

Comparaison des effets des différents types de toits verts sur la biodiversité des sols

Sékou FM Coulibaly¹, Nolwen Levailant¹, Christine Aubry², Fanny Provent², Sophie Rousset-Rouvière³, Sophie Joimel¹

¹ UMR EcoSys, INRAE, AgroParisTech, Université Paris-Saclay, 91120 Palaiseau, France

² UMR SADAPT, INRAE, AgroParisTech, Université Paris-Saclay, 91120 Palaiseau, France

³ Adivet, Association des toitures et façades végétales, 84 Rue de Grenelle, 75007 Paris

1. Contexte et objectif de l'étude :

Les zones urbanisées sont devenues le milieu se développant le plus rapidement dans le monde (ONU 2014 ; Seto et al. 2011). Avec 54% de la population mondiale (Guilland et al. 2018) pour seulement 3% de la surface de la Terre (MEA 2005), les milieux urbains sont depuis plusieurs décennies l'apogée de l'anthropisation, entraînant de nombreux effets délétères sur le climat, les ressources naturelles ou encore la biodiversité (e.g. Grimm et al., 2008 ; Pickett et al., 2001). En conséquence, les politiques de gestion favorisent désormais le « retour de la nature » dans les villes. En milieu urbain, la biodiversité peut s'installer dans des espaces verts, de surfaces réduites, fragmentées et isolées (Fuller et al. 2009). Les toits, qui peuvent représenter jusqu'à 32% de la surface horizontale d'une ville, présentent un potentiel pour accroître la biodiversité urbaine (Oberndorfer et al., 2007). Cela passe par le verdissement ou l'installation des cultures sur les toits.

Les toits verts sont des toits végétalisés (toiture végétalisée, toit vivant, éco-toit, jardin sur le toit), à vocation productive ou non, construits sur des toits plats ou en pente. Ils se composent d'une membrane d'étanchéité traitée anti-racine, d'une couche de drainage, d'une couche filtrante, d'un milieu de culture et de végétation (Oberndorfer et al., 2007 ; Getter et Rowe, 2006). Selon l'Adivet (Association des toitures et façades végétales), ils se caractérisent par différentes typologies de végétalisation en fonction de l'épaisseur du milieu de croissance (e.g. toiture extensive, semi-intensive, intensive). Cette dernière constitue un lieu de vie mais également de déplacement pour un nombre important d'organismes de différents groupes biologiques tels que les bactéries, les champignons, les invertébrés, les

petits mammifères ainsi que les parties endogées des plantes (e.g. Auclerc et al., 2009; Eijssackers, 2011; Mathieu, 2015). Ces organismes constituent par ailleurs la majorité de la biomasse vivante sur Terre (Bar-On et al., 2018) et représentent plus de 25% de toutes les espèces décrites (Bardgett & Van Der Putten, 2014; Decaëns et al., 2006). L'activité et l'interaction de ces différents organismes du sol participent grandement à de nombreuses fonctions de l'écosystème dont le cycle des nutriments ou encore l'infiltration de l'eau (Bach et al., 2020). Vu l'importance de ces organismes à la fois en termes d'abondance mais également pour les services écosystémiques qu'ils rendent, il semble essentiel de préserver une continuité écologique dans le sol des toits verts. Malgré des sols fortement anthropisés, appelés technosol, et possédant des caractéristiques physico-chimiques peu intéressantes d'un point de vue agronomique (Guilland et al. 2018), les toits verts auraient un fort potentiel d'accueil de la vie dans le sol (Joimel et al. 2018, 2022).

Toutefois, les relations entre biodiversité des sols et les différents toits verts ne sont pas encore évidentes ; très peu d'études ayant été réalisées jusqu'à présent. D'après une étude récente, seules 2 à 3% des études menées sur la biologie des sols portent sur les sols urbains (Guilland et al., 2018). Cela est d'autant plus faible pour les toits verts, puisque la part des études sur la biodiversité qu'ils abritent, restent rares et représente moins de 2,5 % du nombre total de publications sur la biodiversité urbaine (Coulibaly et al. In prep). Actuellement il existe donc une réelle nécessité de travailler sur les sols urbains, en particulier ceux des toits verts et sur la biodiversité qu'ils abritent.

