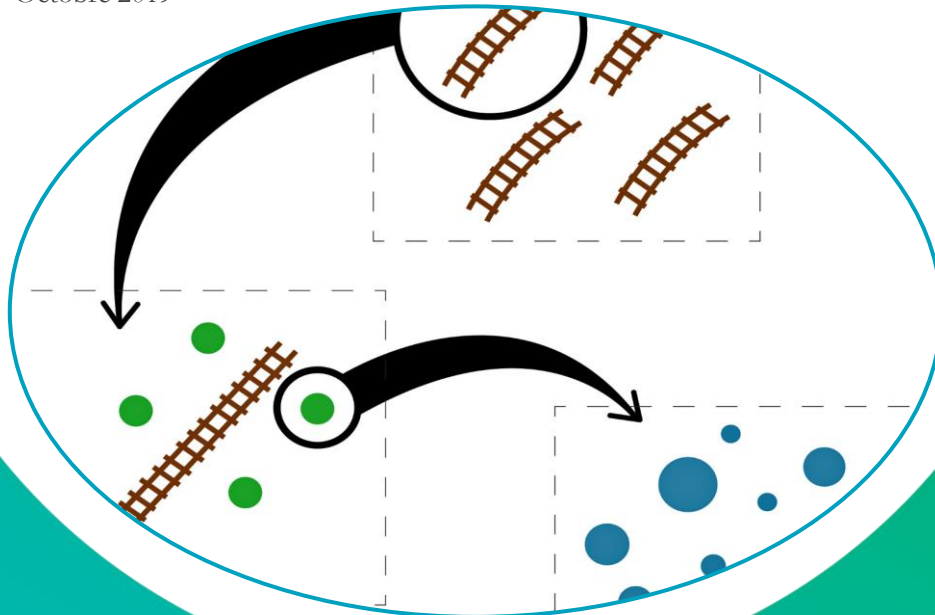


LES PROTOCOLES EXPERIMENTAUX EN ECOLOGIE PRINCIPAUX POINTS CLEFS

Romain Sordello, Yves Bertheau, Aurélie Coulon, Arzhvaël Jeuset,
Dakis-Yaoba Ouédraogo, Sylvie Vanpeene, Marianne Vargac, Anne
Villemeay, Isabelle Witté, Yorick Reyjol, Julien Touroult

Octobre 2019



UNITE MIXTE DE SERVICE

PATRIMOINE NATUREL

**AGENCE FRANÇAISE
POUR LA BIODIVERSITÉ**
ÉTABLISSEMENT PUBLIC DE L'ÉTAT

www.afbiodiversite.fr



www.cnrs.fr



MUSÉUM
NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE

www.mnhn.fr

Nom du Programme : COHNECS-IT (COConnectivité longitudinale et potentiel d'Habitat des dépendances vertes en fonction de leur Nature, des Espèces et du Contexte : une revue Systématique sur les Infrastructures de Transport)

Convention : Convention FRB/MNHN (appel à projet 2014 et 2017 CILB-ITTECOP-FRB)

Chef de projet : Romain Sordello

Chargés de mission : Anne Villemey, Dakis-Yaoba Ouédraogo, Arzhvaël Jéusset, Vital Azambourg, Marianne Vargac, Marine Hulard

Experts mobilisés : Isabelle Witté, Yves Bertheau, Aurélie Coulon, Sylvie Vanpeene, Julien Touroult, Yorick Reyjol

Relecteur : Camille Gazay

Référence du rapport conseillé : Sordello R., Bertheau Y., Coulon A., Jéusset A., Ouédraogo D.Y., Vanpeene S., Vargac M., Villemey A., Witté I., Reyjol Y., Touroult J. (2019). *Les protocoles expérimentaux en écologie. Principaux points clefs*. UMS PatrNat, CESCO, Irstea. 32 pages.

Les auteurs remercient le CILB (Club des Infrastructures Linéaires de transport et Biodiversité), le ministère de la Transition écologique et solidaire, le Conseil scientifique et le Comité d'orientation du programme ITTECOP (Infrastructures de transports terrestres, écosystèmes et paysages) et la Fondation pour la Recherche sur la Biodiversité, commanditaires de l'appel à projet dans le cadre duquel COHNECS-IT s'est déroulé, ainsi que toutes les personnes ayant contribué à la construction de la grille d'analyse critique COHNECS-IT.

L'UMS Patrimoine naturel - PatriNat

Centre d'expertise et de données sur la nature



Depuis janvier 2017, l'Unité Mixte de Service 2006 Patrimoine naturel assure des missions d'expertise et de gestion des connaissances pour ses trois tutelles, que sont le Muséum national d'Histoire naturelle, l'Agence française pour la biodiversité et le CNRS.

Son objectif est de fournir une expertise fondée sur la collecte et l'analyse de données de la biodiversité et de la géodiversité, et sur la maîtrise et l'apport de nouvelles connaissances en écologie, sciences de l'évolution et anthropologie. Cette expertise, fondée sur une approche scientifique, doit contribuer à faire émerger les questions et à proposer les réponses permettant d'améliorer les politiques publiques portant sur la biodiversité, la géodiversité et leurs relations avec les sociétés et les humains.

En savoir plus : patrinat.fr

Directeur : Jean-Philippe SIBLET

Directeur adjoint en charge du centre de données : Laurent PONCET

Directeur adjoint en charge des rapportages et de la valorisation : Julien TOUROULT

Inventaire National du Patrimoine Naturel



Porté par l'UMS Patrimoine naturel, cet inventaire est l'aboutissement d'une démarche qui associe scientifiques, collectivités territoriales, naturalistes et associations de protection de la nature en vue d'établir une synthèse sur le patrimoine naturel en France. Les données fournies par les partenaires sont organisées, gérées, validées et diffusées par le MNHN. Ce système est un dispositif clé du SINP et de l'Observatoire National de la Biodiversité.

Afin de gérer cette importante source d'informations, le Muséum a construit une base de données permettant d'unifier les données à l'aide de référentiels taxonomiques, géographiques et administratifs. Il est ainsi possible d'accéder à des listes d'espèces par commune, par espace protégé ou par maille de 10x10 km. Grâce à ces systèmes de référence, il est possible de produire des synthèses, quelle que soit la source d'information.

Ce système d'information permet de consolider des informations qui étaient jusqu'à présent dispersées. Il concerne la métropole et l'outre-mer, aussi bien la partie terrestre que marine. C'est une contribution majeure pour la connaissance naturaliste, l'expertise, la recherche en macroécologie et l'élaboration de stratégies de conservation efficaces du patrimoine naturel.

En savoir plus : inpn.mnhn.fr

Sommaire

1. Contexte.....	5
1.1. Le projet COHNECS-IT.....	5
1.2. La méthode des revues systématiques et son analyse critique.....	5
1.3. L'objectif de ce rapport.....	5
2. De l'inventaire de terrain à l'écologie expérimentale	6
2.1. Inventaires naturalistes, suivis et surveillances, études scientifiques	6
2.2. Expérience et protocole expérimental.....	7
2.2.1. Etudes descriptives et études expérimentales	7
2.2.2. Qu'est-ce qu'un protocole expérimental ?.....	9
2.3. Les deux grands types de phénomènes étudiés en écologie : l'intervention et l'exposition.....	10
2.4. Les premières étapes avant le montage du protocole expérimental	12
2.4.1. Bien poser la question de recherche : l'outil PECO / PICO	12
2.4.2. Identifier la variable d'intérêt et les facteurs confondants	13
3. Les principaux points clefs d'un protocole expérimental en écologie.....	14
3.1. Le plan d'échantillonnage.....	14
3.1.1. Le choix des sites d'études	14
3.1.1.1. Méthode aléatoire ou semi-aléatoire	15
3.1.1.2. Méthode systématique.....	15
3.1.1.3. Méthode dirigée.....	16
3.1.2. Le macro-plan d'échantillonnage	16
3.1.2.1. Pré-identification de sites potentiels	16
3.1.2.2. L'approche par stratification	17
3.2. Les sites témoins (contrôles).....	17
3.3. La réplication spatiale de l'expérience	18
3.4. La dimension temporelle	19
3.5. Les principaux types de plans expérimentaux.....	20
3.5.1.1. Combinaisons possibles spatiales et/ou temporelles	20
3.5.1.2. Le B(D)ACI	24
3.6. Les variables à mesurer	26
3.6.1. Quelques mesures fréquemment utilisées en écologie pour les variables d'intérêt.....	26
3.6.2. La notion de proxy	26
4. Synthèse.....	27
4.1. Récapitulatif des biais dans un protocole.....	27
4.1.1.1. Le biais de détection	27
4.1.1.2. Le biais d'attrition	27
4.2. L'importance des analyses statistiques.....	29
5. Documents de synthèse pré-existants.....	29
6. Références citées	30
7. Index des figures	32
8. Index des tableaux.....	32

1. CONTEXTE

1.1. Le projet COHNECS-IT

L'UMS PatriNat, accompagnée de l'Institut National de Recherche en Sciences et Technologies pour l'Environnement et l'Agriculture (Irstea), de l'Université Pierre et Marie Curie (UPMC), du Centre d'Études et d'Expertise sur les Risques, l'Environnement, la Mobilité et l'Aménagement (Cerema) et de l'Institut National de la Recherche Agronomique (Inra), a été sélectionnée en 2014 dans le cadre d'un appel à projet pour la réalisation d'une revue systématique. Cet appel avait été lancé par le Club des Infrastructures Linéaires & Biodiversité (CILB), le Ministère de l'environnement (à travers le programme de recherche ITTECOP¹) et la Fondation pour la recherche sur la biodiversité (FRB).

Le projet proposé par l'UMS PatriNat et ses partenaires, intitulé COHNECS-IT² (*Connectivité longitudinale et potentiel d'Habitat des dépendances vertes en fonction de leur Nature, des Espèces et du Contexte : une revue Systématique sur les Infrastructures de Transport*), vise à mieux comprendre le rôle d'habitat et/ou de corridor pour la biodiversité des dépendances vertes des infrastructures de transport. Débuté en 2015, il se déroule en plusieurs phases. Après la publication du protocole de la revue (Jeusset *et al.*, 2016), une revue systématique a été publiée sur les insectes (Villemey *et al.*, 2018) et une autre est en cours de préparation sur les vertébrés (Ouedraogo *et al.*, *in prep*).

1.2. La méthode des revues systématiques et son analyse critique

La revue systématique est une méthode rigoureuse et standardisée pour synthétiser de la bibliographie proposée à l'échelle internationale par la Collaboration for Environmental Evidence³ (CEE) (pour mieux comprendre cet outil à travers l'expérience de COHNECS-IT, le lecteur peut consulter Sordello *et al.*, 2017). La publication des revues systématiques dans le journal « officiel » affilié à la CEE - « Environmental Evidence Journal » - constitue une forme d'accréditation qui garantit le respect de cette méthode.

L'une des étapes que comprend dans la méthode des revues systématiques est l'analyse critique des publications (« *critical appraisal* ») (CEE, 2018⁴). Réalisée après une première phase de tris successifs, cette analyse critique vise à étudier les publications sur le fond car la revue systématique a vocation à n'exploiter que les publications les plus rigoureuses sur le plan scientifique.

Pour ce faire, dans le cadre du projet COHNECS-IT, une grille d'analyse critique a été produite. Celle-ci est le fruit d'une réflexion menée par l'équipe projet MNHN (UMS, CESCO)/Irstea. Une dizaine d'écologues (MNHN, Cerema, Universitaires, FRB, *etc.*) ont aussi été associés à cette réflexion. Une journée de travail a été organisée avec eux en juin 2015 pour réfléchir collectivement à ce que pourrait être le « protocole idéal » permettant de répondre à la/les question(s) posée(s) par la revue systématique COHNECS-IT.

1.3. L'objectif de ce rapport

En capitalisant sur l'expérience de COHNECS-IT, l'objectif de ce rapport est de dresser **une synthèse des points fondamentaux qui procurent de la robustesse aux protocoles expérimentaux en écologie**. A notre connaissance il n'existe pas de document de ce type en français, accessible facilement aussi bien pour les chercheurs que pour les acteurs opérationnels (gestionnaires, aménageurs, ...) souhaitant par exemple engager des appels à projet.

¹ Il s'agit d'un programme de recherche incitatif porté par le Ministère de l'environnement, en coordination avec l'Agence de l'Environnement et de la Maîtrise de l'Énergie (ADEME) pour confronter les enjeux techniques des infrastructures de transport et leurs emprises en incluant les dimensions paysagères et écosystémiques

² <http://cohnecsit.mnhn.fr/>

³ <https://www.environmentalevidence.org/>

⁴ Voir la Section 8 « Critical appraisal of study validity » : <http://www.environmentalevidence.org/guidelines/section-8>

2. DE L'INVENTAIRE DE TERRAIN A L'ÉCOLOGIE EXPERIMENTALE

2.1. Inventaires naturalistes, suivis et surveillances, études scientifiques

Il existe plusieurs types d'études de terrain en écologie (Bouget & Nagelesin, 2009) et notamment (cf. Figure 3) :

- les inventaires naturalistes,
- les suivis ou surveillances,
- les études de recherche.

D'après Ichter *et al.* (2014) et le projet CAMPanule (2017), un inventaire naturaliste est le **recensement** le plus exhaustif possible d'un ensemble de données d'occurrence de taxons ou d'habitats, avec une délimitation géographique précise et une durée limitée. L'objectif peut être de définir les lieux de présence d'un taxon (inventaire de distribution) ou de lister les espèces observables dans le périmètre (inventaire de site).

Au sens large, un suivi désigne la répétition de mesures dans le temps afin de permettre la comparaison des paramètres observés. Lorsque les mesures sont effectuées sans hypothèse de base à vérifier, on parle de surveillance, ou de veille écologique, qui permet de détecter des changements ou des tendances d'évolution sans information sur les processus sous-jacents ou les causes. Dans certains cas, des suivis scientifiques élaborés peuvent

permettre de tester une ou plusieurs hypothèses et d'établir des corrélations entre les variables observées. Dans le langage courant, le terme de « suivi » est souvent utilisé indifféremment pour désigner ces deux types d'approches (« surveillance simple » et « suivi scientifique élaboré »).

Les modalités de collecte peuvent être **encadrées par un protocole (inventaire/suivi protocolé) ou non (contact opportuniste par exemple)**. Un protocole est défini comme le plan d'étude détaillé expliquant comment les données doivent être collectées afin de répondre à la question posée. Le protocole détermine les règles d'échantillonnage, les techniques de collecte à mettre en œuvre et les règles complémentaires d'application : période de mise en œuvre, effort, etc. (d'après Ichter *et al.* (2014) et le projet CAMPanule).

