., Brisson, J., & Strasburg, J. (2001). Disrupting evolutionary processes: the effect of habitat fragmentation on collared lizards in the Missouri Ozarks. Proceedings of the National Academy of Sciences, 98(10), 5426-5432.

[26] Miles, L. S., Rivkin, L. R., Johnson, M. T., Munshi-South, J., & Verrelli, B. C. (2019). Gene flow and genetic drift in urban environments. Molecular ecology, 28(18), 4138-4151.

[27] Hornung, E., Kásler, A., & Tóth, Z. (2018). The role of urban forest patches in maintaining isopod diversity (Oniscidea). ZooKeys, (801), 371.

[28] Xu, T., Zhou, K., Ye, W., Huang, Y., Zhang, Y., Zhu, S., Ruan, H., & Liu, H. (2023). Genetic diversity and gene flow of the soil arthropod (*Scolopendra mutilans*) in urban landscapes: The roles of rivers, mountains and fragmentation. Insect Conservation and Diversity, icad.12677. https://doi.org/10.1111/icad.12677

[29] Porres, M. D., Rionda, M., Madrid, E., Bedano, J. C., Momo, F., & Iriarte, P. F. (2018). Genetic variability in populations of the terrestrial isopod Armadillidium vulgare living in soils with different land uses. Pedobiologia, 71, 1-7.

[30] Kautenburger, R. (2006). Impact of different agricultural practices on genetic structure of *Lumbricus terrestris*, *Arion lusitanicus* and *Microtus arvalis*. Animal Biodiversity and Conservation, 29(1), 19-32.

[31] Rutkowski, R., Kosewska, A., Ceryngier, P., Szczepański, S., Wawer, W., Twardowska, K., & Twardowski, J. (2017). Genetic Diversity of an Invasive Invertebrate in an Urban Environment, as Exemplified by the Harlequin Ladybird *Harmonia Axyridis* (Pallas, 1773). Annales Zoologici, 67(4), 759-772. https://doi.org/10.3161/00034541ANZ2017.67.4.011

[32] Patenković, A., Tanasković, M., Erić, P., Erić, K., Mihajlović, M., Stanisavljević, L., & Davidović, S. (2022). Urban ecosystem drives genetic diversity in feral honey bee. Scientific Reports, 12(1), 17692. https://doi.org/10.1038/s41598-022-21413-y

[33] Lavelle, P., & Spain, A. (2001). Soil Ecology, Chapter 3: Soil Organisms. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, Netherlands. https://doi.org/10.1007/0-306-48162-6.

[34] Edwards, C. A., & Bohlen, P. J. (1996). Biology and ecology of earthworms (Vol. 3). Springer Science & Business Media.

[35] Fernández, R., Novo, M., Marchán, D. F., & Díaz Cosín, D. J. (2016). Diversification patterns in cosmopolitan earthworms: Similar mode but different tempo. Molecular Phylogenetics and Evolution, 94, 701-708. https://doi.org/10.1016/j.ympev.2015.07.017

[36] Marchán, D. F., Hedde, M., Lapied, E., Maggia, M.-E., Novo, M., Domínguez, J., & Decaëns, T. (2020). Contrasting phylogeographic patterns of earthworms (Crassiclitellata, Lumbricidae) on near-shore mediterranean islands. European Journal of Soil Biology, 101, 103242. https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2020.103242

[37] de Sosa, I., Marchán, D. F., Novo, M., Almodóvar, A., & Díaz Cosín, D. J. (2022). Phylogeography of a riparian earthworm shows environmental factors influence genetic structure. Journal of Biogeography, jbi.14518. https://doi.org/10.1111/jbi.14518

[38] Fernández, R., Almodóvar, A., Novo, M., Gutiérrez, M., & Cosín, D. J. D. (2013). Earthworms, good indicators for palaeogeographical studies? Testing the genetic structure and demographic history in the peregrine earthworm *Aporrectodea trapezoides* (Dugès, 1828) in southern Europe. Soil Biology and Biochemistry, 58, 127-135.

[39] King, R. A., Tibble, A. L., & Symondson, W. O. C. (2008). Opening a can of worms: Unprecedented sympatric cryptic diversity within British lumbricid earthworms. Molecular Ecology, 17(21), 4684-4698. https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2008.03931.x

[40] Dupont, L., Lazrek, F., Porco, D., King, R.A., Rougerie, R., Symondson, W.O.C., Livet, A., Decaens, T., Butt, K.R., & Mathieu, J. (2011). New insights into the genetic structure of the *Allolobophora chlorotica* aggregate in Europe using microsatellite and mitochondrial data. Pedobiologia, 54, 217–224.

[41] Emmerling, C., & Strunk, H. (2012). Active dispersal of the endo-anecic earthworm Aporrectodea longa (Ude) in an experimental box. Soil org, 84(3), 491-498.

[42] Omodeo, P., & Rota, E. (2008). Earthworm diversity and land evolution in three Mediterranean districts. Proceedings of the California Academy of Sciences, 59(supplement 1), 65-83.

[43] Eijsackers, H. (2011). Earthworms as colonizers of natural and cultivated soil environments. Applied Soil Ecology, 50, 1-13.

[44] Costa, D., Timmermans, M. J., Sousa, J. P., Ribeiro, R., Roelofs, D., & Van Straalen, N. M. (2013). Genetic structure of soil invertebrate populations: Collembolans, earthworms and isopods. Applied Soil Ecology, 68, 61-66.

[45] Dupont, L., Grésille, Y., Richard, B., Decaëns, T., & Mathieu, J. (2015). Dispersal constraints and fine-scale spatial genetic structure in two earthworm species. Biological Journal of the Linnean Society, 114(2), 335-347.

[46] Cameron, E. K., Bayne, E. M., & Coltman, D. W. (2008). Genetic structure of invasive earthworms *Dendrobaena octaedra* in the boreal forest of Alberta: Insights into introduction mechanisms. Molecular Ecology, 17(5), 1189-1197. https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2007.03603.x

[47] Blakemore, R. J. (2009). Cosmopolitan earthworms – a global and historical perspective. In D. H. Shain (Ed.), Annelids as Model Systems in the Biological Sciences (Chapter 14, pp. 257-283). John Wiley & Sons, Inc.

[48] Klein, A., Cameron, E. K., Heimburger, B., Eisenhauer, N., Scheu, S., & Schaefer, I. (2017). Changes in the genetic structure of an invasive earthworm species (Lumbricus terrestris, Lumbricidae) along an urban – rural gradient in North America. Applied Soil Ecology, 120, 265-272. https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2017.08.009

[49] Dupont, L., Pauwels, M., Dume, C., Deschins, V., Audusseau, H., Gigon, A., Dubs, F., & Vandenbulcke, F. (2019). Genetic variation of the epigeic earthworm *Lumbricus castaneus* populations in urban soils of the Paris region (France) revealed using eight newly developed microsatellite markers. Applied Soil Ecology, 135, 33-37. https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2018.11.004

[50] Tóth, Z., Szlavecz, K., Epp Schmidt, D. J., Hornung, E., Setälä, H., Yesilonis, I. D., Kotze, D. J., Dombos, M., Pouyat, R., Mishra, S., Cilliers, S., Yarwood, S., & Csuzdi, C. (2020). Earthworm assemblages in urban habitats across biogeographical regions. Applied Soil Ecology, 151, 103530. https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2020.103530

[51] Bouché, M. B. (1977). Strategies lombriciennes. Ecological Bulletins, 122-132.

[52] Cuttelod, A., García, N., Malak, D. A., Temple, H. J., & Katariya, V. (2009). The Mediterranean: a biodiversity hotspot under threat. Wildlife in a Changing World–an analysis of the 2008 IUCN Red List of Threatened Species, 89(2019), 9.

[53] Le Coent, P. et al. (2023). Can NBS Address the Challenges of an Urbanized Mediterranean Catchment? The Lez Case Study. In: López-Gunn, E., van der Keur, P., Van Cauwenbergh, N., Le Coent, P., Giordano, R. (eds) Greening Water Risks. Water Security in a New World. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-031-25308-9_14

[54] Dupont, L., Torres-Leguizamon, M., René-Corail, P., & Mathieu, J. (2017). Landscape features impact connectivity between soil populations: a comparative study of gene flow in earthworms. Molecular Ecology, 26(12), 3128-3140.

[55] Climate-data.org, 2021. « Montpellier Climat (France) ». Accessed June 4, 2021. [Online]. https://fr.climate-data.org/europe/france/languedoc-roussillon/montpellier-1126/

[56] Callaham Jr, M. A., & Hendrix, P. F. (1997). Relative abundance and seasonal activity of earthworms (Lumbricidae and Megascolecidae) as determined by hand-sorting and formalin extraction in forest soils on the southern Appalachian Piedmont. Soil Biology and Biochemistry, 29(3-4), 317-321.

[57] Phillipson, J. (Ed.). (1971). Methods of Study in Quantitative Soil Ecology. Oxford: Blackwell.

[58] Bouché M.B., (1972) Lombriciens de France. Ecologie et systematique, INRA, Ann. Zool. Anim. Publication, Paris, 671 pp

[59] Brown, G. G., James, S. W., Csuzdi, C., Lapied, E., Decaëns, T., Reynolds, J. W., Misirlioğlu, M., Stovanić, M., Trakić, T., Sekulić, J., Phillips, H. R. P., & Cameron, E. (2023). A checklist of megadrile earthworm (Annelida: Clitellata) species and subspecies of the world [Data set]. In Zootaxa (v.1). Zenodo. https://doi.org/10.5281/zenodo.7301848

[60] Hernández-Triana, L. M., Prosser, S. W., Rodríguez-Perez, M. A., Chaverri, L. G., Hebert, P. D. N., & Gregory, T. R. (2014). Recovery of DNA barcodes from blackfly museum specimens (Diptera: Simuliidae) using primer sets that target a variety of sequence lengths. Molecular Ecology Resources, 14, 508-518. https://doi-org.inee.bib.cnrs.fr/10.1111/1755-0998.12208

[61] QGIS Development Team. (2014). « QGIS Geographic Information System 2.2.0. ».

[62] Fahrig, L. (2003). Effects of habitat fragmentation on biodiversity. Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics, 34(1), 487–515. https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.34.011802.132419

[63] Ratnasingham, S., & Hebert, P. D. N. (2007). Bold: The Barcode of Life Data System. Molecular Ecology Notes, 7, 355–364.

[64] Puillandre, N., Brouillet, S., & Achaz, G. (2021). ASAP: Assemble species by automatic partitioning. Molecular Ecology Resources, 21(2), 609-620. https://doi.org/10.1111/1755-0998.13281

[65] Goulpeau A., Penel B., Maggia M.-E., Marchán D.F., Steinke D., Hedde M., Decaëns T. (2022) OTU delimitation with earthworm DNA barcodes: a comparison of methods. Diversity 14(10), 866.