Dans ce contexte, notre étude vise à acquérir une meilleure connaissance sur la biodiversité souterraine des toitures végétalisées et cultivées. Pour cela, nous avons voulu comparer les effets des différents types de toits verts sur (i) les communautés d'organismes du sol et (ii) sur le fonctionnement du sol en termes de fertilité (e.g. carbone, azote-source nourriture de base), de structure physique du sol (milieu de vie). Nos modèles d'études concernent les microorganismes (bactéries et champignons) ; la microfaune (nématodes), la mésofaune (collembolles) et la macrofaune (e.g. vers de terre, isopodes). Trois grandes questions sont traitées dans cette étude : (i) quel est l'impact de la végétalisation des toits verts sur la biodiversité des sols ? Observe-t-on une réponse similaire de différents groupes taxonomiques aux types de toits verts ? (iii) quel type de toit vert accueille plus de biodiversité des sols ?

2. Matériels et méthodes

2.1.Site d'étude et dispositif expérimental :

L'étude est réalisée dans la région Île-de-France. Trois grands types de toits verts les plus répandus de la région ont été retenus : les types de toit intensif, semi-intensif et extensif. Pour les toits verts semi-intensifs, nous nous sommes intéressés à leur fonction principale : vocation productive et ornementale, et les toits verts intensifs uniquement ceux à vocation ornementale par manque de toits intensifs productifs. Au total, 4 modalités expérimentales ont été étudiées et chacune a été répliquée 5 fois (20 toits verts, Figure 1). Ces toitures ont été sélectionnées en fonction de leur âge. Les jeunes toitures c'est-à-dire celles inférieures à 2 ans (date de pose et de végétalisation) ont été exclues de notre sélection.

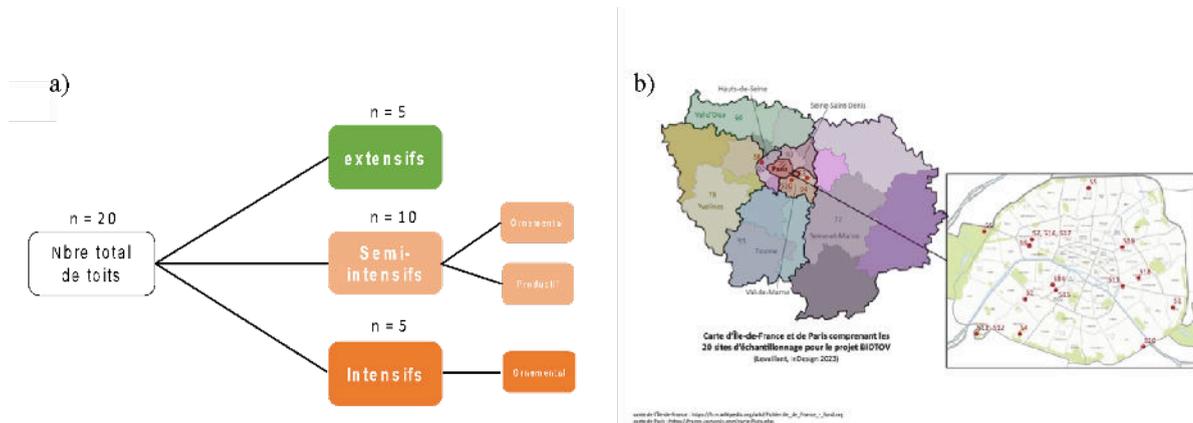


Figure 1 : Dispositif expérimental empirique : (a) différentes typologies de toits verts (b) localisation des sites ou toits verts (Île-de-France).