L'existence d'un protocole permet la reproductibilité spatiale et/ou temporelle de l'étude, éventuellement par d'autres opérateurs, ainsi qu'une meilleure compréhension des modalités de collecte en vue de l'analyse des données. C'est une façon de limiter l'incertitude liée à différents facteurs, notamment à la variabilité naturelle spatiale et/ou temporelle des communautés ainsi que le biais inter-opérateurs inhérent au facteur humain.

Les inventaires et les suivis en écologie se sont considérablement développés, professionnalisés et perfectionnés au cours des dernières années, notamment sous l'impulsion du Système d'Information sur la Nature et les Paysages (SINP) et des Observatoires Régionaux de Biodiversité (ORB), ainsi que dans le cadre de la mise en œuvre de la directive cadre sur l'eau, qui impose la mise en place d'un réseau de surveillance aux différents Etats

Référencer les méthodes d'étude de la biodiversité : le projet CAMPanule

Le projet CAMPanule (catalogue des méthodes et protocoles) a pour objectif de constituer un référentiel des techniques, méthodes et protocoles d'acquisition de données de biodiversité en France. Constitué d'une base de données informatique qui recense et caractérise les dispositifs, le catalogue est conçu et complété avec l'appui de nombreux partenaires. Cette liste de référence pourra ainsi être mobilisée lors de la saisie des données naturalistes, mais également en amont, lors du choix de la méthodologie, ainsi qu'en aval afin de compléter l'analyse et la valorisation des données.

Pour plus d'informations :

<http://campanule.mnhn.fr/>

Membres. Ces démarches sont essentielles pour avoir une connaissance précise et sur le long terme de l'état de la biodiversité. Néanmoins, les inventaires comme les suivis conservent une approche descriptive et observationnelle. En effet, si grâce aux suivis, des évolutions et des changements peuvent être détectés (ex : évolution des effectifs d'une population), il n'est pas possible d'en comprendre les processus sous-jacents et encore moins les causes, sauf dans certains cas particuliers de suivis scientifiques élaborés.

Or, dans le contexte actuel d'une érosion massive de biodiversité, si l'on espère pouvoir agir, et agir de manière efficace, il est indispensable d'identifier les facteurs qui engendrent les variations observées de la biodiversité pour prédire son évolution suite aux changements environnementaux naturels ou anthropiques. Par exemple, il est nécessaire de pouvoir vérifier la pertinence de telle pratique de gestion d'un espace naturel ou semi-naturel (ex : effets de la fauche sur les papillons) ou de mesurer l'impact de telle activité humaine ou d'un mode d'artificialisation (ex : effet de l'éolien sur les oiseaux, effet de l'urbanisation sur la flore). Pour cela, le développement d'études particulières plus ciblées est incontournable : c'est l'objet des études de recherche et en particulier de la recherche appliquée (dite « opérationnelle »).

Cette compréhension des processus est essentielle pour les gestionnaires d'espaces naturels et les décideurs. Aujourd'hui, les aménageurs eux-mêmes aspirent à mieux évaluer l'impact de leurs pratiques et de leurs activités dans l'optique d'en réduire les effets néfastes. De nombreuses problématiques restent cependant encore inexplorées ou lacunaires dans le domaine de la biodiversité (ex : impacts de la pollution sonore ou olfactive). Il est donc primordial de développer des études de recherche pour accroître cette connaissance scientifique. Or, ce genre d'études nécessite la mise en place de protocoles conçus spécifiquement pour répondre aux questions posées. **Ce rapport a vocation à synthétiser les éléments les plus importants pour construire de tels protocoles, dits « protocoles expérimentaux », dans le cadre de ce type de besoin.**

2.2. Expérience et protocole expérimental

2.2.1. Etudes descriptives et études expérimentales

Au sein des études de recherche, on peut distinguer (cf. Figure 1 et Tableau 1) :

- les **études descriptives (ou « observationnelles »)**. Elles n'effectuent aucune expérimentation. L'observateur va procéder à des mesures d'un paramètre qu'il souhaite étudier, dans des contextes différents, mais sans maîtriser lui-même ce paramètre. Ces études, qui sont encore largement réalisées, peuvent en général mettre en évidence uniquement des corrélations car, souvent, le facteur étudié ne peut pas être isolé d'autres variables potentiellement influentes sur la population considérée (Underwood, 1991).

- les **études expérimentales (encore appelées « démonstratives » ou encore « manipulatoires »)** qui se traduisent par une expérience, comme le nom l'indique. Ces études cherchent à définir des **liens de causes à effets**. En écologie appliquée, l'objectif de cette approche est généralement de comprendre l'effet d'une perturbation (anthropique ou non) sur la biodiversité. Elles sont largement répandues dans le champ de la recherche fondamentale, chaque fois que l'on cherche à mettre en évidence des *processus écologiques*.

Une étude expérimentale est souvent plus lourde (en temps et en moyens) et plus complexe à mener qu'une étude observationnelle. En revanche, son résultat est beaucoup plus puissant car elle peut mettre en évidence une **causalité (plus ou moins statistiquement significative)**.

Gosselin *et al.* (2018) distinguent plusieurs sources de connaissances parmi lesquelles se trouvent :

- la connaissance « non-scientifique » (issue des croyances, conviction, représentations, ...),
- la connaissance empirique (issue du savoir expérimentiel),
- la connaissance basée sur les démonstrations et preuves (« *evidence-based knowledge* ») – alimentée notamment par les études expérimentales et aussi par certaines études descriptives.

Entre les études descriptives et les études manipulatoires on peut en effet trouver aussi des études de niveau intermédiaire : elles ne sont pas manipulatoires dans le sens où il n'y a pas modification du milieu par les observateurs mais leur plan d'échantillonnage a été construit pour étudier un facteur en particulier. Ces études

peuvent constituer une alternative intéressante lorsque l'approche manipulative n'est pas envisageable pour diverses raisons (pragmatiques, éthiques, *etc.*).

Possibilité	Description	Avantages	Inconvénients
Observatoire	Poser des pièges photographiques en suivant un gradient de pollution lumineuse pré-existant et étudier les différences d'occupation de l'espace des mammifères selon l'éclairage de chaque site	- Utilisation des éclairages existants - Mise en œuvre assez facile (choix des sites, systèmes déjà installés)	Nombreux facteurs confondants et biais liés à l'urbanisation au sens large (débranchement, bruit, ...)
Manipulatoire	Installer des éclairages en sites « obscures » et comparer les fréquentations par les mammifères sur ces sites avec des sites similaires mais non éclairés	- Maîtrise des facteurs confondants et des biais (urbanisation, cycles saisonniers, ...) - Etude d'une perturbation précise (éclairage)	Difficulté pour trouver des sites optimaux et pour mettre en place le dispositif (éclairages)

Tableau 1 : Etude observatoire *versus* étude manipulative.

Deux types d'étude possibles - descriptives (observatoires) et expérimentales (manipulatoires) - envisagées ici pour mesurer l'effet de la lumière artificielle sur des mammifères.

Source : Douglazet, 2016

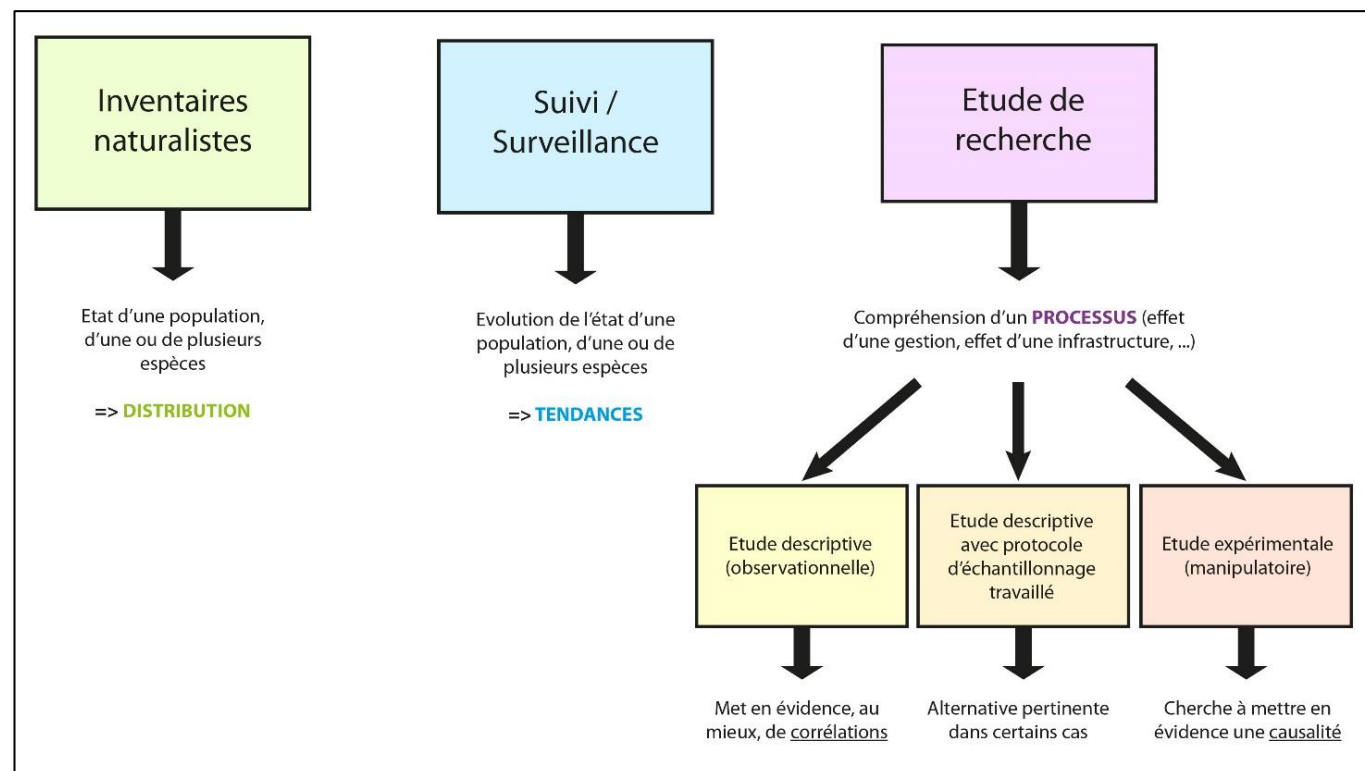


Figure 1 : Récapitulatif des différents types d'études de terrain.

Source : UMS PatriNat, 2019

2.2.2. Qu'est-ce qu'un protocole expérimental ?

Comme expliqué précédemment, une étude expérimentale se réalise dans l'objectif de **répondre à une question précise**. Son objectif est d'établir une ou des relation(s) de causalité entre les variations d'un ou plusieurs facteur(s) et ses effets sur un ou plusieurs paramètre(s) biologique(s) ou écologique(s).

Pour cela, l'expérimentation comporte **cinq grandes étapes** (Underwood, 2009 ; Hurlbert, 1984) : la formulation de l'hypothèse, le protocole expérimental, l'exécution de l'expérience, les analyses statistiques puis l'interprétation (cf. Figure 2).

La formulation de l'hypothèse est donc la première étape déterminante. Il s'agit **d'une affirmation** (par exemple dans le cas de COHNECS-IT : les dépendances de voies ferrées constituent des corridors pour les vertébrés), énoncée en réponse à la question posée, et que l'on cherche justement à confirmer ou infirmer par une expérience.

Le protocole expérimental correspond à la **procédure envisagée pour réaliser cette expérience devant tester la validité de l'hypothèse**. Fisher (1971) le définit comme la « structure logique de l'expérience ». C'est le plan détaillé et complet expliquant comment l'expérience se déroulera (Hurlbert, 1984). Il développe aussi bien l'organisation temporelle et spatiale de l'expérience que les différentes tâches à mener et le matériel nécessaire.

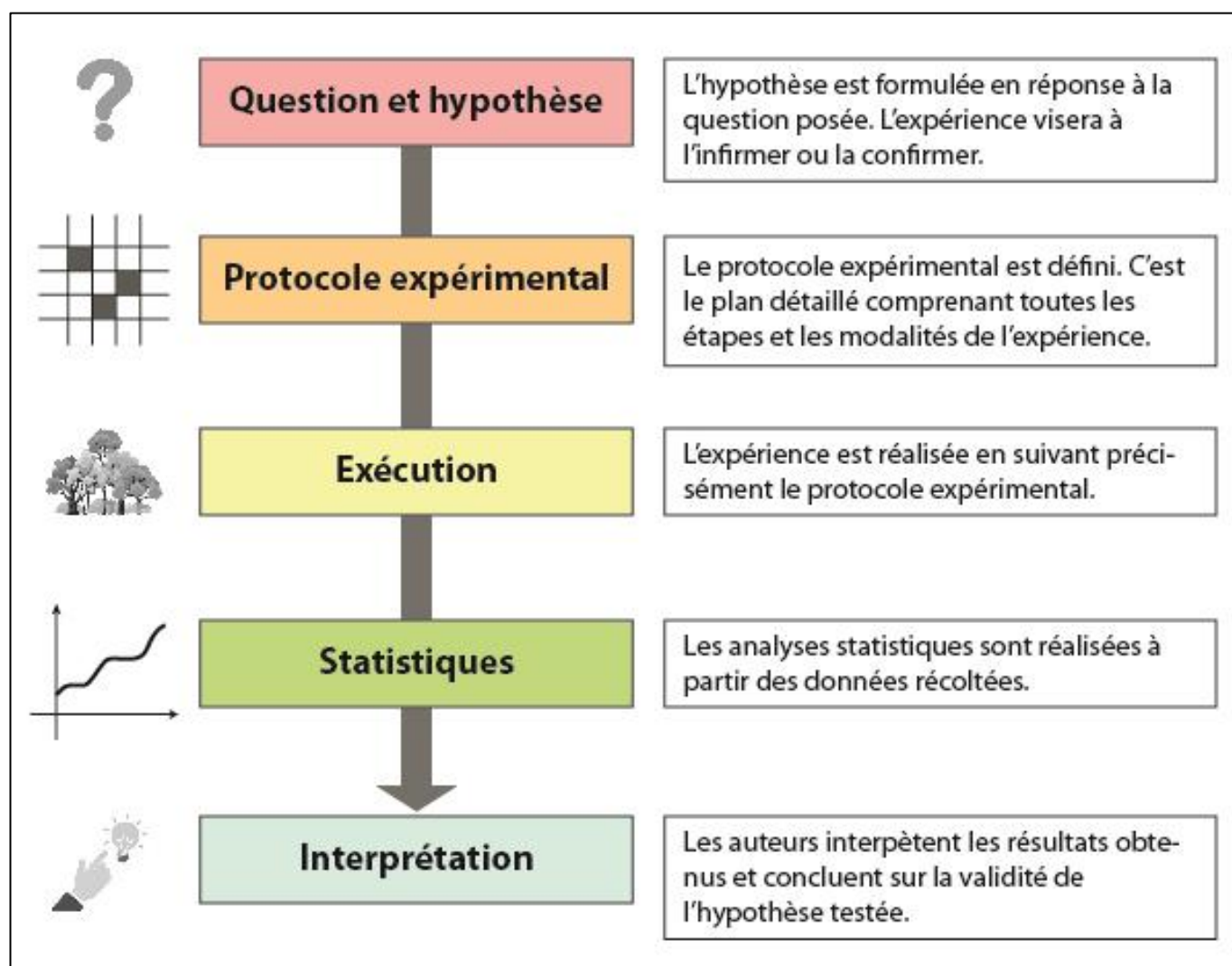


Figure 2 : Les cinq grandes étapes d'une expérimentation

Source : UMS PatriNat, 2019

Un protocole expérimental doit garantir **la transparence et la répliquabilité** de l'expérience. Il est donc aussi indispensable aux auteurs de l'expérience qu'aux pairs souhaitant comprendre, évaluer ou reproduire l'expérience (Parker *et al.*, 2016b).