[66] Fox, J., & Weisberg, S. (2019). An R Companion to Applied Regression, Third edition. Sage, Thousand Oaks CA. URL https://socialsciences.mcmaster.ca/jfox/Books/Companion/

[67] R Core Team (2022). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL https://www.R-project.org/.

[68] Porco, D., Decaëns, T., Deharveng, L., James, S. W., Skarżyński, D., Erséus, C., ... & Hebert, P. D. (2013). Biological invasions in soil: DNA barcoding as a monitoring tool in a multiple taxa survey targeting European earthworms and springtails in North America. Biological Invasions, 15, 899-910.

[69] Porco D., Chang C.-H., Dupont L., James S.W., Richard B., Decaëns T. (2018) A reference library of DNA barcodes for the earthworms from Upper Normandy: biodiversity assessment, new records, potential cases of cryptic diversity and ongoing speciation. Applied Soil Ecology, 124, 362-371.

[70] Marchán, D. F., Fernández, R., de Sosa, I., Sánchez, N., Cosín, D. J. D., & Novo, M. (2018). Integrative systematic revision of a Mediterranean earthworm family : Hormogastridae (Annelida, Oligochaeta). Invertebrate Systematics, 32(3), 652. https://doi.org/10.1071/IS17048

[71] Marchán, D. F., Fernandez, R., de Sosa, I., Cosin, D. J. D., & Novo, M. (2017). Pinpointing cryptic borders: Fine-scale phylogeography and genetic landscape analysis of the *Hormogaster elisae* complex (Oligochaeta, Hormogastridae). Molecular Phylogenetics and Evolution, 112, 185-193.

[72] Sobel, J. M., Chen, G. F., Watt, L. R., & Schemske, D. W. (2010). The biology of speciation. Evolution, 64(2), 295-315.

[73] Mayr, E. (1942). Systematics and the Origin of Species. New York, NY: Columbia University Press.

[74] Schluter, D. (2001). Ecology and the Origin of Species. Trends in Ecology & Evolution, 16, 372–380. doi:10.1016/s0169-5347(01)02198-x.

[75] Ingvarsson, P. K. (2001). Restoration of genetic variation lost–the genetic rescue hypothesis. Trends in Ecology & Evolution, 16(2), 62-63.

[76] Spellerberg, I.F. Gaywood, M.J. 1993 Linear features: linear habitats and wildlife corridors, English Nature Research Report No. 60, 30 pp. English Nature, Peterborough

[77] Kolbe, J. J., Glor, R. E., Rodríguez Schettino, L., Lara, A. C., Larson, A., & Losos, J. B. (2004). Genetic variation increases during biological invasion by a Cuban lizard. Nature, 431(7005), 177-181.

[78] Hitchings, S. P., & Beebee, T. J. C. (1998). Loss of genetic diversity and fitness in common toad (*Bufo bufo*) populations isolated by inimical habitat. Journal of Evolutionary Biology, 11(3), 269-283.

[79] Somers, C. M., McCarry, B. E., Malek, F., & Quinn, J. S. (2004). Reduction of particulate air pollution lowers the risk of heritable mutations in mice. Science, 304(5673), 1008-1010.

[80] Yauk, C. L., Fox, G. A., McCarry, B. E., & Quinn, J. S. (2000). Induced minisatellite germline mutations in herring gulls (Larus argentatus) living near steel mills. Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis, 452(2), 211-218.

[81] Marinissen, J. C. Y., & Van den Bosch, F. (1992). Colonization of new habitats by earthworms. Oecologia, 91, 371-376.

[82] Sakai, A. K., Allendorf, F. W., Holt, J. S., Lodge, D. M., Molofsky, J., With, K. A., ... & Weller, S. G. (2001). The population biology of invasive species. Annual review of ecology and systematics, 32(1), 305-332.

[83] Insee. (2023). Evolution de la population en Occitanie. Insee Analyses Occitanie, n° 129

[84] Heimburger, B., Klein, A., Roth, A., Scheu, S., Eisenhauer, N., & Schaefer, I. (2023). Population structure and genetic variance among local populations of a non-native earthworm species in Minnesota, USA. Biological Invasions, 1-15.

[85] Wilke, T., & Pfenninger, M. (2002). Separating historic events from recurrent processes in cryptic species: phylogeography of mud snails (Hydrobia spp.). Molecular Ecology, 11(8), 1439-1451.

[86] Challis, R. J., Mutun, S., NIEVES-ALDREY, J. L., Preuss, S., Rokas, A., Aebi, A., ... & Stone, G. N. (2007). Longitudinal range expansion and cryptic eastern species in the western Palaearctic oak gallwasp, Andricus coriarius. Molecular Ecology, 16(10), 2103-2114.

[87] Zhang, D. Y., Lin, K., & Hanski, I. (2004). Coexistence of cryptic species. Ecology letters, 7(3), 165-169.

[88] Spurgeon, D. J., Liebeke, M., Anderson, C., Kille, P., Lawlor, A., Bundy, J. G., & Lahive, E. (2016). Ecological drivers influence the distributions of two cryptic lineages in an earthworm morphospecies. Applied Soil Ecology, 108, 8-15.

[89] Bohonak, A. J., & Roderick, G. K. (2001). Dispersal of invertebrates among temporary ponds: are genetic estimates accurate?. Israel Journal of Zoology, 47(4), 367-386.

[90] Allendorf, F.W., & Lundquist, L.L. (2003). Introduction: Population biology, evolution, and control of invasive species. Conservation Biology, 17, 24-30.

[91] Liungström, P.-O., Orellana, J. A. de, & Priano, L. J. J. (1973). Influence of some edaphic factors on earthworm distribution in Santa Fe Province, Argentina. Pedobiologia, 13, 236-247.

[92] Fernández, R., Almodóvar, A., Novo, M., Gutiérrez, M., & Cosín, D. J. D. (2011). A vagrant clone in a peregrine species: phylogeography, high clonal diversity and geographical distribution in the earthworm Aporrectodea trapezoides (Dugès, 1828). Soil Biology and Biochemistry, 43(10), 2085-2093.

[93] Shekhovtsov, S. V., Derzhinsky, Y. A., Poluboyarova, T. V., Golovanova, E. V., & Peltek, S. E. (2020). Phylogeography and genetic lineages of Aporrectodea rosea (Lumbricidae, Annelida). European Journal of Soil Biology, 99, 103191.

[94] Marchán, D. F., Csuzdi, C., Decaëns, T., Szederjesi, T., Pizl, V., & Domínguez, J. (2021). The disjunct distribution of relict earthworm genera clarifies the early historical biogeography of the Lumbricidae (Crassiclitellata, Annelida). Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research, 59(8), 1703-1717. https://doi.org/10.1111/jzs.12514

[95] Frankham, R. (2003). Genetics and conservation biology. Comptes Rendus Biologies, 326, 22-29.

[96] Terhivuo, J., & Saura, A. (1997). Island biogeography of North European parthenogenetic Lumbricidae: I. Clone pool affinities and morphometric differentiation of Åland populations. Ecography, 20(2), 185-196.

[97] Marchán, D. F., Navarro, A. M., Pinadero, S. J., Gerard, S., Hedde, M., Domínguez, J., ... & Novo, M. (2023). Understanding the diversification and functional radiation of Aporrectodea (Crassiclitellata, Lumbricidae) through molecular phylogenetics of its endemic species. European Journal of Soil Biology, 119, 103559.

[98] Bouché, M. B. (1969). La biogéographie des lumbricidés de France, son intérêt et ses ambiguités. Cas d'Allolobophora cupulifera Tétry, A. icterica (Sav.), de Lumbricus friendi Cognetti et de Lumbricus herculeus (Sav.). Pedobiologia, 9(1), 87-92.

[99] Decaëns T., Porco D., Rougerie R., Brown G.G., James S.W. (2013) Potential of DNA barcoding for earthworm research in taxonomy and ecology. Applied Soil Ecology, 65, 35-42.

Discussion générale

L’urbanisation par la mise en place des villes, représente une série de filtres écologiques très forts qui vont influencer la biodiversité à différentes échelles. En effet, l’environnement urbain est soumis à de multiples pressions dues aux activités humaines, tant au niveau local, au sein des différents espaces verts urbains présentant divers usages, des altérations des propriétés physico-chimiques du sol et du piétinement, qu'au niveau du paysage, avec la fragmentation des habitats entraînant une réduction de leur taille et leur isolement à travers la ville.

Les espaces verts, variés et hétérogènes en termes de conditions environnementales, subissent différentes pressions en fonction de leur usage et du paysage environnant, modifiant ainsi leur capacité à accueillir et à maintenir des populations biologiques. Les organismes présents dans les habitats urbains de Montpellier sont le produit d'une sélection importante à travers plusieurs filtres écologiques et résultent également de la dynamique propre à la ville. Bien que l'on puisse observer un certain niveau de biodiversité en milieu urbain (McKinney 2008, Shwartz et al. 2014), cet environnement tend à homogénéiser les populations (McKinney 2006). En effet, par rapport au pool global d'espèces, il y a une diminution des espèces spécialistes et indigènes au profit d'espèces généralistes et cosmopolites (Hahs, 2023). L'étude de la réponse de la biodiversité en milieu urbain revêt une importance cruciale dans le contexte actuel de croissance démographique rapide et d'urbanisation généralisée.

Bénéficiant d'un contexte combinant urbanisation croissante et enjeux liés à la protection de la biodiversité dans la métropole de Montpellier, cette étude visait à identifier les facteurs environnementaux influant sur les communautés de vers de terre et de fourmis au sein de différents espaces verts urbains méditerranéens. Adoptant une approche multi-échelles et multi-taxons, cette étude a permis d'isoler des facteurs environnementaux ayant des effets sur les vers de terre et les fourmis à diverses échelles, du local au paysager, ainsi que du gène à la communauté.

Les axes 1 et 2 ont révélé des facteurs locaux et paysagers influençant les communautés de vers de terre et les fourmis dans divers types d’espaces verts de la métropole de Montpellier, allant de forêts urbaines en axe 1 à une diversité d’habitats ouverts dans l’axe 2. L'axe 3 a permis d'affiner l'analyse de la distribution des vers de terre à Montpellier au sein d'un sous-ensemble d'espaces verts sélectionnés dans l'axe 2, en utilisant une approche génétique. Cette approche a permis de mettre en évidence des résultats inédits en contexte urbain.