- Les **toits extensifs (EXT)** : toitures vertes présentant une couverture végétale peu diversifiée et xérophyte, profondeur de substrat entre 4 et 12 cm, pas d'entretien ni d'irrigation
- Les **toits semi-intensifs** : profondeur de substrat entre 12 et 30 cm, entretien et irrigation
 - **Ornementaux (SEMI)** : végétation relativement diversifiée, à visée esthétique et/ou pédagogique
 - **Productif (PROD)** : végétation relativement diversifiée, à visée de production alimentaire légumière ou fruitière, peu d'entretien et d'irrigation

● Les toits intensifs

- **Ornementaux (INT)** : végétation diversifiée à visée esthétique et/ou pédagogique, substrat ≥ 30 cm de profondeur, entretien et irrigation fréquents

Les sites ont été fournis grâce aux différentes collaborations avec les bailleurs, associations et entreprises possédant ou gérant des toits verts, et qui nous ont autorisé à y effectuer des prélèvements.

2.2. Description de la phase de terrain - échantillonnage :

L'échantillonnage s'est déroulé entre mars et fin avril 2023 au début de la saison de végétation. La procédure d'échantillonnage était similaire pour les 20 toitures sélectionnées, soit 3 points de prélèvements par toiture (constituant 3 pseudo-réplicats). Ces 3 points, espacés de 5 m (dans la mesure du possible), étaient placés le long d'un transect dans la partie centrale du toit (figure 2). Par la suite, nous avons prélevé des organismes du sol (collemboles, nématodes, vers de terre, isopodes, fourmis etc.) et des échantillons de sol en suivant différentes étapes (voir figure 2).

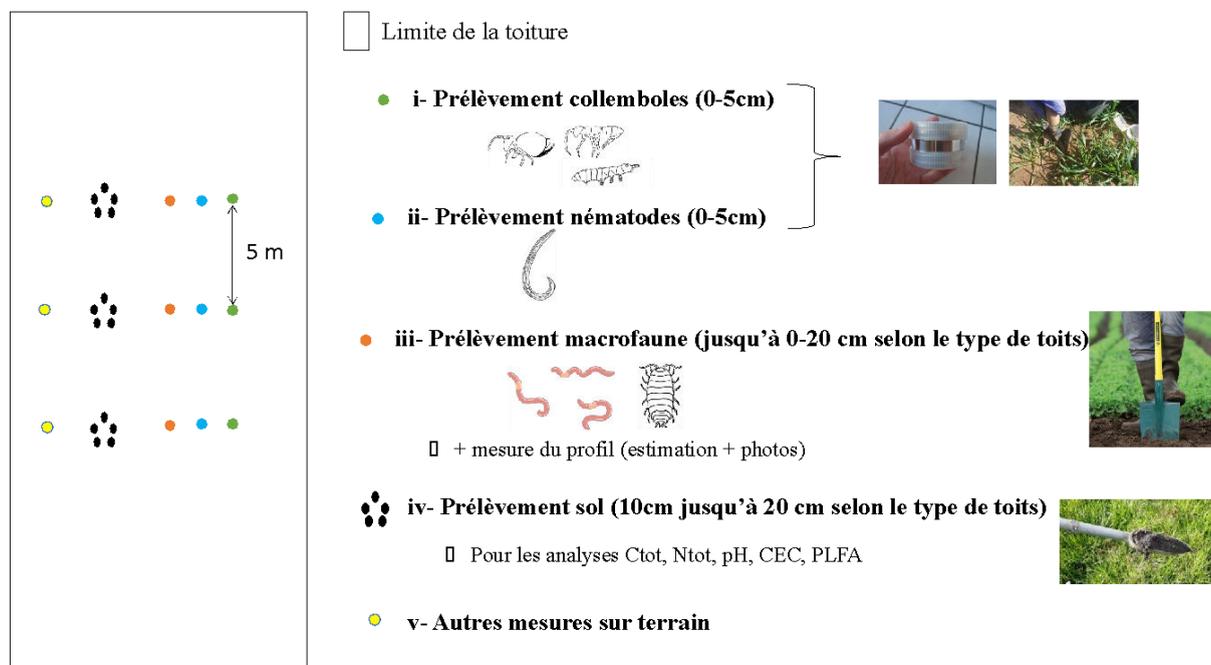


Figure 2 : Schéma et matériels utilisés pour les prélèvements

(i) Description du mode opératoire pour les échantillonnages de collemboles

Les prélèvements sont effectués à l'aide d'un cylindre de 5 cm de diamètre et 5 cm de profondeur.