Toutes les informations relatives au protocole expérimental doivent être décrites en détails dans la partie « matériel et méthode » de la publication (article, rapport, ...) associée à l'expérience. Or, l'état de la littérature montre justement que de nombreuses publications présentent des méthodes insuffisamment détaillées (Parker *et al.*, 2016a ; Hulard, 2019). Cela compromet leur répliquabilité, leur usage dans les macro-études (méta-analyses, revues systématiques) et plus largement la possibilité de comprendre comment le résultat a été obtenu par les auteurs. Parfois, le manque d'information touche à des aspects de l'étude aussi essentiels que la taille de l'échantillon (« *sample size* ») (Haddaway & Verhoeven 2015).

2.3. Les deux grands types de phénomènes étudiés en écologie : l'intervention et l'exposition

En écologie, les phénomènes généralement étudiés peuvent faire référence à une **intervention** ou à une **exposition** (cf. Tableau 2).

Dans le cas d'une intervention : L'expérience cherche alors à comprendre l'effet de cette intervention (sur la biodiversité). Par exemple : quel est l'effet d'une fauche biannuelle sur la richesse spécifique de lépidoptères d'une dépendance de route ?

Dans le cas d'une exposition : L'expérience cherche alors à comprendre l'effet sur la biodiversité d'être exposée à telle ou telle situation/structure/substance/... Par exemple : quelle conséquence pour la biodiversité d'être exposée à une route ?

	Exposition	Intervention
Principe	Une infrastructure, une situation, une pollution, ... à laquelle on expose une population (<i>tout ou partie de la biodiversité par exemple pour des études en écologie</i>)	Une action (mesure de gestion ou de restauration, construction, activité humaine, ...), délimitée dans le temps (possibilité de définir un avant/après intervention) dont on cherche à mesurer l'effet sur une population (<i>tout ou partie de la biodiversité par exemple pour des études en écologie</i>)
Exemples	<p>L'exposition à une infrastructure de transport impacte-t-elle l'abondance en insectes sur la dépendance ?</p> <p>Le bruit anthropique impacte-t-il la biodiversité ?</p> <p>La perméabilité du paysage augmente-t-elle la richesse spécifique ?</p>	<p>Quel est l'effet de la dépoldérisation sur les communautés d'oiseaux ?</p> <p>Sous quelles conditions la translocation manuelle d'espèces est-elle efficace ?</p> <p>Quel est l'effet des pratiques de gestion forestière (l'éclaircie, coupe partielle et élimination d'arbres dominés) sur l'abondance et la diversité de plantes vasculaires ?</p>

Tableau 2 : Exposition versus intervention – définition et quelques exemples

La nuance peut être subtile entre ces deux catégories de perturbations et il faut prendre le temps de bien préciser la perturbation que l'on souhaite étudier (par exemple si on s'intéresse à l'effet des routes, vise-t-on l'effet de la construction d'une route (intervention) ou l'effet d'une route existante (exposition) ?). Parfois, un même

phénomène pourra être vu comme une intervention sur la biodiversité ou comme un phénomène auquel la biodiversité est exposée. Par exemple, concernant l'éclairage nocturne, il serait possible d'étudier :

- l'effet de la lumière artificielle sur la biodiversité (quelle différence pour la biodiversité avec la situation de référence qui est la nuit naturelle sans éclairage artificiel nocturne ?) ; ce qui amènera ici à s'intéresser à une exposition (à la lumière),

- l'efficacité de telle ou telle pratique de gestion de l'éclairage (ex : quel effet de la pratique d'extinction en cœur de nuit par rapport aux zones où l'éclairage est maintenu toute la nuit ?) ; ce qui amènera ici à s'intéresser à une intervention (extinction ou non de l'éclairage). On peut également s'intéresser aussi bien à la durée d'éclairage, à la quantité de lumière, à la composition de la lumière... ; il faut donc être le plus précis possible sur l'intervention qui est visée (changement des horaires, abaissement des puissances, modification des spectres lumineux).

Dans le cas d'une intervention, **trois états possibles du site d'étude** où l'intervention est menée peuvent être distingués : **avant, pendant et après l'action menée** (Smith, 2002 ; Underwood, 1991) (cf. Tableau 3).

Au final, le fait de disposer d'un état initial et post-traitement permet une **comparaison temporelle** (avant et après) par rapport au moment de l'intervention. Un autre type de comparaison existe, la **comparaison spatiale** (site traité/site témoin) ainsi qu'une **combinaison des deux types de comparaisons** (avant/après + témoin). Dans le cas d'une exposition, la comparaison temporelle avant/après exposition peut parfois s'envisager mais la comparaison recherchée - pour être rigoureux - devra surtout être spatiale, c'est-à-dire entre sites exposés et sites non exposés.

Etat considéré	Description	Exemple 1 - Effets de la construction d'une route	Exemple 2 - Effets de la dépollérisation	Exemple 3 - Effet de la fauche
Etat initial (<i>Before</i>)	Etat du site avant l'intervention	Site avant la construction d'une route	Site avec polder	Site avant fauche
Etat perturbé (<i>During</i>)	Etat du site pendant l'intervention	Site pendant le chantier de construction d'une route	Site pendant retrait du polder	Site pendant la fauche
Etat post-perturbation (<i>After</i>)	Etat du site après l'intervention	Site après la construction d'une route	Site après dépollérisation	Site après la fauche

Tableau 3 : Les différents états d'un site d'étude

Remarques :

- les phases avant et après peuvent **durer plus ou moins longtemps et être placées à des distances temporelles variables** de l'intervention (ex : un « *état post-perturbation* » peut se situer 1 an après, 5 ans après ou 10 ans après, avec des résultats possiblement différents à chaque fois),

- la phase « **état perturbé** » correspondant à l'état du site pendant l'intervention, **n'est pas pertinente dans tous les cas**. Par exemple, dans le cas d'une fauche, cette intervention étant rapide, il est difficile d'isoler réellement une étape « pendant l'intervention » et de la localiser (sur la partie déjà fauchée, sur la partie non-fauchée, à 1 mètre du tracteur ?).

Enfin, il faut noter que **toute intervention n'est pas une expérience**. En effet, pour qu'une intervention soit une expérience elle nécessite d'être parfaitement contrôlée et donc idéalement réalisée par les observateurs eux-mêmes. Dans le cas contraire cela revient logiquement à une étude descriptive.

Néanmoins, comme décrit précédemment, des études de niveau intermédiaire peuvent être faites pour étudier une intervention sans qu'elles soient nécessairement manipulatoires, si le protocole d'échantillonnage est bien réfléchi. **Étudier une intervention n'implique donc pas forcément une étude expérimentale.**

Par exemple, si l'objectif est de mesurer l'effet de l'éclairage nocturne sur des chauves-souris, l'expérience idéale est celle où l'observateur maîtrise lui-même l'éclairage des sites d'études ; néanmoins, si le choix des sites d'études est bien pensé en fonction des modalités de gestion de leur éclairage, l'étude est envisageable sans que l'observateur n'intervienne lui-même sur l'éclairage.

Au final, il existe un **continuum de méthodes plutôt qu'une dichotomie franche entre les études descriptives et les études manipulatoires** et la portée des conclusions tirées d'une expérimentation dépendra de l'ensemble de ces critères de méthode.

2.4. Les premières étapes avant le montage du protocole expérimental

2.4.1. Bien poser la question de recherche : l'outil PECO / PICO

C'est une étape fondamentale car c'est de cette question dont la suite découle. Comme expliqué précédemment, un protocole est toujours construit pour répondre à une question.

La première étape est donc de **bien identifier, préciser et formuler clairement cette question**. Pour aider à cela, on peut utiliser la méthode du PICO/PECO selon que l'on étudie une intervention ou une exposition. Il s'agit de découper la question en différents items récapitulés ci-dessous (cf. Tableau 4).





	Lettre	Définition...	...pour une intervention	...pour une exposition
	P	Population	Population sur laquelle on mesure l'effet direct ou indirect de l'intervention	Population sur laquelle on mesure l'effet de l'exposition
	I/E	Intervention ou Exposition	Intervention pratiquée ayant potentiellement un effet direct ou indirect sur la population	Ce à quoi la population est exposée
	C	<i>Comparator</i> (Comparateur)	Avec quoi compare-t-on l'effet de l'intervention (témoin de contrôle) ?	Avec quoi compare-t-on l'effet de l'exposition (témoin de contrôle) ?
	O	<i>Outcomes</i> (Mesures)	Ce que l'on mesure et ce à quoi on s'attend à la suite de l'intervention	Ce que l'on mesure et ce à quoi on s'attend à la suite de l'exposition

Tableau 4 : Explication du PICO/PECO pour une intervention et une exposition.

La question initiale peut venir des chercheurs eux-mêmes ou de commanditaires (ex : gestionnaires, décideurs). Dans ce deuxième cas, il est fréquent que la question initiale doive être transposée en une question de recherche et il est d'autant plus important de faire ce travail avec les commanditaires pour être certain qu'il n'y a pas d'ambiguïté sur la question retenue.

Il est habituel aussi que la première question formulée soit trop vaste et comprenne en fait plusieurs sous-questions emboîtées dans la question « générale » (ex : « quel est l'impact du changement climatique sur les papillons ? » est une question très vaste qui implique de très nombreuses expériences). C'est un écueil fréquent des études en conservation de la nature (Baylis *et al.*, 2015). Il doit en réalité y avoir autant d'expériences - et donc de protocoles - que de sous-questions. Il est donc nécessaire, là encore, d'affiner au maximum la question avant de passer à l'étape du montage du protocole pour éviter de tester en même temps trop d'hypothèses et aboutir au final à des résultats trop souvent inexploitable.

2.4.2. Identifier la variable d'intérêt et les facteurs confondants

Il est essentiel dans une expérience de **maintenir constants tous les facteurs autres que celui dont on cherche à mesurer l'influence sur la population étudiée, que l'on appelle la « variable d'intérêt »**. Les autres paramètres doivent parfois non seulement être constants mais aussi « satisfaits ». Par exemple, si je souhaite étudier de manière contrôlée l'effet de la quantité d'eau apportée sur la croissance de la végétation mais que sur mon site d'étude le niveau de fertilité du sol est constant mais nul (non « satisfait »), de fait, aucune croissance végétative n'aura lieu quelle que soit la quantité d'eau, donc l'expérience est ici compromise.

Dans la réalité, il n'est néanmoins pas toujours possible de maintenir constants et satisfaits tous les paramètres. On appelle alors « **facteurs confondants** » ou « facteurs de confusions » les éléments « parasites » qui agissent sur la population étudiée et qui sont donc susceptibles de faire varier le résultat de l'étude (Bouget & Nageleisen, 2009). Par exemple, si une expérience vise à étudier l'effet de l'éclairage nocturne sur des chauves-souris et que l'étude est menée en ville, de nombreux paramètres interféreront avec l'éclairage artificiel car la ville comprend du bruit, des sols imperméabilisés, une structure de végétation particulière.

Le problème apparaît si ces facteurs varient avec le facteur d'intérêt (par exemple ici si le bruit et l'imperméabilisation des sols sont statistiquement plus forts en zones éclairées que non éclairées). Il sera alors très difficile d'attribuer avec certitude les résultats de l'étude précisément à l'éclairage nocturne même si les observateurs contrôlent l'allumage/extinction de l'éclairage (étude expérimentale).

Il est donc primordial dès le départ de bien identifier les facteurs susceptibles de faire varier le résultat. Le protocole expérimental, et en particulier l'échantillonnage, auront ensuite pour but de sélectionner des sites qui ne contiennent aucune forme de perturbation ou de carence de manière à pouvoir faire varier par manipulation le paramètre à étudier (ex : ajout ou non de lumière artificielle).

En écologie, la suppression des facteurs confondants pour isoler totalement la variable d'intérêt est une vraie difficulté (Baylis *et al.*, 2015). Les études *in-situ* se confrontent nécessairement à la présence de facteurs parasites qui agissent parfois à distance (ex : pollutions).

S'ils ne peuvent être maîtrisés, l'important est avant tout de **connaître ces facteurs confondants et de les mesurer au cours de l'expérimentation pour pouvoir les intégrer à l'analyse**. A l'aide d'analyses statistiques multicritères il est en effet possible de connaître l'influence de chaque facteur (et donc du facteur d'intérêt) tout en prenant en compte l'effet des autres facteurs.

Toutefois, plus le nombre de facteurs confondants augmente, plus la variabilité que l'on cherche à étudier s'avère statistiquement difficile à mettre en évidence, d'autant plus que le nombre d'observations est faible.

3. LES PRINCIPAUX POINTS CLEFS D'UN PROTOCOLE EXPERIMENTAL EN ECOLOGIE

3.1. Le plan d'échantillonnage

Une expérience peut être menée *in-situ* (sur le terrain) ou *ex-situ* (laboratoire). Ici, nous nous intéresserons uniquement aux expériences *in-situ* qui sont les plus fréquentes en écologie.

Les expériences *in-situ* impliquent de choisir un - ou généralement plusieurs sites - pour mener l'expérimentation. Le choix du/des sites d'expérimentation correspond au **plan d'échantillonnage**. Ce dernier a ainsi une influence directe sur les résultats qui seront obtenus.

Le terme « d'échantillonnage » est employé parce que, dans la grande majorité des cas, l'expérimentation ne peut pas (pour des raisons pragmatiques évidentes) être menée sur l'ensemble de la population étudiée (par exemple si on étudie les effets d'une perturbation sur telle espèce on ne peut mener cette expérience sur tous les endroits où cette espèce est présente). Il est donc nécessaire de prendre un échantillon de cet ensemble. Le ou les terrains choisis pour l'expérimentation constitueront ainsi un échantillon de tous les terrains possibles sur lesquels l'expérience aurait pu être menée (si les moyens l'avaient permis, idéalement). Tout l'enjeu est alors que cet échantillon soit **représentatif** du tout (Bouget & Nageleisen, 2009), pour permettre ensuite une généralisation des résultats obtenus.