1 Intérêt de l’approche multi-échelles et multi-taxons

L’analyse d’un seul taxon rend difficile la quantification de l’importance des facteurs agissant à différentes échelles spatiales, même si ce taxon est très diversifié (Schweiger et al., 2005). Pour

surmonter cette difficulté, certains auteurs ont proposé d'analyser plusieurs taxons aux capacités de dispersions variables (Croci et al., 2008 ; Barbaro & Van Halder, 2009), un paramètre important à prendre en compte lors de la considération du maintien des populations animales dans des paysages fragmentés (Ericson et al., 1988 ; Verboom & Van Apeldoorn, 1990). L'immigration et la recolonisation dans les espaces verts sont liées aux caractéristiques du paysage qui influent sur la capacité des espèces à se disperser à travers ce paysage. Le maintien des populations est lié aux facteurs environnementaux et à la disponibilité en ressources qui influent sur la survie et la reproduction d'une espèce à une échelle locale. Dans cette étude, nous avons sélectionné deux taxons couramment utilisés comme indicateurs écologiques, mais qui réagissent différemment aux variables environnementales mesurées en raison de caractéristiques variées et contrastées, les capacités de dispersion et le régime alimentaire. En effet, grâce aux différents axes de recherches développés dans cette étude nous avons observé que les vers de terre et les fourmis présentaient des réponses contrastées face aux variables environnementales, et que leurs réponses étaient différentes en fonction de l'échelle considérée. Nos résultats soulignent l'importance d'utiliser des approches multi-taxons et multi-échelles pour comprendre la relation entre la biodiversité et les environnements urbains, les différences entre les taxons étudiés montrant leur potentiel en tant que bioindicateurs complémentaires dans des études en milieu urbain.

2 Identification des facteurs paysagers exerçant une influence sur les fourmis et les vers de terre

Le paysage urbain affecte directement les déplacements et la dispersion des organismes, qui sont des mécanismes fondamentaux dans le fonctionnement des individus jusqu'à celui des communautés (Clobert et al., 2001 ; Cadotte, 2006). La dispersion active joue un rôle essentiel dans la structuration des communautés, où le paysage urbain filtre les espèces dotées de fortes capacités de dispersion qui pourront ainsi coloniser les différents habitats disponibles malgré la fragmentation du paysage. En revanche, les organismes possédant des capacités de dispersion limitées seront négativement affectés entraînant une forte réduction de leur diversité (Miles et al., 2019). Dans cette étude, aucune influence significative des variables du paysage n'a été observée sur la richesse, les occurrences, et la composition des communautés de fourmis. Cela suggère que les fourmis sont peu sensibles à la fragmentation des habitats, probablement grâce à des capacités de dispersion active importantes chez les espèces présentes dans les sols des espaces verts. En effet, chez la plupart des espèces, les femelles et les mâles reproducteurs possèdent des ailes et sont capables de coloniser sur de longues distances lors des vols nuptiaux (Hakala et al., 2019).

En ce qui concerne les vers de terre, la surface des espaces urbanisés entourant les espaces verts a été identifiée comme un facteur affectant négativement la richesse spécifique des vers de terre. Ce résultat confirme l'effet du paysage proche environnant sur les communautés de vers de terre en milieu urbain également mis en évidence dans de précédentes études (Vergnes et al., 2017 ; Xie et al., 2018 ; Maréchal et al., 2021). Cependant, notre étude est la première qui montre un effet du paysage sur la richesse spécifique en particulier dans ces types d'espaces verts. En ce qui concerne la diversité génétique des vers de terre, la densité d'espaces verts autour des sites a eu un impact positif sur la diversité des haplotypes, tandis que la densité d'espaces urbanisés autour du site a eu un effet positif sur la diversité nucléotidique. Les résultats obtenus sur l'effet du paysage sur la diversité génétique des vers de terre en milieu urbain sont inédits et montrent que les vers de terre peuvent être impactés non seulement au niveau taxonomique mais également au niveau génétique par les variables paysagères. Ces résultats ont permis de confirmer notre hypothèse selon laquelle les vers de terre sont plus sensibles aux filtres paysagers que les fourmis, en raison de leurs capacités de dispersion active limitées (Hale et al., 2006).

3 Identification des facteurs locaux exerçant une influence sur les fourmis et les vers de terre

La théorie de la niche écologique (Hutchinson, 1957) postule que chaque espèce occupe un créneau écologique spécifique dans son environnement, déterminé par des facteurs tels que la disponibilité des ressources, la compétition avec d'autres espèces, et les conditions environnementales. Dans un contexte local, les caractéristiques particulières d'un espace vert, telles que la qualité du sol, l'humidité, l'exposition au soleil et la présence d'autres organismes, influent sur la façon dont les espèces s'y établissent. Même si les vers de terre et les fourmis partagent le même environnement et sont intimement liés au sol, leurs préférences écologiques peuvent être distinctes. En effet, les vers de terre et les fourmis ont montré des différences de réponses face aux facteurs locaux. Dans les espaces verts ouverts, il a été constaté que la richesse spécifique des vers de terre était positivement influencée par l'âge du sol et la concentration en phosphore, mais négativement par la concentration en zinc du sol. Au niveau génétique des populations de vers de terre, un effet positif de l'âge du sol a été montré sur la diversité haplotypique. Une convergence des réponses au niveau taxonomique et génétique a donc été observée en fonction de l'âge du sol, avec les sols les plus anciens abritant à la fois un plus grand nombre d'espèces de vers de terre et une diversité génétique plus importante au sein des populations de ces sols. Dans les espaces verts ouverts, les fourmis ne présentaient aucune réponse significative aux variables environnementales mesurées. En revanche, dans les forêts urbaines, les occurrences des fourmis étaient influencées par le pourcentage d'ouverture de la canopée et la texture

du sol. Cette disparité de réponses entre les deux types d'espaces verts peut s'expliquer par une sensibilité plus élevée des espèces présentes dans les forêts urbaines aux variations des conditions environnementales, contrairement aux fourmis évoluant dans des espaces verts ouverts.

4 Une diversité d'espace verts, mais des communautés homogènes

L'homogénéisation biotique, souvent associée à la perte de biodiversité, est un phénomène écologique résultant de la similarité croissante entre les communautés biotiques d'habitats distincts (McKinney & Lockwood 1999 ; Olden & Rooney 2006). Ce processus est fréquemment observé dans les environnements urbains, où des facteurs tels que l'urbanisation, les perturbations anthropiques et la fragmentation des habitats contribuent à la simplification des assemblages d'espèces (McKinney 2006). En conséquence, des espèces généralistes et cosmopolites ont tendance à proliférer au détriment d'espèces spécialisées et endémiques, entraînant une réduction de la diversité biologique à l'échelle locale (Hahs, 2023). Dans cette étude, malgré l'échantillonnage d'un grand nombre d'espaces verts avec des usages du sol très contrastés, peu ou pas d'effet des différents usages ont été observés sur les communautés de vers de terre et de fourmis, ainsi que sur la diversité génétique des vers de terre.

Au sein des forêts urbaines sélectionnées, les communautés de fourmis étaient homogènes malgré les différences de paysages autour des sites et les variations des variables environnementales, telles que l'espèce d'arbre dominante. Cette homogénéisation biotique a également été observée lors de la comparaison des communautés des différents espaces verts ouverts de la métropole de Montpellier, avec des communautés de vers de terre et de fourmis majoritairement composées d'espèces généralistes et cosmopolites, et seulement quelques espèces indigènes et endémiques en marge. L'usage du sol n'a pas non plus eu d'effet sur la diversité génétique des vers de terre. Le fait qu'il ait été observé peu de différences entre les communautés des différents sites peut s'expliquer par une homogénéisation biotique importante qui s'effectue à l'échelle de la métropole de Montpellier. Dans l'axe 1 nous n'avons pas pu travailler sur un gradient d'urbanisation complet, car les forêts urbaines en centre-ville ne répondaient pas à nos critères de sélection. En effet les forêts urbaines du centre-ville sont plus rares, plus petites et plus diversifiés en espèces d'arbres en raison de la plantation d'espèces ornementales et exotiques dans les parcs (Zipperer et al., 1997). Pour réussir à travailler sur le gradient complet il faudrait élargir nos critères afin de sélectionner des forêts urbaines de plus petite taille et avec des essences d'arbres en mélange. Ainsi en travaillant sur un gradient complet nous pourrions peut-être observer des différences entre les communautés des sites fortement urbanisés et des sites peu urbanisés.

Cependant, la comparaison des communautés de fourmis entre les espaces ouverts et fermés révèle des différences dans la richesse et la composition des espèces. Alors que la richesse spécifique moyenne par site était similaire entre les forêts urbaines (5 ± 2 espèces) et les espaces verts ouverts (6,25 ± 0,39 espèces), le nombre total d'espèces de fourmis échantillonnées était plus élevé dans les espaces verts ouverts avec une richesse raréfiée de 18 espèces, que dans les espaces verts fermés avec une richesse raréfiée de 15 espèces. De plus, les espèces dominantes en termes d'occurrence dans les différents sites diffèrent entre les deux types d'habitats, avec *A. ichnusa*, *C. scuttelaris*, *T. lichtensteini* et *F. gagates* qui sont dominantes dans les forêts urbaines, tandis que *P. pallidula*, *Solenopsis sp*. et *M. barbarus* dominent dans les espaces verts ouverts. Les différences observées peuvent s'expliquer par les conditions climatiques qui peuvent être très différentes entre ces deux types d'environnements. Les forêts urbaines, avec leur couverture végétale plus dense, sont susceptibles de présenter une gamme thermique plus restreinte, car l'ombre produite par la canopée des arbres atténue la variabilité de la température dans le sous-bois (Sánchez-García et al., 2022). Cela pourrait conduire à une réduction de la richesse spécifique par rapport aux habitats plus ouverts, où une variété plus large de niches thermiques peut soutenir plus d'espèces actives à des moments distincts de la journée (Sánchez-García et al., 2022). La composition des espèces entre ces deux types d'espaces urbains diffère également, avec une présence accrue d'espèces non-indigènes dans les espaces verts ouverts. Cette observation peut s'expliquer par le fait que, généralement, les forêts abritent davantage d'espèces indigènes comparativement à d'autres types d'infrastructures urbaines (Croci et al., 2008 ; Ordenana et al., 2010 ; Robinson & Lundholm, 2012). Une gestion du sol et des perturbations moins prononcées que dans les espaces verts ouverts ont probablement favorisé une plus grande résistance des forêts urbaines face à l'invasion d'espèces exotiques (Bacaro et al., 2015 ; Kowarik et al., 2016).