Sur terrain :

1. Placer le cylindre de prélèvement sans les bouchons dans le sol, face biseautée vers le bas. Le cylindre doit être au même niveau que la hauteur du substrat.
2. Dégager le tour de la boîte à l'aide de la pelle, nettoyer le haut du cylindre et placer le couvercle du dessus (sans trop l'enfoncer)
3. Faire passer la pelle en dessous du cylindre afin de le sortir du sol, le retourner, nettoyer le tour, araser la surface au couteau, sans tasser avant de fermer le cylindre avec le deuxième bouchon
4. Placer l'étiquette sur le cylindre
5. Placer les prélèvements dans la glacière dans le sens de prélèvement (haut du cylindre vers le haut) sans contact direct avec les pains de glace (mettre papier bulle entre les 2)
6. Mettre les échantillons à 4°C (chambre froide) en attendant l'extraction (maximum 8 jours après l'échantillonnage)

Au laboratoire :

7. Faire un plan du placement des différents échantillons dans l'appareil (en indiquant les numéros de positionnement correspondant) avant de les placer dans l'extracteur à haut gradient de température de type MacFayden pendant 8 jours. Lors de l'extraction, les microarthropodes traversent un tamis à maille de 2mm et sont conservés dans de l'éthanol à 70%
8. A la fin de l'extraction, transférer les échantillons dans des piluliers annotés au code de l'échantillon.
9. Les organismes sont ensuite triés sous loupe binoculaire (différents groupes d'acariens, les autres microarthropodes et les morphotypes de collemboles). Certains individus sont décolorés et fixés sur des lames.
10. Les lames sont étudiées pour identifier à l'espèce les collemboles au microscope à contraste de phase.
11. Analyses statistiques/complément des informations sur les traits
12. Rédaction des résultats d'analyse