Par ailleurs un site d'étude constituant le terrain sur lequel l'expérience est menée, ce terrain doit être propice à l'expérience. D'une part, il ne doit comporter aucun facteur confondant, dans l'idéal, comme expliqué précédemment.

3.1.1. Le choix des sites d'études

Pour choisir des sites d'expérimentation, il existe plusieurs méthodes d'échantillonnage permettant d'assurer une plus ou moins grande représentativité de l'ensemble par l'échantillon que représentent les sites d'études (Bouget & Nageleisen, 2009). Ce rapport présente trois méthodes en particulier :

- **méthode aléatoire ou semi-aléatoire,**
- **méthode systématique,**
- **méthode dirigée.**

3.1.1.1. Méthode aléatoire ou semi-aléatoire

Dans une méthode aléatoire, les sites sont sélectionnés **totalemment au hasard**. Dans une méthode semi-aléatoire, la sélection comporte toujours une part aléatoire mais celle-ci se fait **à l'intérieur d'un ensemble de possibles** choisis préalablement et elle est donc orientée. Une pré-sélection de sites optimaux est effectuée par les observateurs, par exemple sur la base de critères paysagers ou naturalistes (photographies aériennes, pré-visites de terrain, données existantes...). Puis, via un tirage au sort, le nombre de sites nécessaires à l'étude sont choisis parmi ce pool de sites éligibles. Cette méthode est souvent utilisée en écologie car elle permet d'introduire une dimension aléatoire tout en s'assurant d'avoir des sites pertinents (ex : sélectionner les zones urbanisées lorsqu'on veut étudier la biodiversité en ville) pour la manipulation envisagée.



Figure 3 : Echantillonnages aléatoire (à gauche) et semi-aléatoire (à droite).

Sélection aléatoire totale à gauche. A droite, la sélection est semi-aléatoire : les sites ont été tirés au sort parmi un ensemble de sites pré-définis.

Source : UMS PatriNat, 2019

3.1.1.2. Méthode systématique

On retrouve cette méthode dans le Réseau de suivi de la qualité des sols (RMQS). Elle peut être mise en œuvre notamment à l'aide d'une grille appliquée à la zone d'étude. La sélection peut alors s'effectuer en choisissant par exemple une intersection sur deux, ou sur trois, ... Les sites peuvent aussi être tirés au sort sur l'intersection de la grille, auquel cas la sélection est donc dite « semi-systématique ».

A noter qu'en écologie, dans les faits, la méthode systématique peut s'apparenter à une méthode aléatoire si les caractéristiques des sites varient de façon aléatoire au sein de la zone d'étude et que la grille est appliquée sans « postulat » sur cette zone d'étude.

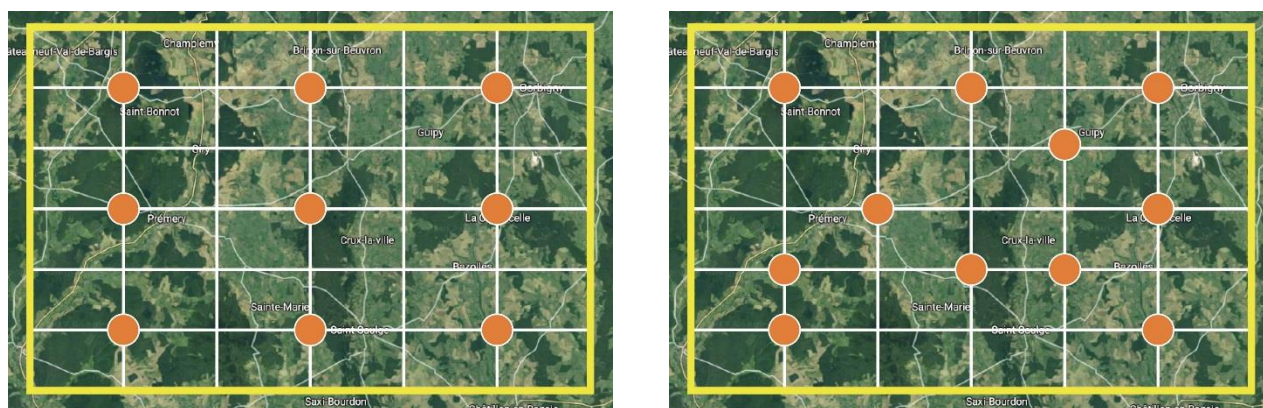


Figure 4 : Echantillonnage systématique et semi-systématique.

A gauche, les sites sont choisis toutes les deux intersections de grille (systématique). A droite, les sites sont choisis aléatoirement sur des intersections de la grille (semi-systématique).

Source : UMS PatriNat, 2019

3.1.1.3. Méthode dirigée

Dans la méthode dirigée, les sites sont choisis spécifiquement par les auteurs de l'étude sans aucune dimension de hasard. Les sites sont sélectionnés par les observateurs pour leurs caractéristiques identifiées d'avance (ex : des sites le long d'un gradient d'intensité des pratiques agricoles, toutes les autres sources de variations étant autant contrôlées que possible). De premier abord, la méthode dirigée paraît la moins robuste puisqu'elle est très orientée par les auteurs. Néanmoins, il peut y avoir des échantillonnages dirigés pour retrouver les sites utilisés dans une méthode précédente ou sujets à des mesures effectuées pour d'autres expérimentations et la méthode dirigée peut donc être la plus appropriée dans certains cas.

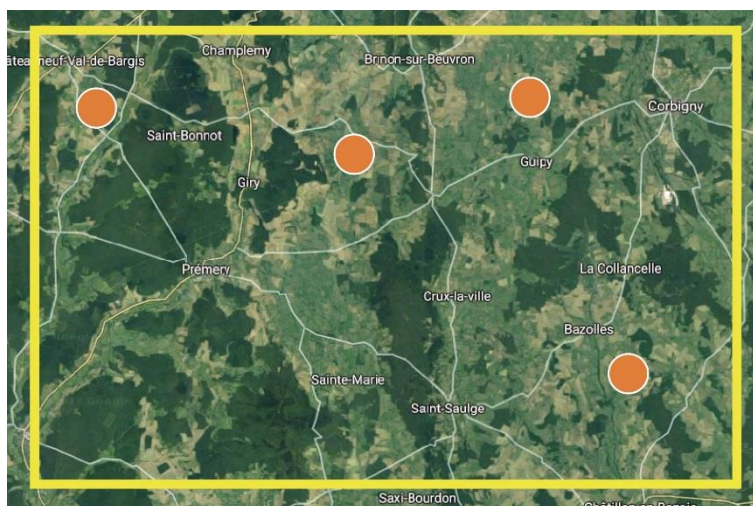


Figure 5 : Echantillonnage dirigé.

Les sites sont choisis spécifiquement par les observateurs, par exemple parce qu'ils sont connus pour héberger l'espèce recherchée.

Source : UMS PatriNat, 2019

3.1.2. Le macro-plan d'échantillonnage

3.1.2.1. Pré-identification de sites potentiels

Selon l'expérimentation envisagée il est nécessaire de distinguer d'abord un ensemble de sites potentiels pouvant devenir éventuellement des sites d'études. Les sites d'études sont choisis ensuite, parmi les sites potentiels, avec une méthode aléatoire, systématique ou dirigée.

Par exemple, si la question à laquelle l'expérimentation doit répondre concerne les bords de routes, il est indispensable que les sites d'études soient des bords de routes. Les sites potentiels, c'est-à-dire candidats pour être des sites d'études sont donc l'ensemble des bords de routes et non pas l'ensemble de la zone géographique considérée initialement. Puis, parmi cette aire d'étude (les bords de routes), les sites d'études peuvent être choisis par :

- méthode aléatoire : les tronçons de routes sont tirés au hasard sur les bords de route,
- méthode semi-aléatoire : les bords de routes en forêt sont exclus et les tronçons de routes sont donc piochés aléatoirement parmi les bords de routes en dehors des forêts,
- méthode systématique : les tronçons de routes sont sélectionnés à équidistance sur les bords de routes (ex : tous les kilomètres),
- méthode dirigée : seuls les sites d'études situés à des intersections de routes sont sélectionnés.

3.1.2.2. L'approche par stratification

Dans la même idée, il est possible voire indispensable d'effectuer un échantillonnage dit « stratifié ». Avec cette approche, des sites sont choisis au sein de différents sous-ensembles. Les catégories de sites peuvent être identifiées préalablement sur le terrain (ou par photographies aériennes, images satellites...). La sélection des sites à l'intérieur de chaque catégorie peut se faire ensuite par l'une des trois méthodes présentées ci-dessus : aléatoire totale/semi-aléatoire, systématique ou dirigée. La stratification revient ainsi, en quelque sorte, à un « macro plan d'échantillonnage ».

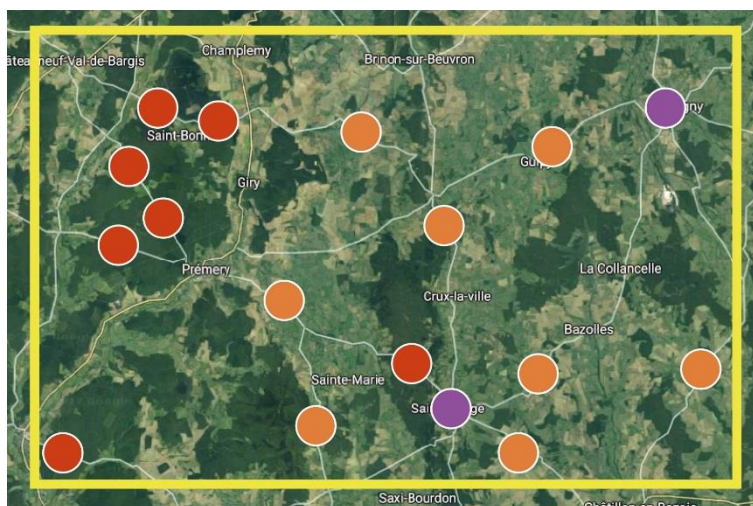


Figure 6 : Exemple d'une approche par stratification

Les tronçons de routes (sites d'études) sont choisis selon des méthodes d'échantillonnage différentes en fonction du milieu traversé par les routes.

Source : UMS PatriNat, 2019

3.2. Les sites témoins (contrôles)

Le site « témoin » (ou « contrôle ») est un site sur lequel il n'y a ni exposition ni intervention c'est-à-dire où la perturbation appliquée/existante sur le site traité est absente. Idéalement, tous les autres paramètres doivent être identiques entre le site traité et le site témoin, autant que cela est possible dans le milieu naturel (Smith *et al.*, 1993 ; Underwood, 1991). Le site témoin doit également être suffisamment éloigné du site traité pour ne pas être perturbé par ce dernier. Dans le même temps, il doit être suffisamment proche pour être considéré sous l'influence des mêmes facteurs naturels (comme les conditions climatiques par exemple) (Stewart-Oaten *et al.*, 1986).

Ce site témoin peut être considéré comme un état de référence auquel les effets mesurés sur le site traité seront comparés. Il s'agit donc d'un **comparateur spatial**, contrairement au comparateur temporel évoqué précédemment (avant/après intervention). Si la biodiversité entre le site traité et le site témoin est significativement différente, alors il pourra en être déduit que c'est le phénomène étudié (intervention, exposition) qui est responsable de cette différence. Par exemple si une expérience vise à vérifier l'hypothèse selon laquelle l'usage de pesticides sur une dépendance routière fait diminuer la richesse spécifique en lépidoptères, cette expérience devra comporter :

- des dépendances routières sur lesquelles les pesticides sont appliqués,
- des dépendances routières servant de contrôle c'est-à-dire sans usage de pesticides, tous les autres paramètres étant identiques (autant que faire se peut) entre les sites traités et les sites témoins.

Ainsi, si les résultats montrent que la richesse spécifique en lépidoptères de la dépendance traitée est plus faible que celle de la dépendance témoin alors il est possible de conclure que l'usage de pesticides cause effectivement une diminution de la richesse spécifique en lépidoptères.

Comme pour les sites traités (cf. paragraphe suivant sur la réplication), il est fortement recommandé de disposer de **plusieurs sites témoins** (Underwood, 1994 ; Underwood, 1991). La façon de choisir les sites traités et les sites témoins (appariement ou non) est abordée plus loin dans le rapport, en relation avec le protocole dit « BACI » (*Before - After - Control - Intervention*).

3.3. La réplication spatiale de l'expérience

Pour rendre possible la généralisation des résultats obtenus, il est indispensable de répliquer l'expérience et donc de choisir plusieurs sites d'études différents. Un site donné peut en effet présenter des conditions particulières qui influencent les résultats et qui ne se retrouvent pas ailleurs, d'où l'intérêt de **multiplier les sites pour limiter l'influence de ces facteurs confondants**.

Il est tout à fait possible qu'un site témoin et qu'un site traité évoluent dans des directions opposées, par le simple fait du hasard ou pour d'autres raisons indépendantes de la mesure de gestion. En conséquence, la solution pour minimiser l'effet de cette variabilité sur les résultats de l'étude est de répliquer l'expérience sur plusieurs sites. En effet, plus le nombre de sites augmente, moins les effets aléatoires (stochasticité) ont d'influence statistique. Cette réplication doit concerner aussi bien les sites traités que les sites témoins (Conquest, 2000 ; Underwood, 1994 ; Underwood, 1991).

Pour que la réplication soit valable il est indispensable que **les sites soient, autant que de possible, indépendants les uns des autres** (Smith, 2002 ; Underwood, 1992), **tout en conservant les mêmes caractéristiques environnementales**. En effet, la réplication doit se faire sans introduire de nouveaux facteurs potentiellement explicatifs du résultat, sinon cela veut dire que de nouvelles hypothèses sont testées en même temps et il s'agit alors d'une autre expérience et non pas d'une réplication.

Attention, lorsque les sites ne sont pas indépendants, il ne s'agit pas d'une réplication mais simplement d'une **répétition de mesures**, ce que certains auteurs appellent aussi une « **pseudo-réplication** » (exemple : gradient de sites de l'amont vers l'aval d'un cours d'eau, succession de prélèvements le long d'une même voie ferrée insuffisamment espacés) (Hurlbert, 1984). Celle-ci se traduit par une multiplication des mesures sur un même site ou sur des sites proches pouvant en réalité être considérés comme formant une seule et même zone d'étude. La pseudo-réplication est donc un « défaut dans le protocole », qui découle d'une mauvaise appréciation de l'indépendance des sites ou d'un problème pragmatique (pas d'autres sites indépendants, pas assez de moyens...).