Pour les vers de terre échantillonnés en février 2021, seuls quelques individus ont été trouvés (une dizaine) dans l'ensemble des forêts urbaines, tandis que les espaces verts ouverts présentaient des densités d'espèces et d'individus beaucoup plus élevées avec une richesse spécifique moyenne par site de 3,25 ± 0,26 espèces.m^{-2}, et une abondance moyenne de 379,25 ± 51,1 individus.m^{-2}. Cette disparité pourrait s'expliquer par le fait que la litière de chêne vert et de pin d'Alep ne constitue peut-être pas une source de nourriture optimale pour le développement et le maintien des populations de vers de terre dans les forêts urbaines sélectionnées. Les espèces d'arbres peuvent en effet influencer directement et indirectement les communautés de vers de terre. Directement, en influençant leur alimentation, et indirectement, en modifiant les caractéristiques du sol telles que le pH, la disponibilité des nutriments, le contenu en matière organique et en humidité, ainsi que la disponibilité de l'habitat. La nature et la qualité de la matière organique du sol sont en grande partie déterminées par la litière provenant de la végétation (Berg & McClaugherty, 2008), et les espèces d'arbres dont la litière est

récalcitrante, riche en composés structuraux comme la lignine et la cellulose, sont généralement associées de manière négative à l'abondance et à la diversité des vers de terre. Ces espèces ralentissent la décomposition de la litière et acidifient par la suite le sol forestier (De Schrijver et al., 2012 ; Schelfhout et al., 2017).

5 Apports de la phylogéographie et mécanismes sous-jacents à la distribution des populations de vers de terre

Les analyses phylogéographiques, qui combinent les relations entre gène, généalogie, phylogénétique et géographie (Avise, 2000), permettent d'améliorer la compréhension des mécanismes écologiques des milieux urbains. Elles permettent d'examiner la répartition des lignées génétiques intra et interspécifiques dans un contexte géographique défini (Avise, 2000), et de reconstruire l'histoire des populations au sein de ces environnements transformés par l'urbanisation. Les vers de terre sont des organismes intéressants pour ce genre d'étude car leur dispersion active est faible et leurs populations peuvent évoluer longtemps au même endroit. Dans le cadre de cette thèse, l'analyse phylogéographique de la génétique des populations nous a permis d'aller plus loin dans la compréhension et l'interprétation des résultats qui ont été obtenus dans l'axe 2 au niveau des filtres locaux et paysagers et également d'observer des résultats novateurs sur la phylogéographie des vers de terre en ville.

On aurait pu penser que la fragmentation et l'isolement des habitats auraient eu un impact négatif sur la diversité génétique des différentes populations (Frankham et al., 2002 ; Reed & Frankham, 2003). Cependant, pour la majorité des espèces, c'est plutôt le contraire qui a été observé. En effet, la diversité haplotypique et nucléotidique était élevée pour la plupart des espèces, et un nombre surprenant de lignées cryptiques a été révélé, ce qui est particulièrement novateur dans un contexte urbain à l'échelle d'une seule ville. Par exemple, le nombre de lignées cryptiques pour *All. chlorotica* et *Ap. rosea* dans cette étude était comparable à celui observé en milieu naturel à l'échelle de l'ensemble du Royaume-Uni (voir King et al., 2008). De plus, des lignées cryptiques ont même été mises en évidence pour la première fois tous contextes confondus pour *V. teres*, qui est une espèce endémique de la zone d'étude.

Nous avons observé au sein des deux premiers axes d'étude qu'il y avait peu de réponses des communautés en fonction des différents usages du sol urbain, et ce malgré leur grande variabilité. Les communautés de vers de terre et de fourmis étaient composées majoritairement d'espèces cosmopolites avec en marge quelques espèces natives dont certaines endémiques de la région. Pour expliquer le manque de réponse des vers de terre face aux différents usages du sol, nous pouvons

dégager deux hypothèses. Premièrement, la dispersion passive : pour de nombreuses espèces de vers de terre et en particulier les espèces cosmopolites, on observe des individus de part et d'autre de la ville et qui possèdent les mêmes haplotypes, ils sont donc issus de la même population mais se retrouvent séparés de parfois plusieurs kilomètres. Les vers de terre ayant une capacité de dispersion active très limitée, c'est certainement grâce à la dispersion passive par l'homme que l'on observe ces distributions. D'après l'interprétation des réseaux d'haplotypes, la dispersion par l'homme à Montpellier est massive, les populations se retrouvent mélangées lors des transports et échanges d'individus entre les différents sites, ce qui pourrait masquer l'effet des usages et conduire à une homogénéisation des communautés entre les différents usages. Deuxièmement, pour les vers de terre indigènes et endémiques la distribution que nous observons aujourd'hui serait le résultat d'une longue évolution des populations sur le territoire de Montpellier. Le fait que les populations ne soient pas influencées par les usages du sol actuels pourrait s'expliquer par la présence de ces populations bien avant le développement de la ville ; leur distribution actuelle serait alors le reflet de l'évolution de leur réponse aux usages passés du sol, avant même la construction de la ville, jusqu'à aujourd'hui. Pour conclure, bien que nous n'ayons pas trouvé de différences significatives de diversité génétique entre les différents usages du sol, chacun d'entre eux semble représenter des habitats intéressants pour maintenir la diversité des vers de terre.

Les réseaux d'haplotypes de l'axe 3 ont permis de mettre en évidence des patterns complexes liés à la structure des populations, aux introductions et aux événements de dispersion, mettant en évidence l'efficacité des marqueurs moléculaires dans l'étude des vers de terre (Decaëns et al., 2013). Ils fournissent un outil précieux pour comprendre la diversité des espèces de vers de terre dans les habitats urbains, offrant de multiples avantages : 1) faciliter l'identification des espèces de vers de terre, 2) identifier différentes lignées, 3) établir des liens entre les variations de la diversité génétique et les facteurs environnementaux, et 4) améliorer notre compréhension de la structure de la population, des introductions d'espèces et de la dispersion active ou passive grâce à la construction de réseaux d'haplotypes.

6 Limites et perspectives

Malgré le grand nombre de paramètres mesurés au niveau local pour les axes 1 et 2, il manquait des données sur des paramètres importants qui auraient pu avoir un effet sur les communautés de fourmis et de vers de terre, telles que les pratiques de gestion des sites, la composition en espèce végétale du site, ou encore l'humidité du sol qui peuvent jouer un rôle important dans la distribution des vers de terre et des fourmis. Toujours pour les axes 1 et 2, des hypothèses ont été émises sur les capacités de dispersions des fourmis qui les rendraient moins vulnérables au filtre paysager. Pour vérifier cette

hypothèse, il serait intéressant d'évaluer les capacités de dispersion de ces espèces en réalisant des estimations sur les distances qu'elles peuvent parcourir lors des essaimages, par exemple en créant des "moulins de vol" en laboratoire sous des conditions contrôlées telles que la température, l'humidité et l'éclairage, ce qui permettrait de mesurer la durée de vol et la distance parcourue durant cette période pour chaque espèce (Vogt et al., 2000 ; Taylor et al., 2010 ; Solbreck, 2012). Cette méthode impliquerait d'attacher une reine ailée de fourmis à l'extrémité d'un bras en aluminium ou en plastique léger (paille en plastique) avec un rayon de taille défini. Le nombre de tours effectués par la fourmi serait ensuite comptabilisé sur une période définie, ce qui permettrait d'estimer la distance qu'elle pourrait parcourir lors d'un essaimage. Cependant, cette méthode comporte de nombreuses limites, la principale étant que la fourmi puisse ne pas vouloir voler dans ces conditions. En l'absence de données directes sur le vol, il serait possible de réaliser des mesures de traits morphologiques reliés à la capacité de vol tels que le rapport entre la masse musculaire des ailes et la masse corporelle chez les individus sexuées ailées et notamment les femelles (Marden, 1987 & Marden, 2000).

6.1 Exploration du filtre biotique

Dans l'axe 2 les communautés de vers de terre et des fourmis ont été comparées pour observer leurs différences de réponses face aux variables paysagères et aux variables abiotiques locales, cependant le filtre biotique local n'a pas été pris en compte dans ces études alors qu'il joue un rôle important dans la composition des communautés. En effet, même si les conditions environnementales sont idéales au niveau local, les espèces peuvent êtres filtrés par les interactions biotiques, notamment à travers la compétition interspécifique, ce qui réduira la niche fondamentale à la niche réalisée (Pulliam, 2000). Il serait donc intéressant d'étudier si ces deux taxons peuvent entrer en interaction et si cela affecte leur distribution spatiale au sein des différents espaces verts urbains. En effet, on les retrouve dans le même environnement, qui est le sol : les vers de terre creusent des galeries pour se déplacer et se nourrir, tandis que les fourmis construisent leurs nids. Certains nids de fourmis montrent des niveaux importants de matière organique ou d'humidité (Frouz et al., 2008 ; Cammeraat & Risch, 2008). De plus, il a été démontré que l'accumulation de litière et de nutriments dans les nids affecte à la fois la disponibilité des ressources et les conditions microclimatiques dans le sol, favorisant ainsi l'abondance et la diversité de la faune du sol (micro-organismes, nématodes et micro-arthropodes) dans les nids (Wagner et al., 1997 ; Boulton et al., 2003 ; Boulton & Amberman, 2006). Les nids de fourmis pourraient fournir un habitat potentiel et des ressources attractives pour les vers de terre lorsque les conditions du sol environnantes ne sont pas optimales. L'urbanisation ayant un impact globalement négatif sur les paramètres physico-chimiques du sol (pollution, compaction) et un impact plus variable sur les fourmis, des interactions positives de type mutualistes ou commensales pourraient être observées entre les vers et les fourmis le long du gradient d'urbanisation. Je suppose

que dans les espaces verts urbains, les vers de terre seront trouvés en plus grande densité à proximité ou au sein des nids de fourmis, et que leur présence dans les nids se fera principalement dans les fourmilières d'espèces granivores comme les fourmis du genre Messor (Blatrix et al., 2013). En effet, ces dernières ne considèrent peut-être pas les vers de terre comme des proies potentielles, et les litières que ces fourmis accumulent (débris végétaux, graines) correspondent davantage au régime alimentaire des vers de terre.

6.2 « Retour vers le futur »

Pour l'axe 3, seulement 285 des 3700 vers de terre échantillonnés ont pu être bar-codés et dans 24 sites sur 40, et les fourmis échantillonnées dans l'axe 2 n'ont pas été séquencées faute de temps et de budget. Des résultats très intéressants ont pu être montrés au sein de l'axe 3 sur un jeu de données limité au sein de la ville de Montpellier. Il serait donc pertinent de réaliser des analyses sur les vers de terre qui n'ont pas été séquencés et augmenter le nombre de sites échantillonnés pour voir si les résultats observés à partir des 24 sites étudiés sont généralisables à l'ensemble de la métropole. Sur les 285 individus, de nombreuses lignées cryptiques ont pu être identifiées, mettant en lumière une diversité génétique insoupçonnée et très probablement sous-estimée.

