

UNIVERSITE DE MONS  
INSTITUT DES BIOSCIENCES  
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE  
LABORATOIRE DE ZOOLOGIE



**Impact des plantes exotiques envahissantes sur le  
comportement de récolte de *Bombus terrestris* (L.)  
(Hymenoptera, Apidae)**

Directeur de mémoire  
**Dr. Denis Michez**

Mémoire de fin d'études présenté par  
**Maxime Drossart**  
en vue de l'obtention du grade de  
**Maître en Sciences Biologiques, orientation  
Biologie des Organismes et Ecologie**

Année académique 2013-2014



UNIVERSITE DE MONS  
INSTITUT DES BIOSCIENCES  
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE  
LABORATOIRE DE ZOOLOGIE

**Impact des plantes exotiques envahissantes sur le  
comportement de récolte de *Bombus terrestris* (L.)  
(Hymenoptera, Apidae)**

Directeur de mémoire  
**Dr. Denis Michez**

Mémoire de fin d'études présenté par  
**Maxime Drossart**  
en vue de l'obtention du grade de  
**Maître en Sciences Biologiques, orientation  
Biologie des Organismes et Ecologie**

Année académique 2013-2014

*« Moins importe ce que nous faisons que la raison de le faire. »*

*Tyrion Lannister*

*Le Trône de Fer, Intégrale II, George R. R. Martin*

**M. Drossart, 2014.** Impact des plantes exotiques envahissantes sur le comportement de récolte de *Bombus terrestris* (Hymenoptera, Apidae). Mémoire en Biologie des Organismes et Ecologie, Université de Mons, 84pp.

**Résumé :**

Insectes pollinisateurs phytophages, les bourdons se nourrissent exclusivement de pollen et de nectar qui constituent respectivement leur principale source de protéines et d'énergie. Au cours de leurs visites florales, les ouvrières assurent le transfert des grains de pollen d'une fleur à l'autre, contribuant ainsi au succès reproducteur et à la pérennité des espèces végétales sauvages ou cultivées. Cependant, cet équilibre interactionnel est menacé depuis plusieurs décennies en raison d'une crise de la biodiversité touchant à la fois le règne animal et végétal. A l'instar des autres apoïdes, les bourdons n'échappent pas à cette tendance et présentent un déclin mondial de leurs populations. Les causes sont diverses et nombre d'entre elles sont liées à l'activité humaine. Parmi toutes ces causes, les espèces exotiques envahissantes constituent potentiellement un des facteurs expliquant le déclin de certaines espèces de bourdons. En effet, les plantes exotiques entrent en compétition avec les plantes indigènes dans divers milieux, que ce soit pour des ressources biotiques (i.e. pollinisation) ou abiotiques (i.e. nutriments, lumière, espace, eau). En outre, certaines de ces espèces envahissantes pourraient présenter des ressources florales plus attractives mais moins adéquates pour les bourdons.

L'objectif de ce travail est de mesurer l'impact de l'exploitation de plantes exotiques envahissantes sur le comportement et la qualité du régime alimentaire du bourdon polylectique *Bombus terrestris*. Pour cela, une comparaison entre espèces végétales exotiques (i.e. *Impatiens glandulifera* et *Buddleja davidii*) et indigènes (i.e. *Trifolium pratense*, *Lythrum salicaria* et *Calluna vulgaris*) a été réalisée au travers de mesures éthologiques (i.e. taux de visite, temps de butinage, efficacité de récolte) et nutritionnelles (i.e. apports nutritifs).

Suite aux études comparatives, le postulat de départ sur la qualité des ressources des espèces exotiques envahissantes a été nuancé. En effet, cette étude révèle que des espèces telles que *I. glandulifera* et *B. davidii* pourraient constituer des hôtes de qualité pour des pollinisateurs généralistes tels que le bourdon terrestre. En ce qui concerne les espèces indigènes, les résultats confirment que *T. pratense* constitue un hôte de prédilection pour *B. terrestris* alors que *C. vulgaris* et *L. salicaria* sont moins adéquats.

**Mots clefs :** Bourdons - Ethologie - Pollen - Nutrition - Plantes exotiques envahissantes

## Remerciements

*Par ces quelques mots, je tiens à remercier toutes les personnes ayant contribué à l'élaboration de ce travail.*

*Tout d'abord, je tiens à remercier le Professeur Pierre RASMONT pour m'avoir accueilli au sein du laboratoire de Zoologie. Sa passion pour la zoologie ainsi que son savoir auront sans aucun doute guidé mon cursus et contribué à former l'étudiant que je suis.*

*Je tiens, ensuite, à adresser mes remerciements au Docteur Denis MICHEZ qui a dirigé ce mémoire. Son expérience, ses conseils avisés et ses compétences scientifiques ont permis l'élaboration et la réalisation d'un projet s'inscrivant pleinement dans mes attentes. J'aimerais aussi le remercier pour la confiance qu'il m'a accordée en me permettant d'exercer la fonction d'élève assistant au cours de cette dernière année. Certes modeste, j'avais tout de même à cœur de pouvoir exercer cette fonction au cours de mon cursus. Pour cela, je lui en suis très reconnaissant.*

*Je remercie également le Professeur Pierre RASMONT du laboratoire de Zoologie de l'Université de Mons, le Professeur Vincent BELS du Muséum National d'Histoire Naturelle (France) et professeur visiteur à l'Université de Mons ainsi que le Docteur Nicolas VERECKEN, professeur assistant au sein de l'unité d'Evolution Biologique et d'Ecologie (EBE) de l'Université libre de Bruxelles pour avoir accepté d'être les membres de mon jury.*