La frontière entre répétition et réplication - qui relève donc de l'interdépendance des sites - va dépendre notamment de la taille des territoires des espèces et de leur dispersion. Par exemple, deux sites espacés de 500 m peuvent être considérés comme des répliqués pour des collemboles mais comme des pseudo-répliqués pour des grands ongulés, vues leurs capacités de déplacement respectives.

De même que la recherche de sites aux caractéristiques environnementales « identiques » pour permettre l'absence de facteurs confondants, l'indépendance « vraie » entre sites pour permettre une vraie réplication est **très difficile (voire impossible) à réaliser en milieu naturel**. Par ailleurs, il existe de plus en plus de méthodes statistiques permettant de tenir compte des phénomènes de pseudo-réplication (spatiale ou temporelle) et de s'en affranchir, dans certaines limites. Néanmoins, il faut garder comme objectif de « tendre » le plus possible vers une sélection de sites indépendants lorsque l'on monte un protocole expérimental afin d'augmenter autant que faire se peut la robustesse statistique des analyses réalisées.

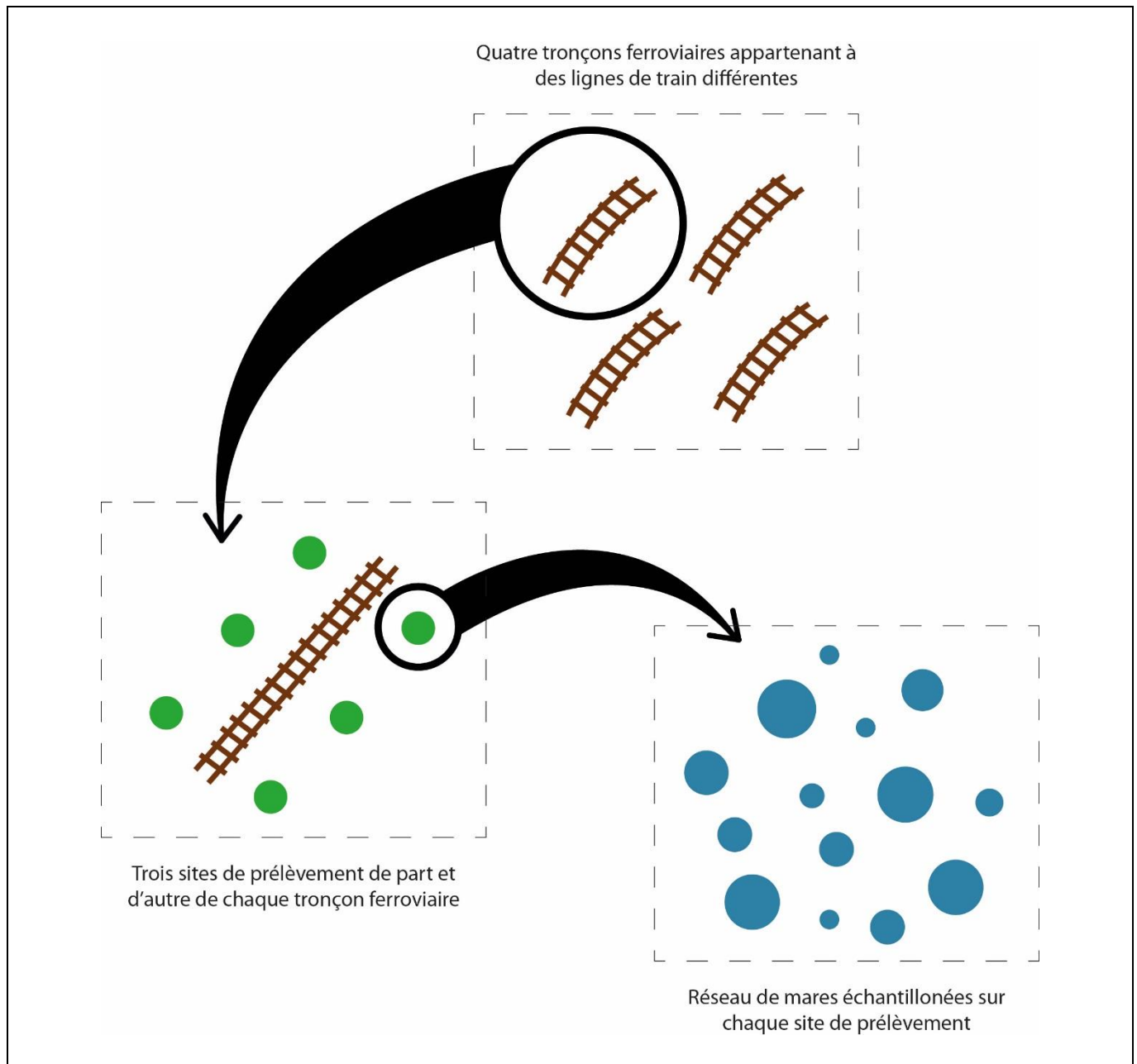


Figure 7 : Exemple de (pseudo-)réplication spatiale à trois niveaux dans le cadre du programme Transfer.

Ici, la réplication spatiale a eu lieu : 1/ A l'échelle du réseau ferroviaire avec 4 tronçons considérés, 2/ A l'échelle d'un même tronçon ferroviaire avec 3 populations échantillonnées de part et d'autre de chaque tronçon (distantes d'au moins 500 m), 3/ A l'échelle de chaque zone de prélèvement avec des échantillons récoltés dans des mares différentes pour les Salamandres ou sur des sites de piégeages (« *pitfall* ») distants de quelques dizaines de mètres pour des Carabes). Les points 2/ et 3/ relèvent plutôt d'une pseudo-réplication et le point 1/ constitue une vraie réplication.

Source : UMS PatriNat, 2019

3.4. La dimension temporelle

Tout d'abord, le **choix de la période** de l'année à laquelle l'expérimentation doit être menée est évidemment fondamental et doit être en lien avec l'activité de l'espèce ou des espèces étudiées. Par exemple, une étude souhaitant mesurer l'effet de l'éclairage artificiel sur l'activité de chasse des chauves-souris devra à l'évidence être réalisée en dehors de la période hivernale pendant laquelle ces espèces entrent en léthargie.

Par ailleurs, dans le vivant, il existe différents cycles temporels et cette variabilité peut influencer fortement les résultats de l'expérience sans rapport avec l'expérience elle-même. On connaît notamment :

- la variabilité journalière (dite circadienne) : les individus peuvent posséder des activités rythmées dans un cycle de 24 h environ (espèce nocturne, espèce diurne...),
- la variabilité saisonnière : certaines espèces présentent une activité différente en fonction des saisons d'une année (ex : espèce hibernante, espèce hivernante, espèce migratrice...),
- la variabilité pluriannuelle : les populations de certaines espèces ont des cycles de plusieurs années, liés par exemple à la disponibilité en nourriture (ex : les rongeurs présentent des cycles de pullulation sur plusieurs années, parfois 5-6 ans).

Il est donc nécessaire de **répéter les mesures dans le temps** pour couvrir toute la phénologie de l'espèce étudiée (ou en tous cas la part de phénologie pertinente pour la question traitée), sans quoi l'étude ne pourra conclure que dans la fenêtre temporelle précisément étudiée (ex : période de reproduction, période de dispersion...).

Attention, répéter les mesures dans le temps (par exemple sur plusieurs périodes au cours d'une année, à la même période sur plusieurs années, ...) ne constitue pas pour autant une réplication de l'expérience car on parle ici de mesures faites sur les mêmes sites à des moments différents. Or, ces sites ne sont donc pas indépendants entre eux *a priori* car, sauf exception, les espèces présentes ont vécu l'intervention ou l'exposition des manipulations antérieures. Néanmoins, comme pour la dimension spatiale évoquée précédemment, on peut parfois parler de « **pseudo-réplication** » pour désigner les cas intermédiaires entre « vraie réplication » (sur des sites indépendants) et répétition de mesure (sur les mêmes sites).

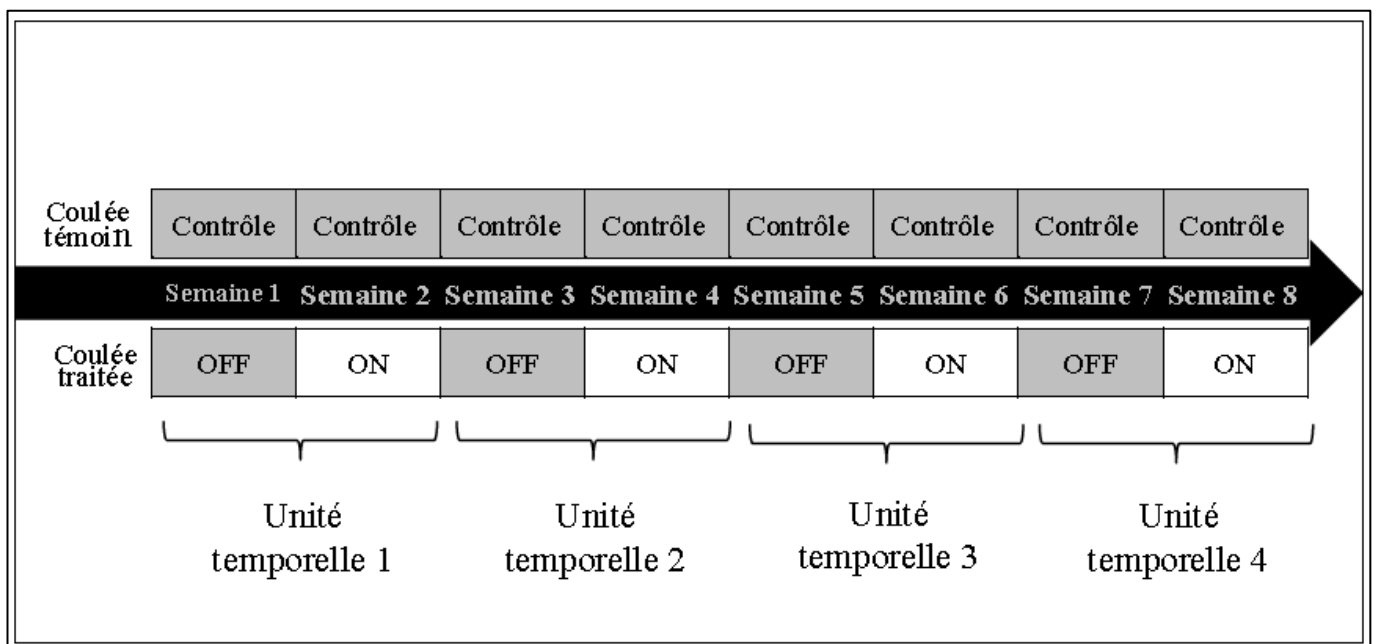


Figure 8 : Exemple d'une répétition de mesure à l'échelle d'une saison

Les coulées désignent les sites d'études (lieux de passages potentiels de mammifères terrestres de type ongulés). Ici, l'enchaînement période d'éclairage / période d'extinction (formant une unité temporelle) a été reproduit quatre fois successivement sur le site traité, ce qui relève plutôt d'une pseudo-réplication temporelle. Une vraie réplication temporelle consisterait à refaire l'ensemble de la manipulation à plusieurs années d'intervalles, ce qui s'avère difficile à mettre en œuvre dans la réalité et pourrait potentiellement introduire d'autres biais (liés au changement d'opérateur par exemple).

Source : Douglazet, 2016

3.5. Les principaux types de plans expérimentaux

3.5.1.1. Combinaisons possibles spatiales et/ou temporelles

En fonction de la combinaison des différentes possibilités spatiales et/ou temporelles évoquées précédemment, on distingue plusieurs types de plans expérimentaux (« *experimental designs* ») c'est-à-dire de configurations

d'échantillonnage sur le terrain (cf. Tableau 5 et 6 et Figure 11). Ces plans ont été décrits pour la première fois par Green (1979).

Nom usuel en anglais	Abréviation	Description
Control-Intervention	CI	La mesure est faite une fois sur le site d'intervention et sur un site témoin (site sans intervention)
Control-Exposition	CE	La mesure est faite une fois sur le site d'exposition et sur un site témoin (non exposé)
Before-After-Intervention	BAI	Une mesure est faite sur le site d'étude avant et après l'intervention. Il n'y a pas de site témoin (pas de comparateur spatial), la comparaison est donc uniquement temporelle.
Before-During-After-Intervention	BDAI	Une mesure est faite avant, pendant et après l'intervention, sur le site d'étude. Il n'y a pas de site témoin (pas de comparateur spatial).
Before-After-Control-Intervention	BACI	Une mesure est faite avant et après l'intervention, sur le site d'étude ainsi que sur un site témoin (contrôle).
Before-During-After-Control-Intervention	BDACI	Une mesure est faite avant, pendant et après l'intervention, sur le site d'étude ainsi que sur un site témoin (contrôle).

Tableau 5 : Les différents types de protocoles.

B = Before (Avant) ; A = After (Après) ; D = During (Pendant) ; C = Control (Témoin) ; I = Intervention ; E = Exposition.

De nombreuses variantes existent (Christie *et al.*, 2019 ; De Palma *et al.*, 2018). En tous cas, on retrouve ici le fait qu'une expérience possède forcément un comparateur, c'est-à-dire une modalité qui permettra la comparaison. En revanche, ce comparateur peut être :

- temporel : le site traité lui-même « avant » versus « après » (ex : protocole BAI),
- spatial : un autre site servant de référence (témoin) (ex : protocoles CI et CE),
- temporel et spatial (ex : protocole « BACI »).