A l'issue de cette étude, il a été supposé que certaines espèces de vers de terre auraient pu être présentes bien avant la construction de la ville de Montpellier. Pour vérifier cette hypothèse, il faudrait remonter le temps dans l'histoire des différentes lignées observées à Montpellier, ce qui peut être rendu possible grâce à la création d'arbres phylogénétiques ultramétriques. Ces arbres sont utilisés pour visualiser les divergences évolutives entre les espèces. Ils sont souvent utilisés dans le domaine de la phylogéographie pour étudier l'évolution des espèces, les schémas de dispersion et les temps de divergence entre les lignées évolutives et ont déjà été utilisés pour les vers de terre (Marchán et al., 2020).

6.3 « Live and let die »

Depuis que je me suis engagée dans des travaux liés à la conservation des espèces, j'ai été amené à prélever et étudier un grand nombre de vers de terre et de fourmis. Bien que ces prélèvements semblent minimes par rapport aux populations globales de ces espèces, dans les environnements fortement perturbés tels que les milieux urbains, ces populations peuvent être affectées de manière négative, surtout dans des espaces restreints et isolés tels que les linéaires de voirie et les ronds-points. Cela pourrait avoir des conséquences négatives pour les espèces adoptant une stratégie de vie de type K, caractérisées par une longévité importante et un faible taux de reproduction, telles que les espèces du genre *Scherotheca*, qui peuvent vivre jusqu'à une dizaine d'années. Il serait judicieux de développer

des méthodes d'échantillonnage non létales pour ces organismes, telles que le prélèvement d'ADN directement sur les individus vivants, l'utilisation de méthodes d'ADN environnemental ou la réduction au minimum des prélèvements. Par exemple, dans cette étude, nous avons constaté que les vers de terre juvéniles représentaient 58 % des individus échantillonnés, mais sans l'utilisation de la méthode d'ADN-barcoding, il est compliqué, voire impossible de les identifier jusqu'à l'espèce. Les vers de terre juvéniles pourraient être comptabilisés sur le terrain pour obtenir des données d'abondance, en prenant simplement le temps nécessaire pour les distinguer des adultes et en formant les équipes à cette tâche.

7 Conclusion

Les résultats suggèrent collectivement que des assemblages diversifiés de fourmis et de vers de terre, comprenant des espèces cosmopolites, indigènes, et endémiques, peuvent coexister dans des environnements urbains. Nous avons observé que la dispersion active et passive jouent un grand rôle dans la distribution spatiale des communautés en ville, face à la menace de la fragmentation des habitats et du changement climatique, ainsi qu'à la propagation des espèces envahissantes. La dispersion est donc un facteur clé à prendre en compte dans les plans de conservation de la biodiversité des sols (Pressey et al., 2007). Les réponses différenciées des communautés de vers de terre et de fourmis face à l'urbanisation, à l'usage du sol et aux variables environnementales en font des indicateurs précieux pour évaluer l'impact du développement urbain sur l'écosystème sol. Malgré une certaine homogénéisation des communautés au sein des différents usages du sol de Montpellier, des espèces endémiques et indigènes étaient présentes, avec pour les vers de terre la mise en évidence de lignées cryptiques et d'une diversité génétique surprenante qui ont été observées au sein des différents espaces verts ouverts. Cette étude plaide donc en faveur de la préservation des espaces verts à Montpellier pour soutenir la biodiversité et la diversité génétique des ingénieurs du sol, soulignant les avantages potentiels tant pour les écosystèmes urbains que pour le bien-être humain. En résumé, cette recherche enrichit notre compréhension des dynamiques complexes entre la faune du sol et l'urbanisation, jetant ainsi les bases pour élaborer des stratégies de conservation et de gestion éclairées dans les zones métropolitaines en expansion.

Références

Ahern, J. (2007). Green infrastructure for cities: The spatial dimension. Cities of the future: towards integrated sustainable water and landscape management, 13, 267-283.

Amundson, R., Berhe, A. A., Hopmans, J. W., Olson, C., Sztein, A. E., & Sparks, D. L. (2015). Soil and human security in the 21st century. Science, 348(6235), 1261071.

Andersen, A. N. (1997). Functional groups and patterns of organization in North American ant communities: A comparison with Australia. Journal of Biogeography, 24, 433–460.

André, H.M., Noti, M.I., & Lebrun, P. (1994). The soil fauna: the other last biotic frontier. Biodiversity and Conservation, 3, 45-56. http://dx.doi.org/10.1007/BF00115332

Angel, S., Parent, J., Civco, D. L., Blei, A., & Potere, D. (2011). The dimensions of global urban expansion: Estimates and projections for all countries, 2000–2050. Progress in Planning, 75(2), 53-107.

Antarea. Répartition du nombre d'espèces par département. Accessed 3 June, 2023. [Online]. http://antarea.fr/fourmi/?repartition/nombre-especes-departement.html

Anthony, M. A., Bender, S. F., & van der Heijden, M. G. (2023). Enumerating soil biodiversity. Proceedings of the National Academy of Sciences, 120, e2304663120.

Antonov, I. A. (2008). Ant assemblages of two cities with different ecological conditions in Southern Cisbaikalia. Russian Journal of Ecology, 39(6), 454-456. https://doi.org/10.1134/S106741360806012X

Amossé, J., Dózsa-Farkas, K., Boros, G., Rochat, G., Sandoz, G., Fournier, B., Mitchell, E. A. D., & Le Bayon, R.-C. (2016). Patterns of earthworm, enchytraeid and nematode diversity and community structure in urban soils of different ages. European Journal of Soil Biology, 73, 46-58. https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2016.01.004

Aram, F., García, E. H., Solgi, E., & Mansournia, S. (2019). Urban green space cooling effect in cities. Heliyon, 5(4).

Audusseau, H., Vandenbulcke, F., Dume, C., Deschins, V., Pauwels, M., Gigon, A., Bagard, M., & Dupont, L. (2020). Impacts of metallic trace elements on an earthworm community in an urban wasteland: Emphasis on the bioaccumulation and genetic characteristics in Lumbricus castaneus. Science of the Total Environment, 718, 137259.

Avise, J. C. (2000). Phylogeography: the history and formation of species. Harvard university press.

Bacaro, G., Maccherini, S., Chiarucci, A., Jentsch, A., Rocchini, D., Torri, D., ... & Arévalo, J. R. (2015). Distributional patterns of endemic, native and alien species along a roadside elevation gradient in Tenerife, Canary Islands. Community Ecology, 16, 223-234.

Bai, T., Mayer, A. L., Shuster, W. D., & Tian, G. (2018). The hydrologic role of urban green space in mitigating flooding (Luohe, China). Sustainability, 10(10), 3584.

Barbaro, L., & Van Halder, I. (2009). Linking bird, carabid beetle, and butterfly life-history traits to habitat fragmentation in mosaic landscapes. Ecography, 32, 321-333.

Barnes, A. E., Robinson, R. A., & Pearce-Higgins, J. W. (2023). Collation of a century of soil invertebrate abundance data suggests long-term declines in earthworms but not tipulids. PLOS ONE, 18(4), e0282069. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0282069

Berg, B., & McClaugherty, C. (2008). Plant litter: Decomposition, humus formation, carbon sequestration. (2nd ed.). Springer.

Bertelsmeier, C., Blight, O., & Courchamp, F. (2016). Invasions of ants (Hymenoptera: Formicidae) in light of global climate change. Myrmecological News, 22, 25-42.

Bolund, P., & Hunhammar, S. (1999). Ecosystem services in urban areas. Ecological economics, 29(2), 293-301.

Blakemore, R. J. (2009). Cosmopolitan earthworms—a global and historical perspective. Annelids in modern biology, 257-283.

Blanchart, E., Cortet, J., & Gers, C. (2023). La biodiversité des sols, un bien commun au service de tous. Étude et Gestion des Sols, 30, 75-81.

Blanchart, E., Lavelle, P., Braudeau, E., Le Bissonnais, Y., & Valentin, C. (1997). Regulation of soil structure by geophagous earthworm activities in humid savannas of Côte d'Ivoire. Soil Biology and Biochemistry, 29(3-4), 431-439.

Blanchart, A., Sere, G., Cherel, J., Warot, G., Stas, M., Consales, J. & Schwartz, C. (2017). Contribution des sols à la production de services écosystémiques en milieu urbain – une revue. Environnement urbain, 11. https://doi.org/10.7202/1050486ar

Blatrix R., Galkowski C., Lebas C. 2013. Fourmis de France, de Belgique et du Luxembourg. Delachaux et Niestlé, 287 p.

Blouin, M., Hodson, M. E., Delgado, E. A., Baker, G., Brussaard, L., Butt, K. R., ... & Brun, J. J. (2013). A review of earthworm impact on soil function and ecosystem services. European Journal of Soil Science,

64(2), 161-182.Bonu, M. S., & Stuiver, M. (2023). Soils under pressure: Practical Guidelines for soil-inclusive urban development. Topos: periodiek over landschapsarchitectuur, ruimtelijke planning en sociaal-ruimtelijke analyse.

Bottinelli, N., Hedde, M., Jouquet, P., & Capowiez, Y. (2020). An explicit definition of earthworm ecological categories – Marcel Bouché's triangle revisited. Geoderma, 372, 114361. https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2020.114361

Bouché, M. B. (1977). Strategies lombriciennes. Ecological Bulletins, 122-132.

Boulton, A.M., & Amberman, K.D. (2006). How ant nests increase soil biota richness and abundance: a field experiment. Biodiversity and Conservation, 15, 69–82.

Boulton, A.M., Jaffee, B.A., & Scow, K.M. (2003). Effects of a common harvester ant (Messor andrei) on richness and abundance of soil biota. Applied Soil Ecology, 23, 257–265.

Brooks, T. M., Mittermeier, R. A., Mittermeier, C. G., Da Fonseca, G. A. B., Rylands, A. B., Konstant, W. R., Flick, P., Pilgrim, J., Oldfield, S., Magin, G., & Hilton-Taylor, C. (2002). Habitat loss and extinction in the hotspots of biodiversity. Conservation Biology, 16, 909–923.

Butchart, S. H., Akçakaya, H. R., Chanson, J., Baillie, J. E., Collen, B., Quader, S., Turner, W. R., Amin, R., Stuart, S. N., & Hilton-Taylor, C. (2007). Improvements to the Red List Index. PLoS One, 2(1), e140.

Cadotte, M. W. (2006). Dispersal and Species Diversity: A Meta-Analysis. The American Naturalist, 167, 913-924.