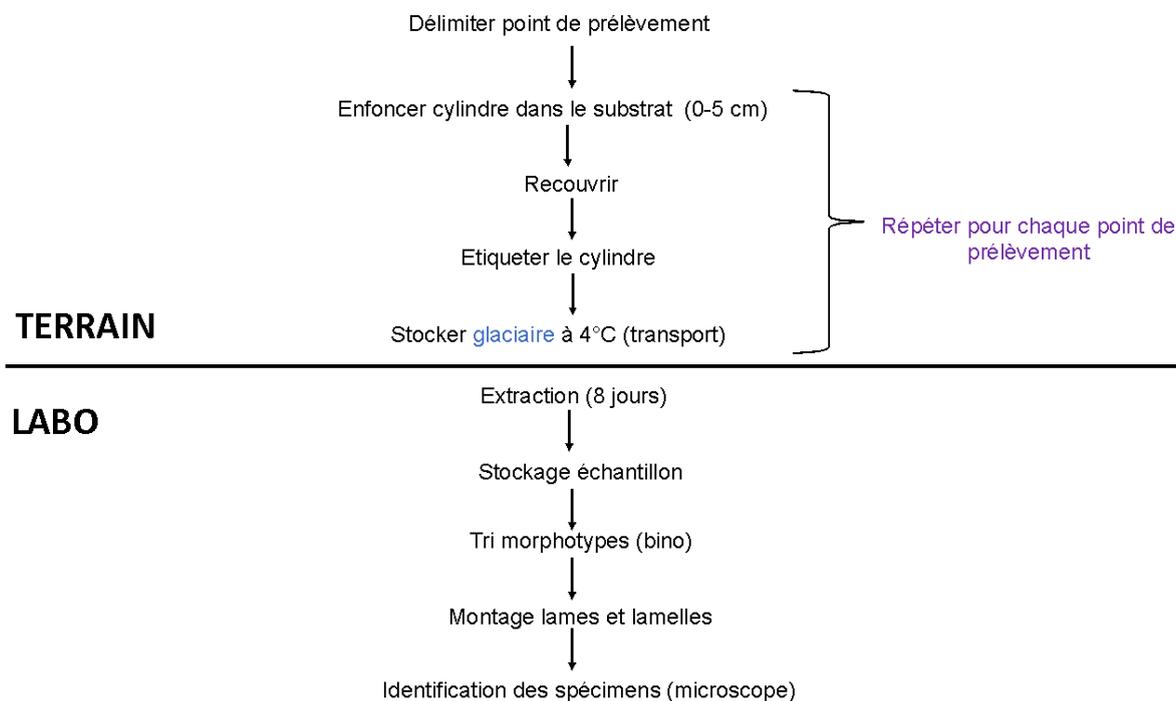


Figure 3 : Logigramme du mode opératoire pour les prélèvements et analyses des collemboles

(ii) Description du mode opératoire pour les échantillonnages de nématodes

Comme pour les collemboles, les prélèvements sont effectués à l'aide d'un cylindre de 5 cm de diamètre et 5 cm de profondeur.

Sur terrain :

1. Placer le cylindre de prélèvement sans les bouchons dans le sol, face biseautée vers le bas. Le cylindre doit être au même niveau que la hauteur du substrat.
2. Dégager le tour de la boîte à l'aide de la pelle, nettoyer le haut du cylindre et placer le couvercle du dessus (sans trop l'enfoncer)
3. Faire passer la pelle en dessous du cylindre afin de le sortir du sol, le retourner, nettoyer le tour, araser la surface au couteau, sans tasser avant de fermer le cylindre avec le deuxième bouchon
4. Placer l'étiquette sur le cylindre
5. Placer les prélèvements dans la glacière dans le sens de prélèvement (haut du cylindre vers le haut) sans contact direct avec les pains de glace (mettre papier bulle entre les 2)

6. Mettre les échantillons à 4°C (chambre froide) en attendant l'extraction (maximum 8 jours après l'échantillonnage)

Au laboratoire :

7. Placer les échantillons dans des filtres à café (non blanchis) dans les entonnoirs du petit extracteur préalablement préparé : tube sur le bas de l'entonnoir fermé avec une pince. Attention le bas du filtre doit être en contact permanent avec de l'eau. L'extraction dure 2 jours.
8. A la fin de l'extraction, ouvrir les tubes afin de récolter l'eau dans des piluliers de 90 ml annotés au code de l'échantillon. Conserver les échantillons au frais à 4°C
9. Les organismes extraits sont comptés vivants sous loupe binoculaire dans une boîte de pétri quadrillée (voir photo 1) dans un délai de 7 jours maximum à partir de la fin de l'extraction.
10. A la fin du comptage les échantillons sont transvasés dans des entonnoirs afin de récupérer les nématodes dans de l'eau au fond des petits tubes (voir photos 2 et 3). Ceux-ci sont fermés et conservés à 4-5°C en attendant la fixation (au faire rapidement après la fin du comptage).
11. Après comptage les individus sont fixés (bain-marie de 2 min à 65°C puis fixation dans une solution de 4% de formaldéhyde). Pour cela, dans chaque petit tube on garde uniquement 0,8 mL de l'échantillon (les nématodes sont au fond) et on rajoute ensuite 0,8 mL de formaldéhyde dilué à 8%. Après fixation les échantillons peuvent être conservés plusieurs semaines/mois dans les petits tubes transparents à 4°C.
12. Après fixation les nématodes sont placés entre lame et lamelle pour détermination de leur régime trophique sous microscope optique. Pour cela on prélève le culot du tube transparent à l'aide d'une pipette (dont le bout est coupé pour aspirer des éléments plus grossiers), environ 0,180 ml pour chaque lame. Les lames et lamelles sont « fermées » avec du vernis à ongle transparent.
13. Analyses statistiques
14. Rédaction des résultats d'analyse