	Pas de comparaison temporelle	Comparaison temporelle
Pas de comparaison spatiale	Etude observationnelle (cela ne relève pas d'une expérience)	BAI(/E)
Comparaison spatiale	CI/E	BACI(/E)

Tableau 6 : Synthèse des types de protocoles en fonction des modalités de comparaison spatiale et/ou temporelle

NB : Dans le cas d'une exposition la comparaison temporelle est plus difficilement envisageable

Attention, le fait qu'une comparaison soit possible n'implique pas nécessairement qu'il s'agisse d'une expérience. Par exemple, dans un suivi (prise de mesures sur un site à des pas de temps réguliers), la comparaison est possible entre les inventaires effectués dans le temps. En revanche, **un suivi reste une démarche observationnelle.**

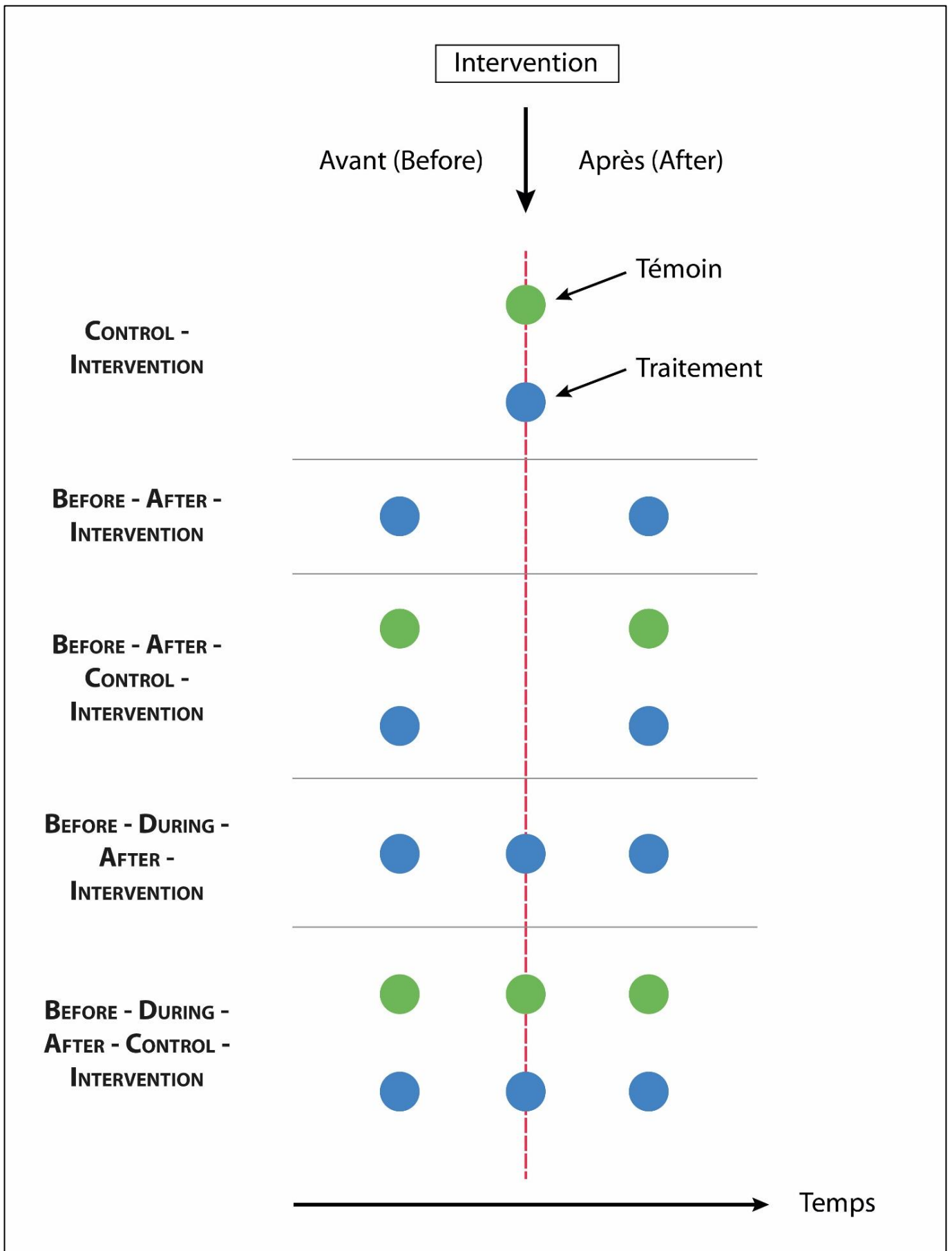


Figure 9 : Illustration schématique des différents types de protocoles dans le cas d'une intervention
 Source : UMS PatriNat, 2019

On peut aussi rencontrer les protocoles de type « série temporelle » (« **time series** »), c'est-à-dire où plusieurs mesures sont effectuées dans le temps, permettant ainsi de suivre l'évolution temporelle de la biodiversité, par exemple après une perturbation anthropique mais sans mesure avant (absence de « before ») (Christie *et al.*, 2019 ; De Palma *et al.*, 2018). On distingue alors (cf. Figure 12) :

- les « **After** » (sans contrôle). Ces protocoles relèvent en réalité de suivis et non plus d'expérimentations, ils ne sont pas explicatifs,
- les « **Reference-After** » dans lesquels le suivi temporel après perturbation est effectué à la fois sur le site qui a subi la perturbation et sur un site témoin. Ces protocoles s'apparentent davantage à un Control-Intervention (CI) mais ils restent peu puissants pour mettre en évidence un lien de causalité, en l'absence de mesures « before ».

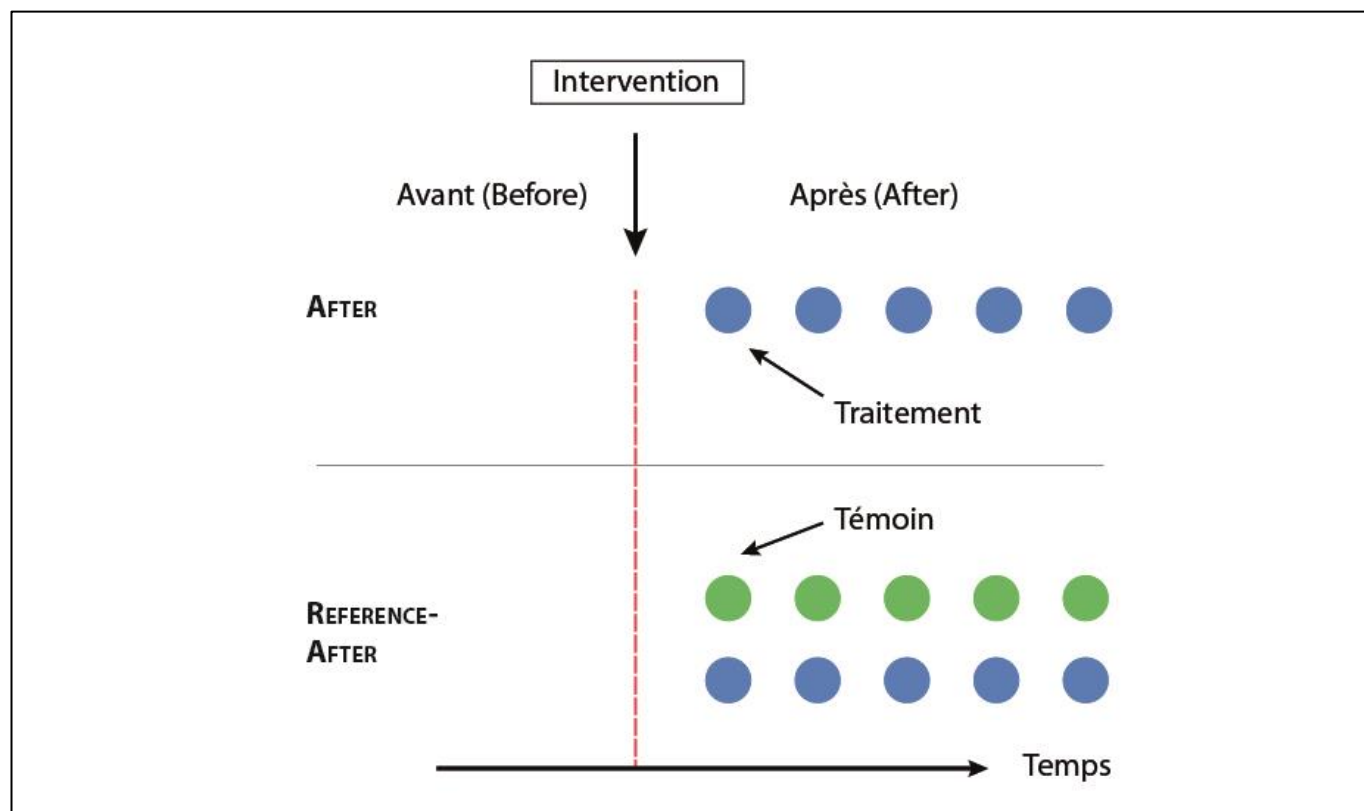


Figure 10 : After et Reference-After, deux plans d'études avec des mesures après intervention

Source : UMS PatriNat, 2019

Dans le cas où l'on souhaite mesurer l'effet d'une intervention, **ce sont les protocoles BACI et BDACI qui ressortent comme les plus complets et robustes** (Christie *et al.*, 2019 ; Smokorowski & Randall, 2017). En effet, ils permettent une comparaison entre l'état antérieur et postérieur à l'intervention, le tout étant comparé à un site de référence non perturbé (Chevalier *et al.*, 2019 ; Smith *et al.*, 1993). Le protocole BAI est moins puissant car, en l'absence de témoin, il ne permet pas d'affirmer que les effets mesurés après la perturbation ne sont pas dus à d'autres facteurs que l'intervention elle-même (Schwartz, 2015 ; Smith, 2002 ; Underwood, 1991). Dans le cas où l'on souhaite mesurer l'effet d'une exposition (ex : la biodiversité des dépendances ferroviaires est-elle plus grande que celle de milieux analogues situés en dehors des infrastructures ferroviaires ?), un protocole de type CE reste robuste.

3.5.1.2. Le B(D)ACI

Tout en ayant la même structure de type *Before-After-Control-Intervention*, il existe plusieurs formes de BACI. Celles-ci diffèrent par leur nombre de répliquats spatiaux et temporels. En fonction des combinaisons, on retrouve dans la littérature au moins quatre formes de BACI :

1. Un seul site traité ; un seul site témoin ; une mesure avant ; une mesure après.
 2. Un ou plusieurs site(s) traité(s) ; plusieurs sites témoins ; une mesure avant ; une mesure après.
 3. Un seul site traité ; un seul site témoin ; plusieurs années avant ; plusieurs années après.
 4. Un ou plusieurs site(s) traité(s) ; plusieurs sites témoins ; plusieurs années avant ; plusieurs années après.
- La forme 1 est le BACI le plus simple, comprenant deux sites (traité/témoin) et deux mesures (avant/après perturbation). Les auteurs reconnaissent que la formule de BACI la plus puissante est la 4 (Schwartz, 2015 ; Conquest, 2000 ; Underwood, 1994 ; Underwood, 1991) c'est-à-dire (cf. Figures 13 et 14) :

- où les sites témoins sont répliqués spatialement (et si possible les sites traités également),

- où plusieurs mesures sont prises sur les périodes « avant » et « après », formant en quelque sorte des suivis pluriannuels (« *time series* ») pour, d'une part disposer d'un état initial de long terme et, d'autre part, vérifier l'évolution des effets dans le temps (André, 2004, Underwood, 1991). Idéalement, les mesures prises pendant ce suivi temporel « avant » et « après » doivent être de fréquence identique (Smith *et al.*, 1993).

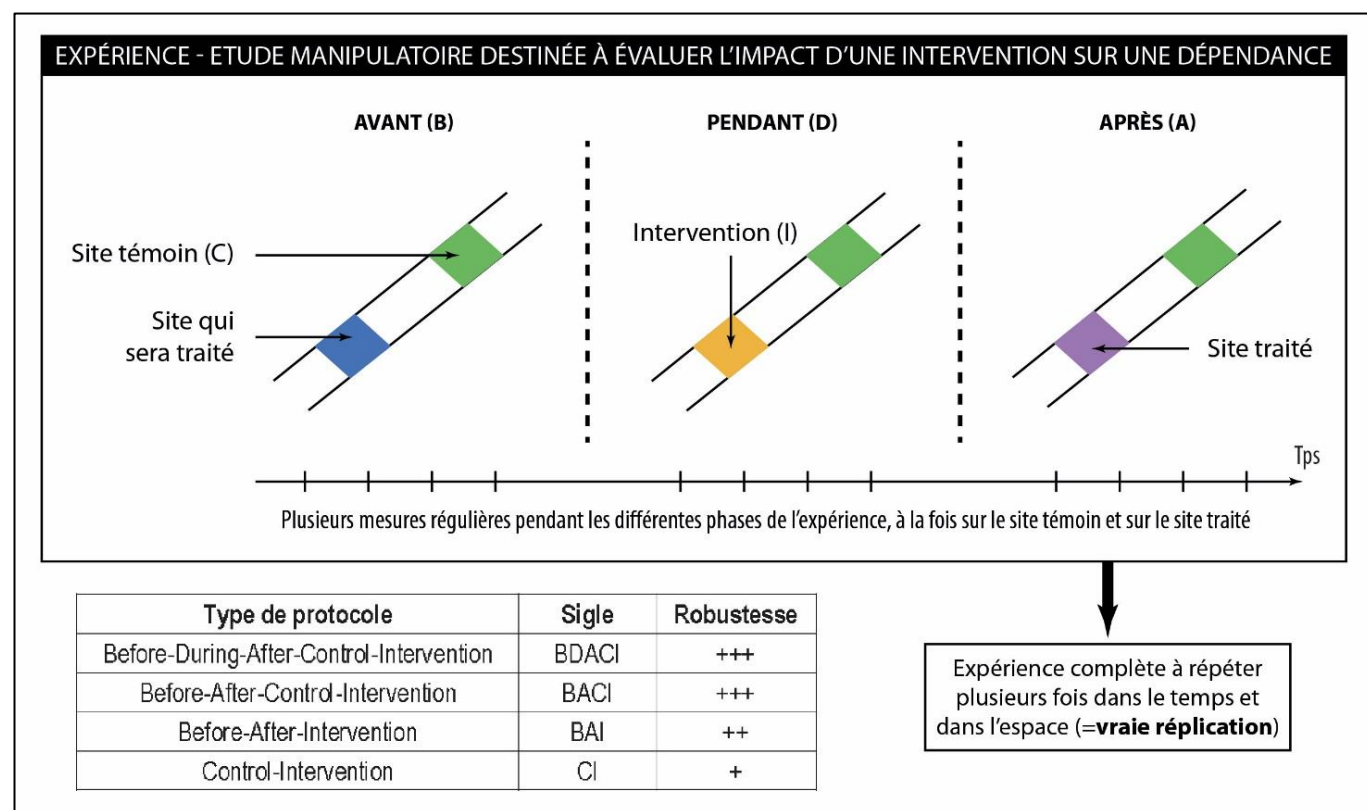


Figure 11 : B(D)ACI dans lequel plusieurs mesures ont lieu à chaque étape « Avant » et « Après » (et le cas échéant « Pendant »).

Source : UMS PatriNat, 2019

Par ailleurs, les sites traités et les sites témoins d'une expérience peuvent être choisis séparément ou bien directement par paires (appariés). Dans ce dernier cas, si un BACI est appliqué, on parle alors de BACIP pour « *BACI paired design* » (Smith, 2002), chaque paire « site traité + site contrôle » formant ainsi une unité spatiale (cf. Figure 14). En général cette approche est préférable car elle **limite la variabilité entre sites traités et sites témoins**.