Cameron, E. K., Bayne, E. M., & Coltman, D. W. (2008). Genetic structure of invasive earthworms Dendrobaena octaedra in the boreal forest of Alberta: Insights into introduction mechanisms. Molecular Ecology, 17(5), 1189-1197. https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2007.03603.x

Cammeraat, E. L. H., & Risch, A. C. (2008). The impact of ants on mineral soil properties and processes at different spatial scales. Journal of Applied Entomology, 132(4), 285-294.

Chantraine, J., Autran, A., Cavelier, C., & Clozier, L. (1996). Carte géologique de la France à l'échelle du millionième, 6e édition. BRGM, Orléans.

Chapman, A. D. (2009). Number of Living Species in Australia and the World, Second Edition. Department of the Environment, Water, Heritage and the Arts, Australian Government, Canberra.

Chen, Y., Wang, X., Jiang, B., Yang, N., & Li, L. (2016). Pavement induced soil warming accelerates leaf budburst of ash trees. Urban Forestry & Urban Greening, 16, 36-42. https://doi.org/10.1016/j.ufug.2016.01.014

Clarke, K. M., Fisher, B. L., & LeBuhn, G. (2008). The influence of urban park characteristics on ant (Hymenoptera, Formicidae) communities. Urban Ecosystems, 11(3), 317-334. https://doi.org/10.1007/s11252-008-0065-8

Clobert, J., Danchin, E., Dhondt, A. A., & Nichols, J. (2001). Dispersal. Oxford University Press, Oxford.

Cohen, A. J., Anderson, H. R., Ostro, B., Pandey, K. D., Krzyzanowski, M., Künzli, N., ... & Smith, K. R. (2004). Urban air pollution. Comparative quantification of health risks: global and regional burden of disease attributable to selected major risk factors, 2, 1353-1433.

Costa, D., Timmermans, M. J., Sousa, J. P., Ribeiro, R., Roelofs, D., & Van Straalen, N. M. (2013). Genetic structure of soil invertebrate populations: Collembolans, earthworms and isopods. Applied Soil Ecology, 68, 61-66.

Couvet, D. & Vandevelde, J. (2014). Chapitre 7. Biodiversité ordinaire : des enjeux écologiques au consensus social. Dans : éd., La biodiversité en question (pp. 181-208). Paris : Éditions Matériologiques. https://doi.org/10.3917/edmat.delor.2014.01.0181

Cowie, R.H., Bouchet, P., & Fontaine, B. (2022). The Sixth Mass Extinction: fact, fiction or speculation? Biological Reviews. DOI: http://doi.org/10.1111/brv.12816.

Croci, S., Butet, A., Georges, A., Aguejdad, R., & Clergeau, P. (2008). Small urban woodlands as biodiversity conservation hot-spot: a multi-taxon approach. Landscape Ecology, 23, 1171-1186.

Decaëns, T., & Jiménez, J. J. (2002). Earthworm communities under an agricultural intensification gradient in Colombia. Plant and Soil, 240, 133-143.

Decaëns, T., Porco, D., Rougerie, R., Brown, G. G., & James, S. W. (2013). Potential of DNA barcoding for earthworm research in taxonomy and ecology. Applied Soil Ecology, 65, 35-42.

De Schrijver, A., De Frenne, P., Staelens, J., Verstraeten, G., Muys, B., Vesterdal, L., Wuyts, K., Van Nevel, L., Schelfhout, S., & De Neve, S. (2012). Tree species traits cause divergence in soil acidification during four decades of postagricultural forest development. Global Change Biology, 18, 1127–1140.

Desquilbet, M., Gaume, L., Grippa, M., Céréghino, R., Humbert, J. F., Bonmatin, J. M., Cornillon, P. A., Maes, D., Van Dyck, H., & Goulson, D. (2020). Comment on “Meta-analysis reveals declines in terrestrial but increases in freshwater insect abundances”. Science, 370(6523), eabd8947.

De Wandeler, H., Muys, B., & Hermy, M. (2018). Earthworm communities in relation to tree communities in European forests.

Dreistadt, S. H., Dahlsten, D. L., & Frankie, G. W. (1990). Urban Forests and Insect Ecology. BioScience, 40(3), 192-198. https://doi.org/10.2307/1311364

Dunn, R. R., Agosti, D., Andersen, A. N., Arnan, X., Bruhl, C. A., Cerdá, X., ... & Sanders, N. J. (2009). Climatic drivers of hemispheric asymmetry in global patterns of ant species richness. Ecology letters, 12(4), 324-333.

Dupont, L., Grésille, Y., Richard, B., Decaëns, T., & Mathieu, J. (2015). Dispersal constraints and fine-scale spatial genetic structure in two earthworm species. Biological Journal of the Linnean Society, 114(2), 335-347.

Durousseau, S. (2001). Patrimoine foncier pollué et urbanisme. Thèse de doctorat (Droit public). Université de Limoges, Faculté de droit et des sciences économiques. 561 p.

Eijsackers, H. (2011). Earthworms as colonizers of natural and cultivated soil environments. Applied Soil Ecology, 50, 1-13.

Ericson, L., Hansson, L., Larsson, T. B., et al. (1988). The importance of residual biotopes for fauna and flora. In K. F. Schreiber (Ed.), Proceedings of the 2nd International Seminar of the International Association for Landscape Ecology, Munster, 1988.

Faeth, S. H., Bang, C., & Saari, S. (2011). Urban biodiversity: patterns and mechanisms. Annals of the New York Academy of Sciences, 1223(1), 69–81. https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2010.05925.x

Faeth, S. H., & Kane, T. C. (1978). Urban biogeography: city parks as islands for Diptera and Coleoptera. Oecologia, 32(2), 127–133.

FAO & ITPS. (2015). Status of the World's Soil Resources. Food and Agriculture Organization, Intergovernmental Technical Panel on Soils. Rome: FAO.

Fontes-Rousseau, C., & Jean, R. (2015). Utilisation du territoire. L'artificialisation des terres de 2006 à 2014: pour deux tiers sur des espaces agricoles. Agreste Primeur, 326, 6.

Forys, E. A., & Allen, C. R. (2005). The Impacts of Sprawl on Biodiversity : The Ant Fauna of the Lower Florida Keys. Ecology and Society, 10(1), art25. https://doi.org/10.5751/ES-01307-100125

Frankham, R., Briscoe, D. A., & Ballou, J. D. (2002). Introduction to conservation genetics. Cambridge university press.

Frankham, R. (2003). Genetics and conservation biology. Comptes Rendus Biologies, 326, 22-29.

Frouz, J., Prach, K., Pizl, V., Hanel, L., Stary, J., Tajovsky, K., Materna, J., Balik, V., Kalcik, J., & Rehounkova, K. (2008). Interactions between soil development, vegetation and soil fauna during spontaneous succession in post mining sites. European Journal of Soil Biology, 44, 109–121.

Gascuel, C., Renault, P., Bispo, A., Régnier, E., & Foucaud-Scheunemann, C. (2023). Peut-on encore sauver les sols?. " Ressources" n° 4, la revue INRAE, (4), 64-85.

Gaston, K. J., & Fuller, R. A. (2008). Commonness, population depletion and conservation biology. Trends in Ecology and Evolution, 23(1), 14-19.

Gérard, S., Marchán, D. F., Navarro, A. M., Hedde, M., & Decaëns, T. (2023). Resampling Bouché's historical localities reveals three new species and helps identifying a new genus of earthworms (Oligochaeta, Hormogastridae and Lumbricidae) in Southeastern France. Zoosystema, 45(23), 749-768.

Godet, L. (2008). L'évaluation des besoins de conservation d'un patrimoine naturel littoral marin. L'exemple des estrans meubles de l'archipel de Chausey (Thèse de doctorat, Muséum national d'histoire naturelle-MNHN PARIS).

Grima, N., Corcoran, W., Hill-James, C., Langton, B., Sommer, H., & Fisher, B. (2020). The importance of urban natural areas and urban ecosystem services during the COVID-19 pandemic. Plos one, 15(12), e0243344.

Guilland, C., Maron, P. A., Damas, O., & Ranjard, L. (2018). Biodiversity of urban soils for sustainable cities. Environmental chemistry letters, 16, 1267-1282.

Hahs, A. K., Fournier, B., Aronson, M. F., Nilon, C. H., Herrera-Montes, A., Salisbury, A. B., ... & Moretti, M. (2023). Urbanisation generates multiple trait syndromes for terrestrial animal taxa worldwide. Nature communications, 14(1), 4751.

Hakala, S. M., Seppä, P., & Helanterä, H. (2019). Evolution of dispersal in ants (Hymenoptera: Formicidae): a review on the dispersal strategies of sessile superorganisms.

Hale, C. M. (2008). Evidence for human-mediated dispersal of exotic earthworms: support for exploring strategies to limit further spread.

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(10), e0185809.

Hartemink, A. E. (2016). The definition of soil since the early 1800s. Advances in Agronomy, 137, 73-126.

Hoffmann, B. D., & Andersen, A. N. (2003). Responses of ants to disturbance in Australia, with particular reference to functional groups. Austral Ecology, 28(4), 444-464.

Hölldobler, B., & Wilson, E. O. (1990). The ants. Harvard University Press.

Holway, D. A., & Suarez, A. V. (2006). Homogenization of ant communities in Mediterranean California: The effects of urbanization and invasion. Biological Conservation, 127(3), 319-326. https://doi.org/10.1016/j.biocon.2005.05.016

Hutchinson, G.E. (1957). Concluding Remarks. Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology, 22, 415-427.

INSEE (French National Institute of Statistics and Economic Studies) (2020). TEF, édition 2020 – Insee Références

IPBES. (2019). Summary for Policymakers of the Global Assessment Report on Biodiversity and Ecosystem Services of the Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services. IPBES secretariat, Bonn.

IUCN (International Union for Conservation of Nature). (2020). The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2020-2. IUCN, Gland.

IUSS, Working Group WRB. (2006). World reference base for soils resources. Food and Agricultural Organization of the United Nations, Rome, No. 103, ISBN 92-5-105511-4.

IUSS Working Group WRB. (2014). World Reference Base for Soil Resources: International soil classification system for naming soils and creating legends for soil maps. World Soil Resources Reports No. 106. FAO, Rome.

Johnson, M. T. J., & Munshi-South, J. (2017). Evolution of life in urban environments. Science, 358(6363), eaam8327. https://doi.org/10.1126/science.aam8327

Jones, C. G., Lawton, J. H., & Shachak, M. (1994). Organisms as ecosystem engineers. Oikos, 373-386.

Kim, H. H. (1992). Urban heat island. International Journal of Remote Sensing, 13(12), 2319-2336.