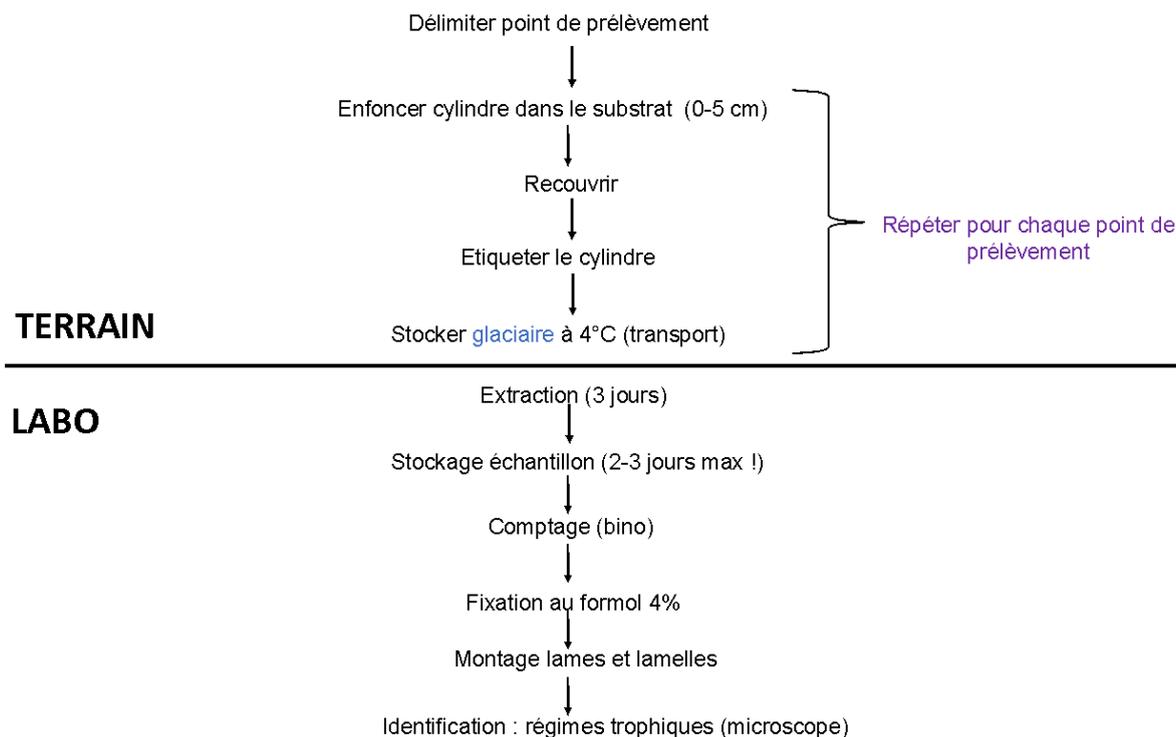


Figure 4 : Logigramme du mode opératoire pour les prélèvements et analyses des nématodes

(iii) Description du mode opératoire pour les échantillonnages des organismes de la macrofaune

Les prélèvements sont effectués à l'aide d'une bêche.

Sur terrain :

1. Prélever un monolithe de 20 cm × 20 cm × 20 cm (20 cm³) de sol (dans la limite du possible selon la profondeur de substrat du toit) et le placer dans les bacs blancs de tri.
2. Lorsqu'un individu de macrofaune (autres que vers de terre) est trouvé, le placer dans le pot en plastique avec de l'alcool à 70° (les individus doivent être recouverts de liquide)
3. Lorsqu'un individu de vers de terre est trouvé, le placer dans le pot en plastique avec du formol (les individus doivent être recouverts de liquide)
4. Passer maximum 40 min par point d'échantillonnage.
5. Conservation de l'échantillon à température ambiante