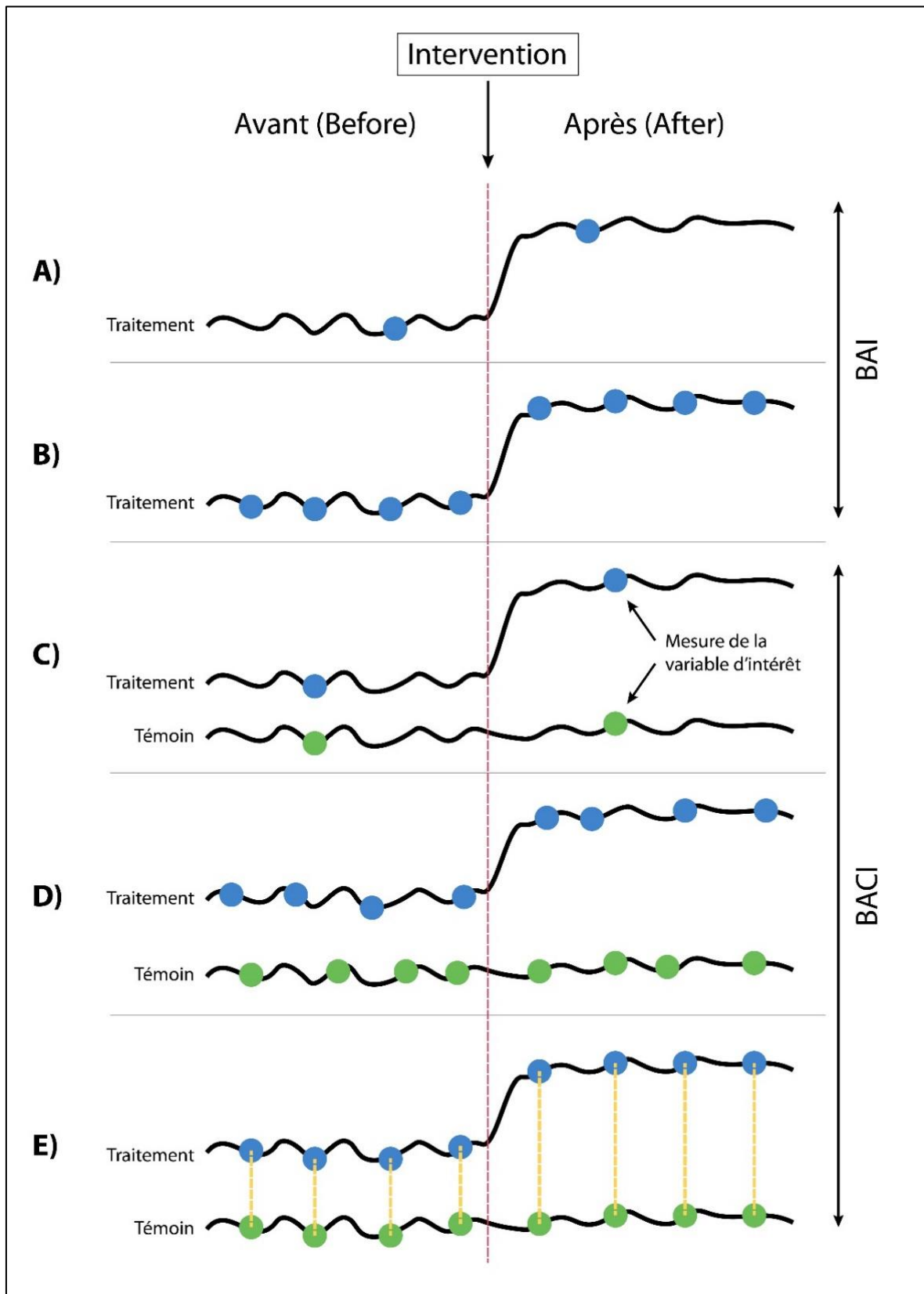


Figure 12 : BAI et BACI selon plusieurs modalités des mesures effectuées sur le site contrôle et le site traité (fréquence, appariement ou non).

A) Une seule mesure est faite avant et après intervention sur le site traité et il n'y a pas de site témoin.

B) Plusieurs mesures sont faites avant et après intervention sur le site traité et il n'y a pas de site témoin.

C) Une mesure est faite avant et après intervention sur le site traité et sur un site témoin.

D) Plusieurs mesures sont faites avant et après intervention sur le site traité et sur le site témoin, à des moments non concordants.

E) Plusieurs mesures sont faites avant et après intervention sur le site traité et sur le site témoin, au même moment.

Les protocoles A) et B) sont des BAI. Les C), D) et E) sont des BACI mais le E) (BACI paired design) est *a priori* le plus robuste.

Source : UMS PatriNat (2019) d'après Underwood (1991)

3.6. Les variables à mesurer

On distingue en premier lieu :

- la/les **variable(s) d'intérêt** : c'est/ce sont la/les variable(s) dont on souhaite savoir si elle(s) est/sont influencée(s) par le phénomène étudié (intervention, exposition). Cela correspond aux « outcomes » du PI/ECO présenté auparavant dans ce rapport,

- les **variables explicatives** : ce sont les variables dont on souhaite voir si elles influent sur la variable d'intérêt (ex : sol, humidité, lumière...).

3.6.1. Quelques mesures fréquemment utilisées en écologie pour les variables d'intérêt

En écologie, les deux indices de base sont :

- la **richesse spécifique** (moyenne) : c'est le nombre (moyen) d'espèces inventoriées sur un site,

- l'**abondance** (moyenne) : c'est le nombre (moyen) d'individus (par espèce, par groupe taxonomique, par unité spatiale).

Des indices plus complexes peuvent être calculés pour décrire la diversité de la **communauté** étudiée, par exemple :

- l'indice de Shannon qui mesure l'hétérogénéité au sein de la communauté étudiée,

- l'indice de Simpson : c'est la probabilité que deux individus sélectionnés au hasard dans une communauté appartiennent à la même espèce.

Il existe aussi de très nombreux autres types de mesures :

- les mesures biométriques (taille, masse, ...),

- les mesures démographiques : survie, reproduction...

- les mesures de mouvements (distances de déplacements, fréquences de déplacement, ...)

- les mesures génétiques (diversité génétique, différenciation génétique),

3.6.2. La notion de proxy

Parfois, il n'est pas possible de mesurer directement la variable d'intérêt. Il est alors envisageable de passer par un « proxy » c'est-à-dire une **mesure de substitution** permettant de mesurer indirectement ce que l'on souhaite observer (ex : le nombre de fourmilières comme proxy de l'abondance des fourmis, le nombre de terriers de mulots comme proxy de l'abondance des mulots, le nombre de familles d'invertébrés comme proxy de la richesse spécifique en invertébrés...).

4. SYNTHÈSE

4.1. Récapitulatif des biais dans un protocole

Lorsque les différents critères précédents ne sont pas définis de manière optimale dans le montage du protocole, les résultats obtenus sont susceptibles d'être biaisés. En particulier, une mauvaise sélection des sites d'études peut entraîner des biais, notamment si les sites choisis ne sont pas indépendants et ne constituent donc pas des vrais répliqués (Soininen *et al.*, 2017). Un biais peut aussi résulter de sélection des sites par une méthode dirigée où la stratégie d'échantillonnage peut, dans certains cas, engendrer un biais sans le vouloir. Par exemple, si les observateurs privilégient les sites facilement accessibles en voiture pour leur expérience et que sans le savoir tous les sites accessibles en voiture sont caractérisés par la présence d'une même variable confondante qui n'a pas été identifiée au départ (ex : bruit, pollution liés aux voitures). D'où l'importance de commencer tout d'abord par identifier les facteurs pouvant influencer sur la variable d'intérêt pour ensuite pouvoir soit écarter ces facteurs (choix des sites) soit les mesurer pendant l'expérience. Des biais peuvent aussi apparaître ensuite pendant la phase de terrain, par exemple des biais de détection ou des biais d'attrition (Cooke *et al.*, 2017).

Biais et erreur

Un biais est différent d'une erreur. Un biais est la reproduction systématique d'une **erreur** et qui tend donc à **produire un résultat systématiquement différent de la vraie valeur**, en plus ou en moins.

Par exemple, si, de manière aléatoire, un appareil de mesure manque de précision dans le résultat affiché, il s'agira d'une erreur de mesure. En revanche, si l'appareil de mesure augmente systématiquement la mesure de x%, il s'agira là d'un biais, corrigible s'il est connu.

C'est pour minimiser les biais que l'on réplique l'expérience (alors que pour minimiser les erreurs on répète les mesures). Néanmoins, l'absence totale de biais est relativement utopique dans le domaine de l'écologie. C'est pour cela que le plus important reste d'identifier clairement les biais même s'ils ne peuvent pas tous être résorbés, de manière à pouvoir lire le résultat de l'étude en connaissance de cause. L'existence d'un biais n'est pas nécessairement préjudiciable si celui-ci est connu et quantifié.

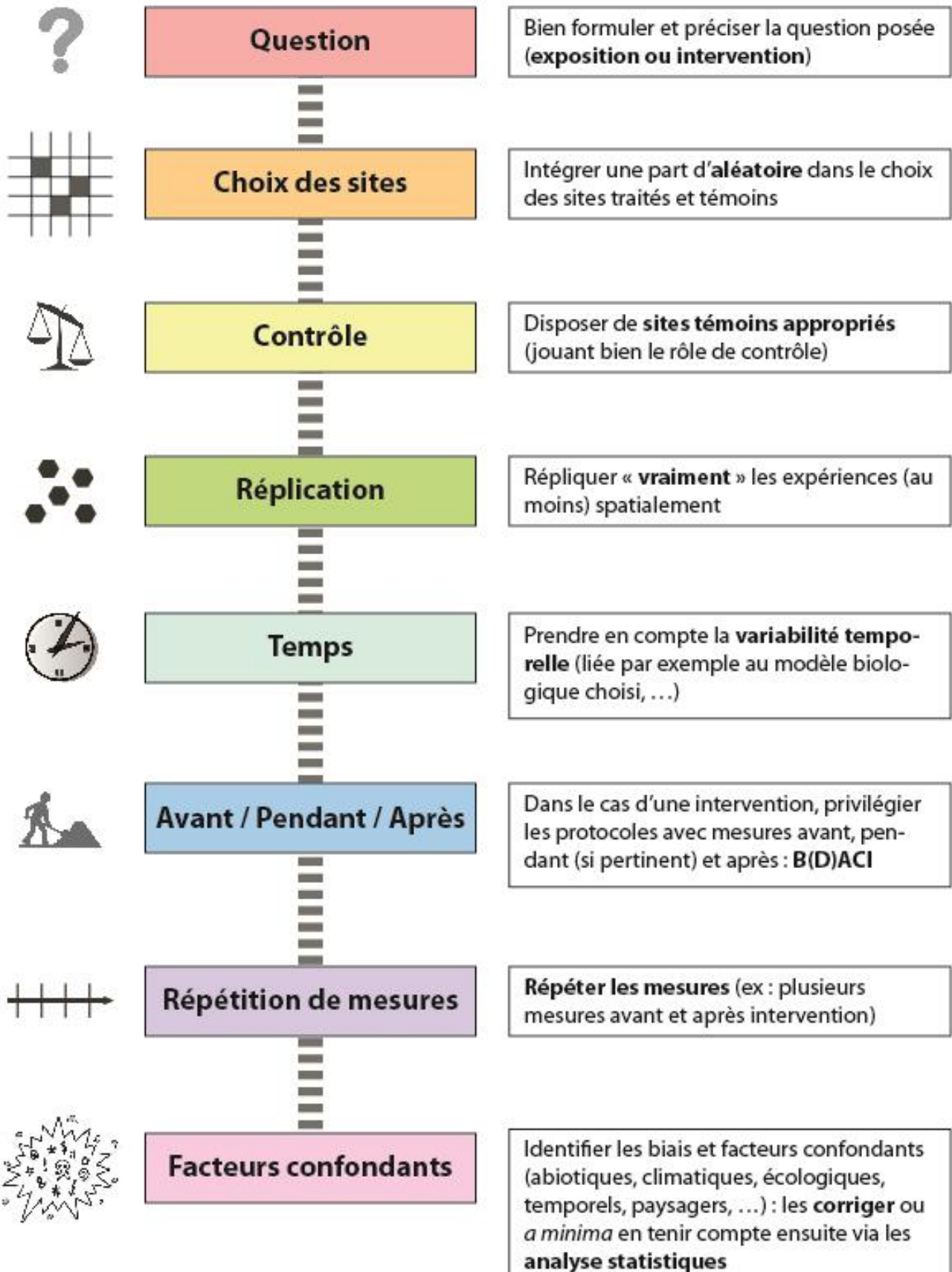
4.1.1.1. Le biais de détection

C'est un biais lié au repérage/capture de l'espèce choisie comme modèle biologique pour l'expérience. Ce biais peut résulter par exemple des capacités différentes, selon les observateurs qui réalisent l'étude, à détecter telle ou telle espèce (« effet observateur ») au moment de la phase de terrain. Là encore, il y a biais uniquement si la détectabilité de l'espèce varie avec le facteur étudié (ex : les carabes sont plus faciles à voir lorsque le bord de route est fauché que non fauché et c'est justement la fauche qui est étudiée). Le biais de détection peut aussi résulter d'un mauvais choix du modèle biologique lui-même lors du montage du protocole expérimental. Par exemple si sur deux espèces modèles recherchées dans l'expérimentation l'une est très difficile à voir ou encore si l'une des deux espèces peut être très facilement confondue avec une troisième espèce non recherchée dans l'expérience. Dès lors, les résultats seront dépendants de ces paramètres de détection et non pas du phénomène étudié.

4.1.1.2. Le biais d'attrition

Le biais d'attrition est le fait que des individus de la population étudiée soient peu à peu exclus pendant l'étude. Il peut s'agir aussi bien d'une mortalité des individus en cours d'étude ou d'une perte par les auteurs d'une partie des échantillons récoltés. La perte (attrition) est susceptible d'induire un biais surtout quand ces exclusions ne se font pas strictement au hasard (ex : quand la perte d'échantillons n'est pas équivalente entre sites témoins et sites traités). Dans ce cas la représentativité de l'échantillonnage est remise en cause, ce qui génère un biais.

Facteurs clés à retenir pour tendre vers un protocole robuste



Source : UMS PatriNat, 2019

4.2. L'importance des analyses statistiques

Le fait de disposer d'un protocole robuste est une **condition déterminante** pour la réussite d'une étude. Il est donc impératif de prendre le temps de monter ce protocole, si besoin en effectuant des « pré-expériences » pour le tester et l'ajuster.

Néanmoins, l'**analyse des résultats** sera également une étape primordiale pour que l'étude reste fiable et crédible. Le choix des **modèles statistiques** à utiliser est intimement lié au protocole de terrain. La taille d'échantillon doit également être suffisante pour permettre des analyses statistiques (cf. Encadré ci-contre).

Pour ces raisons, il est donc nécessaire de réfléchir aussi aux traitements statistiques dès le montage du protocole expérimental. Par exemple, le choix des sites doit aussi permettre d'atteindre la taille d'échantillon suffisante.