King, R. A., Tibble, A. L., & Symondson, W. O. C. (2008). Opening a can of worms: Unprecedented sympatric cryptic diversity within British lumbricid earthworms. Molecular Ecology, 17(21), 4684-4698. https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2008.03931.x

Kinnison, M. T., & Hendry, A. P. (2001). The pace of modern life II: from rates of contemporary microevolution to pattern and process. Microevolution rate, pattern, process, 145-164.

Kolbert, E. (2014). The Sixth Extinction: An Unnatural History. Henry Holt and Company.

Konarska, J., Uddling, J., Holmer, B., Lutz, M., Lindberg, F., Pleijel, H., & Thorsson, S. (2016). Transpiration of urban trees and its cooling effect in a high latitude city. International journal of biometeorology, 60, 159-172.

Kowarik, I., Buchholz, S., von der Lippe, M., & Seitz, B. (2016). Biodiversity functions of urban cemeteries: Evidence from one of the largest Jewish cemeteries in Europe. Urban forestry & urban greening, 19, 68-78.

Lambert, M. R., & Donihue, C. M. (2020). Urban biodiversity management using evolutionary tools. Nature Ecology & Evolution, 4(7), 903-910.

Lavelle, P., Decaëns, T., Aubert, M., Barot, S., Blouin, M., Bureau, F., ... & Rossi, J. P. (2006). Soil invertebrates and ecosystem services. European journal of soil biology, 42, S3-S15.

Lavelle, P. (1988). Earthworm activities and the soil system. Biology and fertility of soils, 6, 237-251.

Leandro, C., Jay-Robert, P., & Vergnes, A. (2017). Bias and perspectives in insect conservation: a European scale analysis. Biological Conservation, 215, 213-224.

Leather, S. R. (2017). "Ecological Armageddon" - more evidence for the drastic decline in insect numbers. Annals of Applied Biology, 172(1), 1–3.

Le Coent, P. et al. (2023). Can NBS Address the Challenges of an Urbanized Mediterranean Catchment? The Lez Case Study. In: López-Gunn, E., van der Keur, P., Van Cauwenbergh, N., Le Coent, P., Giordano, R. (eds) Greening Water Risks. Water Security in a New World. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-031-25308-9_14

Lemtiri, A., Colinet, G., Alabi, T., Cluzeau, D., Zirbes, L., Haubruge, É., & Francis, F. (2014). Impacts of earthworms on soil components and dynamics. A review. Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement, 18.

Li, G., Sun, G. X., Ren, Y., Luo, X. S., & Zhu, Y. G. (2018). Urban soil and human health: a review. European Journal of Soil Science, 69(1), 196-215.

Li, J., Zhang, Z., Wang, H., Wang, S., & Chen, Q. (2020). Urban land-use impacts on composition and spatiotemporal variations in abundance and biomass of earthworm community. Journal of Forestry Research, 31, 325–331.

Lortie, C.J., Brooker, R.W., Choler, P., Kikvidze, Z., Michalet, R., Pugnaire, F.I., & Callaway, R.M. (2004). Rethinking plant community theory. Oikos, 107, 433-438.

MacArthur, R. H., & Wilson, E. O. (1967). The theory of island biogeography. Princeton University Press.

Majer, J., & Brown, K. (1986). The effects of urbanization on the ant fauna of the Swan Coastal Plain near Perth, Western Australia. Journal of the Royal Society of Western Australia, 69(1), 13-17.

Marchán, D. F., Hedde, M., Lapied, E., Maggia, M.-E., Novo, M., Domínguez, J., & Decaëns, T. (2020). Contrasting phylogeographic patterns of earthworms (Crassiclitellata, Lumbricidae) on near-shore mediterranean islands. European Journal of Soil Biology, 101, 103242. https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2020.103242

Marden, J.H. (1987). Maximum lift production during takeoff in flying animals. Journal of Experimental Biology, 130, 235-238.

Marden, J.H. (2000). Variability in the size, composition, and function of insect flight muscles. Annual Review of Physiology, 62, 157-178.

Maréchal, J., Hoeffner, K., Marié, X., & Cluzeau, D. (2021). Response of earthworm communities to soil engineering and soil isolation in urban landscapes. Ecological Engineering, 169, 106307.

Maron, P.-A., & Ranjard, L. (2019). Qualité écologique des sols.Marzluff, J. M. (2005). Island biogeography for an urbanizing world: how extinction and colonization may determine biological diversity in human-dominated landscapes. Urban Ecosystems, 8(2), 157–177.

McDonnell, M. J., & Hahs, A. K. (2008). The use of gradient analysis studies in advancing our understanding of the ecology of urbanizing landscapes: Current status and future directions. Landscape Ecology, 23(10), 1143-1155. https://doi.org/10.1007/s10980-008-9253-4

McGrane, S. J. (2016). Impacts of urbanisation on hydrological and water quality dynamics, and urban water management: a review. Hydrological Sciences Journal, 61(13), 2295-2311. https://doi.org/10.1080/02626667.2015.1128084

McKinney, M. L. (2002). Urbanization, Biodiversity, and Conservation. BioScience, 52(10), 883. https://doi.org/10.1641/0006-3568(2002)052[0883:UBAC]2.0.CO;2

McKinney, M. L. (2006). Urbanization as a major cause of biotic homogenization. Biological conservation, 127(3), 247-260.

McKinney, M. L. (2008). Effects of urbanization on species richness: A review of plants and animals. Urban Ecosystems, 11, 161–176. doi: 10.1007/s11252-007-0045-4.

McKinney, M. L., & Lockwood, J. L. (1999). Biotic homogenization: a few winners replacing many losers in the next mass extinction. Trends in ecology & evolution, 14(11), 450-453.

Melliger, R. L., Braschler, B., Rusterholz, H.-P., & Baur, B. (2018). Diverse effects of degree of urbanization and forest size on species richness and functional diversity of plants, and ground surface-active ants and spiders. PLOS ONE, 13(6), e0199245. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0199245

Meysman, F. J., Middelburg, J. J., & Heip, C. H. (2006). Bioturbation: a fresh look at Darwin's last idea. Trends in Ecology & Evolution, 21(12), 688-695.

Miles, L. S., Rivkin, L. R., Johnson, M. T., Munshi-South, J., & Verrelli, B. C. (2019). Gene flow and genetic drift in urban environments. Molecular ecology, 28(18), 4138-4151.

Moller, H. (1996). Lessons for invasion theory from social insects. Biological conservation, 78(1-2), 125-142.

Morales, P. K., Yunusa, I. A. M., Lugg, G., Li, Z., Gribben, P., & Eamus, D. (2013). Belowground eco-restoration of a suburban waste-storage landscape: Earthworm dynamics in grassland and in a succession of woody vegetation covers. Landscape and Urban Planning, 120, 16-24. https://doi.org/10.1016/j.landurbplan.2013.06.007

Morel, J. L., Chenu, C., & Lorenz, K. (2015). Ecosystem services provided by soils of urban, industrial, traffic, mining, and military areas (SUITMAs). Journal of Soils and Sediments, 15(8), 1659-1666. https://doi.org/10.1007/s11368-014-0926-0

Morel, J. L., Schwartz, C., Florentin, L., & de Kimpe, C. (2005). Urban soils. In D. Hillel (Ed.), Encyclopedia of Soils in the Environment (pp. 202-208). Elsevier Ltd., Academic Press, London.

Nations unies. (2020). World population prospects 2019: Highlights. New York: Nations unies. OCDE. (2016). Regions and cities at a glance 2016. Paris: OCDE.

Nkem, J. N., De Bruyn, L. L., Grant, C. D., & Hulugalle, N. R. (2000). The impact of ant bioturbation and foraging activities on surrounding soil properties. Pedobiologia, 44(5), 609-621.

OCDE. (2017). Rapport annuel 2016 sur les Principes directeurs de l'OCDE à l'intention des entreprises multinationales.

Olden, J. D., & Rooney, T. P. (2006). On defining and quantifying biotic homogenization. Global Ecology and Biogeography, 15(2), 113-120.

Omodeo, P., & Rota, E. (2008). Earthworm diversity and land evolution in three Mediterranean districts. Proceedings of the California Academy of Sciences, 59(supplement 1), 65-83.

Ordeñana, M. A., Crooks, K. R., Boydston, E. E., Fisher, R. N., Lyren, L. M., Siudyla, S., ... & Van Vuren, D. H. (2010). Effects of urbanization on carnivore species distribution and richness. Journal of Mammalogy, 91(6), 1322-1331.

Orgiazzi, A., Bardgett, R. D., & Barrios, E. (2016). Global soil biodiversity atlas. European Commission.

Paoletti, M. G. (1999). The role of earthworms for assessment of sustainability and as bioindicators. Agriculture, Ecosystems & Environment, 74(1-3), 137-155.

Parr, C. L., Eggleton, P., Davies, A. B., Evans, T. A., & Holdsworth, S. (2016). Suppression of savanna ants alters invertebrate composition and influences key ecosystem processes. Ecology, 97(6), 1611-1617.

Pereira, H. M., Leadley, P. W., Proença, V., Alkemade, R., Scharlemann, J. P. W., Fernandez-Manjarrés, J. F., Araújo, M. B., Balvanera, P., Biggs, R., Cheung, W. W. L., et al. (2010). Scenarios for global biodiversity in the 21st century. Science, 330, 1496–1501.

Perez, A., & Diamond, S. E. (2019). Idiosyncrasies in cities : Evaluating patterns and drivers of ant biodiversity along urbanization gradients. Journal of Urban Ecology, 5(1), juz017. https://doi.org/10.1093/jue/juz017

Phillips, H. R., Bach, E. M., Bartz, M. L., Bennett, J. M., Beugnon, R., Briones, M. J., ... & Webster, E. R. (2021). Global data on earthworm abundance, biomass, diversity and corresponding environmental properties. Scientific data, 8(1), 136.

Philpott, S. M., Cotton, J., Bichier, P., Friedrich, R. L., Moorhead, L. C., Uno, S., & Valdez, M. (2014). Local and landscape drivers of arthropod abundance, richness, and trophic composition in urban habitats. Urban Ecosyst, 20.

Pizl, V., & Schlaghamersky, J. (2007). The impact of pedestrian activity on soil annelids in urban greens. European Journal of Soil Biology, 43, 68-71.

Potere, D., & Schneider, A. (2007). A critical look at representations of urban areas in global maps. GeoJournal, 69(1-2), 55-80.

Pouso, S., Borja, Á., Fleming, L. E., Gómez-Baggethun, E., White, M. P., & Uyarra, M. C. (2021). Contact with blue-green spaces during the COVID-19 pandemic lockdown beneficial for mental health. Science of The Total Environment, 756, 143984.