Au laboratoire :

6. Stocker les échantillons à température ambiante (conservation possible pendant plusieurs semaines/mois)
7. Les organismes sont ensuite triés sous loupe binoculaire (différents groupes). Identification à l'espèce pour certains groupes tels que les isopodes, fourmis, vers de terre
8. Analyses statistiques
9. Rédaction des résultats d'analyse

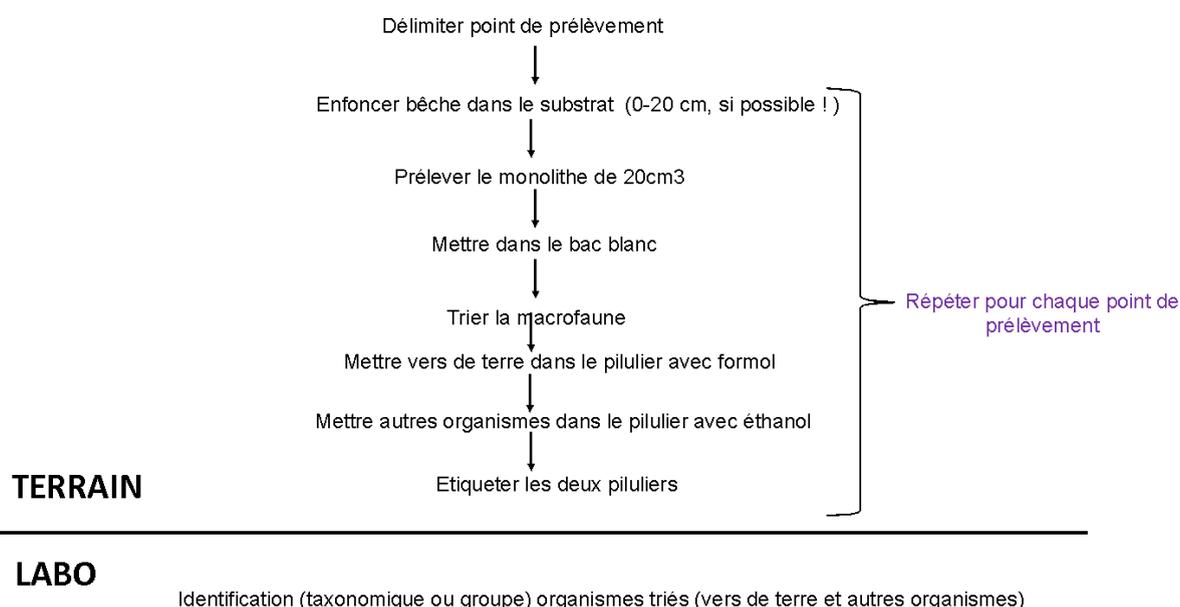


Figure 5 : Logigramme du mode opératoire pour les prélèvements et analyses des organismes de la macrofaune du sol.

(iv) Description du mode opératoire pour les échantillonnages de sol

Les prélèvements sont effectués à l'aide d'une tarière.

Sur terrain :

1. Pour chaque point de prélèvement, prélever 5 sous-échantillon à **0-10cm de profondeur (si la profondeur de substrat le permet ! idéalement pour les toitures extensives, semi-intensives et intensives)**. Puis, mettre les 5 sous-échantillons dans un sachet plastique zippé pour constituer 1 seul échantillon composite (par point de prélèvement) : soit 3 échantillons composite à 0-10 cm par site.