La taille d'échantillon suffisante

Il s'agit ici du « n » correspondant au nombre de mesures effectuées (ou prélevées) sur la population d'étude. Ce nombre sera appelé la taille d'échantillon (« *sample size* » en anglais). L'échantillon désigne donc un fragment de la population globale, étudié par l'expérience. L'effectif de l'échantillon peut varier de l'unité à l'effectif total « N » de la population statistique. Il arrive en effet que tous les éléments de la population soient étudiés (on parle alors d'échantillonnage exhaustif), ce qui s'avère très rare en écologie. L'effort d'échantillonnage sera mesuré par la taille n de l'échantillon et par la fraction d'échantillonnage, égale à n/N .

La taille de l'échantillon n'affecte pas la représentativité (celle-ci est déterminée par le choix des sites, cf. plus haut). En revanche la taille de l'échantillon fait varier la largeur de l'intervalle dans lequel la vraie valeur d'un paramètre de la population a de fortes chances de se trouver (dit « intervalle de confiance »). **Plus la taille de l'échantillon est grande, plus cet intervalle de confiance sera petit.**

En écologie, il s'agit parfois d'un point sensible (Baylis *et al.*, 2015). En effet, en fonction des études, la mesure effectuée peut impliquer des prélèvements floristiques ou faunistiques (ex : tissu pour analyse génétique), du marquage (bagueage...) ou *a minima* du dérangement (manipulation, piétinement...). Un compromis doit donc être trouvé entre éthique (dérangement, perturbation du vivant), pragmatisme (coûts humains et/ou financier liés à l'augmentation de la taille d'échantillon) et puissance de l'expérience (confiance que l'on pourra avoir dans le résultat, qui justifie donc l'intérêt de l'étude).

5. DOCUMENTS DE SYNTHÈSE PRÉ-EXISTANTS

Ces documents de synthèse sur le thème des protocoles expérimentaux en écologie peuvent compléter cette lecture :

Besnard, A. & Salles, J.M. 2010. *Suivi scientifique d'espèces animales Aspects méthodologiques essentiels pour l'élaboration de protocoles de suivis*. Note méthodologique à l'usage des gestionnaires de sites Natura 2000. DREAL PACA – Pôle Natura 2000. 62pp.

Bouget, C. & Nageleisen, L.M. 2009. *Les études des insectes en forêt : méthodes et techniques, éléments essentiels pour une standardisation. Synthèse des réflexions menées par le groupe de travail « Inventaires entomologiques en forêt »*. Les dossiers forestiers. 19. 144pp. <http://www1.onf.fr/outils/medias/20100517-145700-588403/++files++/1>

Coe, R. 2008. Designing ecological and biodiversity sampling strategies. Working Paper n°66. 33p.

Fadel, D. & Meddad-Hamza, A. 2014. *Stratégies d'échantillonnages des peuplements*. Editions Al-Djazair. ISBN : 978994789

Fiers, V. 2003. *Etudes scientifiques en espaces naturels*. Cahier technique des espaces naturels. 72. 100pp.

6. REFERENCES CITEES

- André, Y. 2004. *Protocoles de suivi pour l'étude des impacts d'un parc éolien sur l'avifaune*. Ligue de protection des oiseaux. 20pp.
- Baylis, K., Honey-Rosés, J., Börner, J., Corbera, E., Ezzine-de-Blas, D., Ferraro, P.J., Lapeyre, R., Persson, U.M., Pfaff, A. & Wunder, S. 2016. Mainstreaming Impact Evaluation in Nature Conservation. *Conservation letters*. 9:58–64. <https://doi.org/10.1111/conl.12180>
- Benzies, K.M., Premji, S., Hayden, K.A., Serrett, K. 2006. State-of-the-Evidence Reviews: Advantages and Challenges of Including Grey Literature. *Worldviews Evid Based Nurs*. 3(2):55-61. <https://doi.org/10.1111/j.1741-6787.2006.00051.x>
- Chevalier, M., Russell, J.C. & Knape, J. 2019. New measures for evaluation of environmental perturbations using Before-After-Control-Impact analyses. *Ecological Applications*. 29(2):e01838. <https://doi.org/10.1002/eap.1838>
- Christie, A.P., Amano, T., Martin, P.A., Shackelford, G.E., Simmons, B.I., Sutherland, W.J. 2019. Simple study designs in ecology produce inaccurate estimates of biodiversity responses. *Journal of Applied Ecology*. 00:1-13. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.13499>
- Collaboration for Environmental Evidence 2018. *Guidelines and Standards for Evidence synthesis in Environmental Management*. Version 5.0 (AS Pullin, GK Frampton, B Livoreil & G Petrokofsky, Eds) <http://www.environmentalevidence.org/information-for-authors>
- Conquest, L.L. 2000. Analysis and Interpretation of Ecological Field Data Using BACI Designs: Discussion. *Journal of Agricultural, Biological, and Environmental Statistics*. 5(3):293-296. <https://doi.org/10.2307/1400455>
- Cooke, S.J., Birnie-Gauvin, K., Lennox, R.J., Taylor J.J., Rytwinski, T., Rummer, J.L., Franklin, C.E., Bennett, J.R. & Haddaway, N.R. 2017. How experimental biology and ecology can support evidence-based decision-making in conservation: avoiding pitfalls and enabling application. *Conservation physiology*. 5(1). <https://doi.org/10.1093/conphys/cox043>
- Douglazet, M. 2016. *Elaboration d'un protocole d'étude de l'impact de l'éclairage artificiel sur les déplacements des mammifères terrestres nocturnes*. Rapport de stage de Master 2 Ingénierie en écologie et gestion de la biodiversité, Université de Montpellier. Parc naturel régional des Causses du Quercy. 29pp.
- Fisher, R.A. 1971 [1935]. *The Design of Experiments* (9th ed.). Macmillan. ISBN 0-02-844690-9.
- Gosselin, F., Cordonnier, T., Bilger, I., Jappiot, M., Chauvin, C., Gosselin, M. 2018. Ecological research and environmental management: We need different interfaces based on different knowledge types. *Journal of Environmental Management*. 218:388-401. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.04.025>
- Haddaway, N. & Verhoeven, J.T.A. 2015. Poor methodological detail precludes experimental repeatability and hampers synthesis in ecology. *Ecology and Evolution*. 5(19):4451-4454. <https://doi.org/10.1002/ece3.1722>
- Hulard, M. 2019. *Analyse critique de protocoles expérimentaux en écologie dans le cadre d'une revue systématique. Projet COHNECS-IT*. Rapport de stage de L3 Biologie Environnement - Faculté des sciences et technologie de Paris Est Créteil. 48pp.
- Hurlbert, S.H. 1984. Pseudoreplication and the Design of Ecological Field Experiments. *Ecological Monographs*. 54(2):187-211. <https://doi.org/10.2307/1942661>

Ichter, J., Poncet, L. & Touroult, J. 2014. *Catalogues des méthodes et des protocoles. Phase 1 : Etude de définition et proposition d'une démarche*. Rapport MNHN-SPN 2014-52. Service du Patrimoine Naturel, Muséum national d'Histoire naturelle, Paris. 30pp.

Jeusset, A., Vargac, M., Bertheau, Y., Coulon, A., Deniaud, N., Flamerie De Lachapelle, F., Jaslier, E., Livoreil, B., Roy, V., Touroult, J., Vanpeene, S., Witté, I. & Sordello, R. 2016. Can linear transportation infrastructure verges constitute a habitat and/or a corridor for biodiversity in temperate landscapes? A systematic review protocol. *Environmental Evidence Journal*. 5(5). <https://doi.org/10.1186/s13750-016-0056-9>

Ouédraogo, D.Y. *et al.* (In preparation). Can linear transportation infrastructure verges constitute a habitat and/or a corridor for vertebrates in temperate landscapes? A systematic review.

Parker, T.H., Forstmeier, W., Koricheva, J., Fidler, F., Hadfield, J.D., Chee, Y.E., Kelly, C.D., Gurevitch, J., Nakagawa, S. 2016a. Transparency in ecology and evolution: Real problems, real solutions. *Trends in Ecology and Evolution*. 31:711-719. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tree.2016.07.002>

Parker, T.H., Main, E., Nakagawa, S., Gurevitch, J., Jarrad, F. & Burgman, M. 2016b. Promoting transparency in conservation science. *Conservation Biology*. 30(6):1149–1150. <https://doi.org/10.1111/cobi.12760>

Schwartz, C.J. 2015. *Analysis of BACI experiments*. Chapter 12:730-833. <http://people.stat.sfu.ca/~cschwarz/Stat-650/Notes/PDFbigbook-JMP/JMP-part013.pdf>

Smith, E.P. 2002. BACI design. 1:141-148. In: *Encyclopedia of Environmetrics*. Edited by Abdel H. El-Shaarawi and Walter W. Piegorisch. ISBN 0471 899976.

Smith, E.P., Orvos, D.R. & Cairns, Jr J. 1993. Impact Assessment Using the Before-After-Control-Impact (BACI) Model: Concerns and Comments. *Journal canadien des sciences halieutiques et aquatiques*. 50(3):627-637. <https://doi.org/10.1139/f93-072>

Smokorowski, K.E. & Randall, R.G. 2017. Cautions on using the Before-After-Control-Impact design in environmental effects monitoring programs. *FACETS*. 2:212–232. <https://doi.org/10.1139/facets-2016-0058>

Soininen, E.M., Hamel, S. & Yoccoz, N.G. 2017. Importance of study design and robust analyses in ecology – what is the evidence for silica–vole interactions?. *Funct Ecol*. 31:1847-1852. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12830>

Sordello, R., Villemey, A., Jeusset, A., Vargac, M., Bertheau, Y., Coulon, A., Deniaud, N., Flamerie De Lachapelle, F., Guinard, E., Jactel, H., Jaslier, E., Le Mitouard, E., Ruel, V., Roy, V., Vanpeene, S., Witté, I., Touroult, J. 2017. *Conseils méthodologiques pour la réalisation d'une revue systématique à travers l'expérience de COHNECS-IT*. Rapport MNHN, Irstea, UPMC, Cerema, Inra. 36pp.

Stewart-Oaten, A., Murdoch, W.W. & Parker, K.R. 1986. Environmental Impact Assessment: "Pseudoreplication" in Time?. *Ecology*. 67(4):929-940. <https://doi.org/10.2307/1939815>

Torgerson, C.J. 2006. Publication bias: the achilles heel of systematic reviews?. *British Journal of Educational Studies*. 54(1):89-102. <https://doi.org/10.1111/j.1467-8527.2006.00332.x>

Underwood, A.J. 2009. Components of Design in Ecological Field Experiments. *Annales Zoologici Fennici*. 46(2):93-111. <https://doi.org/10.5735/086.046.0203>

Underwood, A.J. 1994. On Beyond BACI: Sampling Designs that Might Reliably Detect Environmental Disturbances. *Ecological Applications*. 4(1):3-15. <https://doi.org/10.2307/1942110>

Underwood, A.J. 1992. Beyond BACI: the detection of environmental impacts on populations in the real, but variable, world. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 161(2):145-178. [https://doi.org/10.1016/0022-0981\(92\)90094-Q](https://doi.org/10.1016/0022-0981(92)90094-Q)

Underwood, A.J. 1991. Beyond BACI: Experimental designs for detecting human environmental impacts on temporal variations in natural populations. *Marine and Freshwater Research*. 42(5). <https://doi.org/10.1071/MF9910569>

Villemey, A., Jeusset, A., Vargac, M., Bertheau, Y., Coulon, A., Touroult, J., Vanpeene, S., Castagneyrol, B., Jactel, H., Witté, I., Deniaud, N., Flamerie De Lachapelle, F., Jaslier, E., Roy, V., Guinard, E., Le Mitouard, E., Ruel, V. & Sordello, R. 2018. Can linear transportation infrastructure verges constitute a habitat and/or a corridor for insects in temperate landscapes? A systematic review. *Environmental Evidence Journal*. 7(5). <https://doi.org/10.1186/s13750-018-0117-3>

7. INDEX DES FIGURES

Figure 1 : Récapitulatif des différents types d'études de terrain.....	8
Figure 2 : Les cinq grandes étapes d'une expérimentation.....	9
Figure 3 : Echantillonnages aléatoire (à gauche) et semi-aléatoire (à droite).....	15
Figure 4 : Echantillonnage systématique et semi-systématique.....	15
Figure 5 : Echantillonnage dirigé.....	16
Figure 6 : Exemple d'une approche par stratification.....	17
Figure 7 : Exemple de (pseudo-)réplication spatiale à trois niveaux dans le cadre du programme Transfer.....	19
Figure 8 : Exemple d'une répétition de mesure à l'échelle d'une saison.....	20
Figure 9 : Illustration schématique des différents types de protocoles dans le cas d'une intervention.....	22
Figure 10 : After et Reference-After, deux plans d'études avec des mesures après intervention.....	23
Figure 11 : B(D)ACI dans lequel plusieurs mesures ont lieu à chaque étape « Avant » et « Après » (et le cas échéant « Pendant »).....	24
Figure 12 : BAI et BACI selon plusieurs modalités des mesures effectuées sur le site contrôle et le site traité (fréquence, appariement ou non).....	25

8. INDEX DES TABLEAUX

Tableau 1 : Etude observatoire <i>versus</i> étude manipulative.....	8
Tableau 2 : Exposition versus intervention – définition et quelques exemples.....	10
Tableau 3 : Les différents états d'un site d'étude.....	11
Tableau 4 : Explication du PICO/PECO pour une intervention et une exposition.....	12
Tableau 5 : Les différents types de protocoles.....	21
Tableau 6 : Synthèse des types de protocoles en fonction des modalités de comparaison spatiale et/ou temporelle.....	21

RÉSUMÉ

L'UMS PatriNat mène depuis 2015 - avec l'aide de différents partenaires - une revue systématique (synthèse bibliographique) sur le rôle des dépendances d'infrastructures de transport pour la biodiversité (projet COHNECS-IT). Dans le cadre de cette revue systématique une grille d'analyse a été construite afin d'étudier la robustesse des protocoles expérimentaux des publications triées. Cette étape d'analyse critique est incontournable dans la méthode des revues systématiques afin de sélectionner les études les plus rigoureuses sur le plan scientifique. En capitalisant sur l'analyse critique menée pour COHNECS-IT, ce rapport fait le point sur les critères les plus importants à respecter pour garantir la robustesse des protocoles en écologie.



UMS 2006 Patrimoine Naturel
Muséum national d'Histoire naturelle
CP41, 36, rue Geoffroy Saint-Hilaire
75005 Paris
patrinat.mnhn.fr

**AGENCE FRANÇAISE
POUR LA BIODIVERSITÉ**
ÉTABLISSEMENT PUBLIC DE L'ÉTAT

www.afbiodiversite.fr



www.cnrs.fr



MUSÉUM
NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE

www.mnhn.fr