Pouyat, R. V., Day, S. D., Brown, S., Schwarz, K., Shaw, R. E., Szlavecz, K., ... & Yesilonis, I. D. (2020). Urban soils. Forest and Rangeland Soils of the United States Under Changing Conditions: A Comprehensive Science Synthesis, 127-144.

Pouyat, R. V., Szlavecz, K., Yesilonis, I. D., Groffman, P. M., & Schwarz, K. (2010). Chemical, Physical, and Biological Characteristics of Urban Soils. Urban Ecosystems Ecology, 34. https://doi.org/10.2134/agronmonogr55.c7

Pressey, R.L., Cabeza, M., Watts, M.E., Cowling, R.M. & Wilson, K.A. (2007). Conservation planning in a changing world. Trends in Ecology & Evolution, 22, 583-592.

Pulliam, H. R. (2000). On the relationship between niche and distribution. Ecology letters, 3(4), 349-361.

Steffan, F. (2023). Artificialisation des sols et objectif « Zéro Artificialisation Nette » Etat des lieux et enjeux. Réseau action climat France, 23

Rivkin, L. R., Santangelo, J. S., Alberti, M., Aronson, M. F., de Keyzer, C. W., Diamond, S. E., ... & Johnson, M. T. (2019). A roadmap for urban evolutionary ecology. Evolutionary applications, 12(3), 384-398.

Robinson, S. L., & Lundholm, J. T. (2012). Ecosystem services provided by urban spontaneous vegetation. Urban Ecosystems, 15, 545-557.

Rocha-Ortega, M., Rodriguez, P., & Córdoba-Aguilar, A. (2021). Geographical, temporal, and taxonomic biases in insect GBIF data on biodiversity and extinction. Ecological Entomology, 46(4), 718–728.

Rossiter, D. G. (2007). Classification of urban and industrial soils in the world reference base for soil resources (5 pp). Journal of Soils and Sediments, 7, 96–100.

Sánchez-Bayo, F., & Wyckhuys, K. A. G. (2019). Worldwide decline of the entomofauna: A review of its drivers. https://doi.org/10.1016/j.biocon.2019.01.020

Sánchez-García, D., Cerdá, X., & Angulo, E. (2022). Temperature or competition: Which has more influence on Mediterranean ant communities? PLOS ONE, 17(4), e0267547. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0267547

Sanford, M. P., Manley, P. N., & Murphy, D. D. (2009). Effects of Urban Development on Ant Communities : Implications for Ecosystem Services and Management. Conservation Biology, 23(1), 131-141. https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2008.01040.x

Santos MN (2016) Research on urban ants: Approaches and gaps. Insectes Sociaux, 63(3), 359 371. https://doi.org/10.1007/s00040-016-0483-1

Scalenghe, R., & Marsan, F. A. (2009). The anthropogenic sealing of soils in urban areas. Landscape and urban planning, 90(1-2), 1-10.

Schelfhout, S., Mertens, J., Verheyen, K., Vesterdal, L., Baeten, L., Muys, B., & De Schrijver, A. (2017). Tree species identity shapes earthworm communities. Forests, 8(3), 85.

Schultheiss, P., Nooten, S. S., Wang, R., Wong, M. K., Brassard, F., & Guénard, B. (2022). The abundance, biomass, and distribution of ants on Earth. Proceedings of the National Academy of Sciences, 119(40), e2201550119.

Schweiger, O., Maelfait, J.P., Van Wingerden, W., Hendrickx, F., Billeter, R., Speelmans, M., Augenstein, I., Aukema, B., Aviron, S., Bailey, D., Bukacek, R., Burel, F., DiekÖTter, T., Dirksen, J., Frenzel, M., Herzog, F., Liira, J., Roubalova, M., & Bugter, R. (2005). Quantifying the impact of environmental factors on arthropod communities in agricultural landscapes across organizational levels and spatial scales. Journal of Applied Ecology, 42, 1129-1139.

Shwartz, A., Turbe, A., Julliard, R., Simon, L., & Prevot, A. C. (2014). Outstanding challenges for urban conservation research and action. Global Environmental Change, 28, 39–49. doi: 10.1016/j.gloenvcha.2014.06.002.

Smetak, K. M., Johnson-Maynard, J. L., & Lloyd, J. E. (2007). Earthworm population density and diversity in different-aged urban systems. Applied Soil Ecology, 37(1-2), 161-168. https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2007.06.004

Soanes, K., & Lentini, P. E. (2019). When cities are the last chance for saving species. Frontiers in Ecology and the Environment, 17(4), 225-231.

Solbreck, C. (1980). Dispersal distances of migrating pine weevils, Hylobius abietis, Coleoptera: Curculionidae. Entomologia experimentalis et applicata, 28(2), 123-131.

Steffan, F., Doreau, A., Paquin, M., Guidoum, R., Borgarelli, T., Le Phat Vinh, C. (2023). Artificialisation des sols et objectif « Zéro Artificialisation Nette ». Réseau Action Climat France.

Steffen, W., Broadgate, W., Deutsch, L., Gaffney, O., & Ludwig, C. (2015). The trajectory of the Anthropocene: The Great Acceleration. The Anthropocene Review, 2053019614564785. doi:10.1177/2053019614564785.

Stockmann, U., Minasny, B., & McBratney, A. B. (2014). How fast does soil grow?. Geoderma, 216, 48-61.

Taylor, R. A., Bauer, L. S., Poland, T. M., & Windell, K. N. (2010). Flight performance of Agrilus planipennis (Coleoptera: Buprestidae) on a flight mill and in free flight. Journal of Insect Behavior, 23, 128-148.

Thompson, B., & McLachlan, S. (2007). The effects of urbanization on ant communities and myrmecochory in Manitoba, Canada. Urban Ecosystems, 10(1), 43-52. https://doi.org/10.1007/s11252-006-0013-4

Tóth, Z., Szlavecz, K., Schmidt, D. J. E., Hornung, E., Setälä, H., Yesilonis, I. D., ... & Csuzdi, C. (2020). Earthworm assemblages in urban habitats across biogeographical regions. Applied Soil Ecology, 151, 103530.

Tsai, W. L., McHale, M. R., Jennings, V., Marquet, O., Hipp, J. A., Leung, Y. F., & Floyd, M. F. (2018). Relationships between characteristics of urban green land cover and mental health in US metropolitan areas. International journal of environmental research and public health, 15(2), 340.

UNCCD. (2014). Land Degradation Neutrality Report. United Nations Convention to Combat Desertification. Bonn: UNCCD.

Underwood, E. C., & Fisher, B. L. (2006). The role of ants in conservation monitoring: if, when, and how. Biological conservation, 132(2), 166-182.

UNFPA. (2007). State of World Population 2007: Unleashing the Potential of Urban Growth.

United Nations, Department of Economic and Social Affairs, Population Division. (2018). World Urbanization Prospects: The 2018 Revision. New York: United Nations.

United Nations, Department of Economic and Social Affairs, Population Division. (2014). World Urbanization Prospects: The 2014 Revision, Highlights (ST/ESA/SER.A/352). New York: United Nations.

Uno, S., Cotton, J., & Philpott, S. M. (2010). Diversity, abundance, and species composition of ants in urban green spaces. Urban Ecosystems, 13(4), 425-441.

Van den Bosch, M., & Sang, Å. O. (2017). Urban natural environments as nature-based solutions for improved public health–A systematic review of reviews. Environmental research, 158, 373-384.

Vandergast, A. G., Bohonak, A. J., Weissman, D. B., & Fisher, R. N. (2007). Understanding the genetic effects of recent habitat fragmentation in the context of evolutionary history: phylogeography and landscape genetics of a southern California endemic Jerusalem cricket (Orthoptera: Stenopelmatidae: Stenopelmatus). Molecular ecology, 16(5), 977-992.

Van Es, H. (2017). A new definition of soil. Csa News, 62(10), 20-21.

Van Klink, R., Bowler, D. E., Gongalsky, K. B., Swengel, A. B., Gentile, A., & Chase, J. M. (2020). Meta-analysis reveals declines in terrestrial but increases in freshwater insect abundances. Science, 368(6489), 417–420.

Venter, O., Sanderson, E. W., Magrach, A., Allan, J. R., Beher, J., Jones, K. R., Possingham, H. P., Laurance, W. F., Wood, P., Fekete, B. M., Levy, M. A., & Watson, J. E. M. (2016). Sixteen years of change in the global terrestrial human footprint and implications for biodiversity conservation. Nature Communications, 7, 12558. doi:10.1038/ncomms12558.

Vepsäläinen, K., Ikonen, H., & Koivula, M. J. (2008). The Structure of Ant Assemblages in an Urban Area of Helsinki, Southern Finland. Annales Zoologici Fennici, 45(2), 109–127. https://doi.org/10.5735/086.045.0203

Verboom, B., & Van Apeldoorn, R. (1990). Effects of habitat fragmentation on the red squirrel, Sciurus vulgaris, L. Landscape Ecology, 4(3), 171–176. doi:10.1007/BF00132859

Vergnes, A., Blouin, M., Muratet, A., Lerch, T. Z., Mendez-Millan, M., Rouelle-Castrec, M., & Dubs, F. (2017). Initial conditions during Technosol implementation shape earthworms and ants diversity. Landscape and Urban Planning, 159, 32-41. https://doi.org/10.1016/j.landurbplan.2016.10.002

Vidal-Beaudet, L., Schwartz, C., Auclerc, A., Barantal, S., Cortet, J., Dozières, A., ... & Vergnes, A. (2022, August). An innovative site sampling strategy to assess urban soil biodiversity. In XXXI International Horticultural Congress (IHC2022): II International Symposium on Greener Cities: Improving Ecosystem Services 1374 (pp. 213-220).

Vincent, Q. (2018). Étude des paramètres abiotiques, biotiques et fonctionnels, et de leurs interactions dans des sols délaissés (Doctoral dissertation, Université de Lorraine).

Vogt, J. T., Appel, A. G., & West, M. S. (2000). Flight energetics and dispersal capability of the fire ant, Solenopsis invicta Buren. Journal of Insect Physiology, 46(5), 697-707.

Wagner, D., Brown, M.J.F., & Gordon, D.M. (1997). Harvester ant nests, soil biota and soil chemistry. Oecologia, 112, 232–236.

Xie, T., Wang, M., Chen, W., & Uwizeyimana, H. (2018). Impacts of urbanization and landscape patterns on the earthworm communities in residential areas in Beijing. Science of The Total Environment, 626, 1261-1269. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.01.187

Zapparoli, M. (1997). Urban development and insect biodiversity of the Rome area, Italy. Landscape and Urban Planning, 38(1-2), 77-86. https://doi.org/10.1016/S0169-2046(97)00020-0