2. Pour chaque point de prélèvement, prélever 5 sous-échantillon à **10-20cm de profondeur (si la profondeur de substrat le permet ! idéalement pour les toitures semi-intensives et intensives)**. Puis, mettre les 5 sous-échantillons dans un sachet plastique zippé pour constituer 1 seul échantillon composite (par point de prélèvement) : soit 3 échantillons composite à **10-20 cm** par site.
3. Une fois les prélèvements terminés, les stocker en glacière. Les pains de glaces ne doivent jamais être en contact direct avec les échantillons. Mettre le papier bulle dessus.
4. Nettoyer à l'éthanol le matériel de prélèvement entre chaque site (pas nécessaire entre chaque répétition)

Au laboratoire

5. Stocker les échantillons à 4°C, les tamiser rapidement à 4 mm. Nettoyer les tamis entre chaque échantillon pour éviter les contaminations. Et changer de gants.
6. Prendre 100 à 200 g de l'échantillon tamisé à 4 mm ET le mettre dans tube (FP4). Stocker le au congélateur à -20°C pour les analyses microbiologiques (PLFA).
7. Prendre le reste (environ 800 g) de l'échantillon tamisé à 4 mm pour les analyses physico-chimiques (Ctot, Ntot, pH, CEC).
8. Retamiser le à 2 mm et le mettre dans une barquette.
9. Laisser le sécher à l'air libre

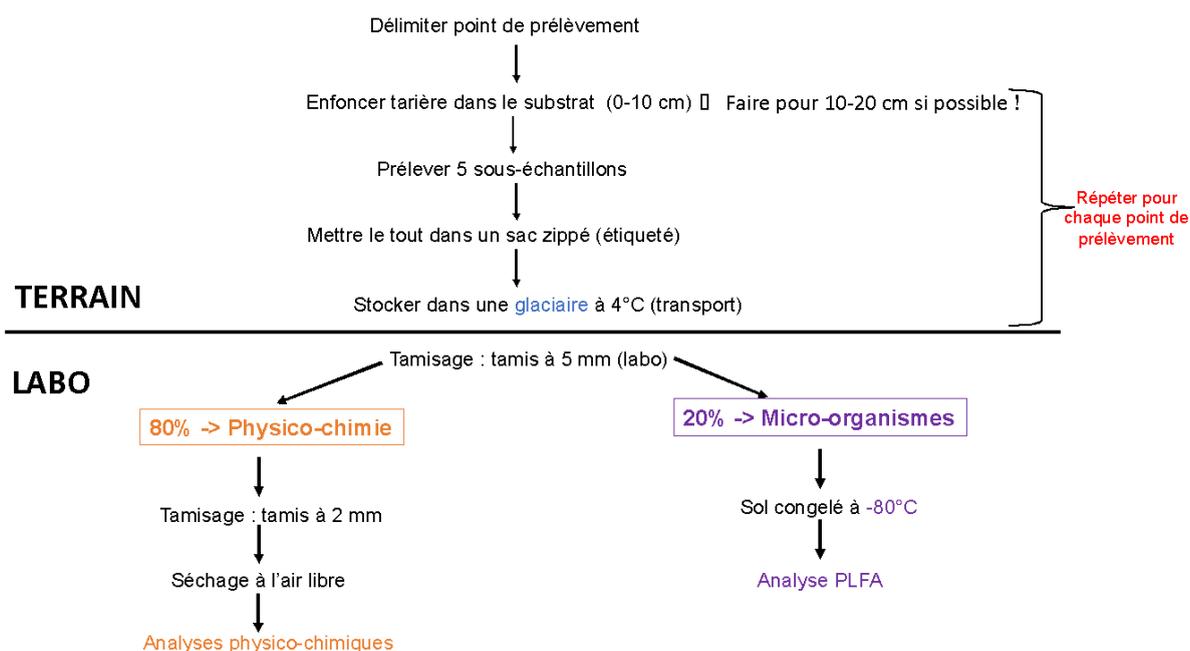


Figure 6 : Logigramme du mode opératoire pour les prélèvements et analyses des échantillons de sol.

(v) Autres mesures

D'autres mesures sont effectuées afin de caractériser les sites d'échantillonnage :

- Mesures de la quantité d'eau (humidité) du sol : différence entre poids frais et poids sec du sol (boite à tare)
- Mesures de la masse volumique du sol : poids du volume de sol (dans un cylindre de 10 cm de diamètre)
- Mesures du profil de sol : à l'aide d'un mètre, différencier les différents horizons d'un sol.