*J'adresse également mes remerciements au Professeur Philippe GROSJEAN pour son aide et ses conseils avisés. Je suis également reconnaissant envers le Professeur Bernard WATHELET et Isabelle VAN DE VREKEN pour les analyses d'acides aminés effectuées au sein du service de Chimie Biologique et Industrielle de la Faculté universitaire des Sciences Agronomiques de Gembloux. Je remercie également le Professeur Ruddy WATTIEZ pour m'avoir permis de réaliser les analyses polypeptidiques au sein de son laboratoire.*

*Ce mémoire de fin d'études, réalisé au sein du laboratoire de Zoologie, a aussi été pour moi une formidable étape de ma vie que je n'oublierai pas. Pour cela, je remercie tous les membres du laboratoire de Zoologie que j'ai côtoyés tout au long de mon master.*

*Un technicien de qualité facilite considérablement la vie pendant le mémoire de fin d'études. Pour cela, je tiens à chaleureusement remercier Monsieur Dimitri EVRARD qui m'a apporté une précieuse aide à maintes reprises. Son investissement et sa constante*

bonne humeur m'auront même accompagné dans les Pyrénées pour en faire un séjour absolument remarquable. «Change rien, t'es super.» (Evrard, 2014).

Je tiens également à remercier Nathalie ROGER, Maryse VANDERPLANCK, Romain MOERMAN et Manuel DEHON pour leur encadrement et leurs conseils avisés durant cette année.

Je tiens à remercier tout spécialement Maryse VANDERPLANCK, une personne exceptionnelle à qui je dois énormément et sans qui un tel résultat n'aurait pas été imaginable. Son éternel optimisme et sa jovialité m'auront accompagné du début (avec ma conjonctivite) jusqu'à la fin de ce mémoire. Merci.

Je tiens aussi à remercier la Société nationale des chemins de fer belges qui, pendant ces cinq longues années, m'aura inculqué certaines valeurs telles que la patience ou le goût des choses simples (l'arrivée ponctuelle d'un train).

Ce master n'aurait pas du tout eu la même saveur sans vous, Maxence GERARD (Pitch), Sylvain DECLEVES (Syrphe), Jérôme CANEI (Bean) et Lucas TERRANA (Lou'). Je manque de superlatifs afin de décrire ces cinq années (JVM). Durant la réalisation de ce mémoire, j'ai également rencontré certaines personnes qu'il aurait vraiment été dommage ne pas connaître. Je remercie donc mon chef-assistant, Pilou, pour cette exceptionnelle année de tp ainsi que pour son humour et ses anecdotes transcendantes. Merci également à Nath', Manu, Rysema et Romain pour les nombreuses heures partagées ensemble « intra ou extra muros » ainsi qu'à Johnny pour son humour à la pointe et son aide dès que j'en ai eu besoin.

Enfin, rien de tout cela n'aurait été possible sans mes parents qui ont toujours donné sans compter et m'auront invariablement soutenu dans ces études. Je remercie aussi du fond du cœur ma famille et mes proches. Merci aussi à Delphine, pour les pieds photos ainsi que pour ses encouragements et sa patience aux débuts difficiles de ce mémoire. J'en ai toujours été extrêmement reconnaissant.

# Table des matières

<b>1. Introduction</b>	<b>8</b>
1.1. INTRODUCTION GÉNÉRALE	8
1.2. OPTIMAL FORAGING	10
1.2.1. Généralités	10
1.2.2. Adaptations, optimisation et gestion des flux énergétiques individuels	12
1.2.3. Optimisation énergétique coloniale	13
1.3. RELATIONS PLANTES- POLLINISATEURS	13
1.3.1. Généralités	13
1.3.2. Caractéristiques chimiques des récompenses florales	14
1.3.2.1. Pollen	14
1.3.2.2. Nectar	16
1.3.3. Optimisation de la récolte	16
1.3.3.1. Critères de choix floraux	16
1.3.3.1.1. Reconnaissance florale	16
1.3.3.1.2. Préférences florales	17
1.3.3.2. Apprentissage et performances d'exploitation	18
1.3.3.3. La fidélité florale	19
1.4. PERTURBATION DU RÉSEAU DE POLLINISATION	20
1.4.1. Déclin des apoïdes	20
1.4.2. Problématique des plantes exotiques envahissantes	23
1.4.2.1. Impact sur les pollinisateurs	24
1.4.2.2. Impact sur les espèces végétales	25
1.5. OBJECTIFS	25
1.6. MODÈLES BIOLOGIQUES	26
1.6.1. <i>Bombus terrestris</i>	26
1.6.2. Plantes exotiques envahissantes et indigènes	27
1.6.2.1. <i>Impatiens glandulifera</i>	28
1.6.2.2. <i>Buddleja davidii</i>	29
1.6.2.3. <i>Trifolium pratense</i>	30
1.6.2.4. <i>Calluna vulgaris</i>	31
1.6.2.5. <i>Lythrum salicaria</i>	32
<b>2. Matériel et méthodes</b>	<b>33</b>
2.1. PLANTES MODÈLES ET SITES DE RÉCOLTE	33
2.2. COLONIES DE <i>BOMBUS TERRESTRIS</i>	33
2.3. DESIGN EXPÉRIMENTAL	34
2.4. PARAMÈTRES CONSIDÉRÉS	35
2.4.1. Investissement des ouvrières : coût de l'exploitation des espèces florales	36
2.4.1.1. Taux de visite	36
2.4.1.2. Temps de butinage	37
2.4.2. Apport à la colonie : bénéfice de l'exploitation des espèces florales	38
2.4.2.1. Apport pollinique	38
2.4.2.2. Apport polypeptidique et en acides aminés	39
2.5. ANALYSES STATISTIQUES	43
2.5.1. Analyse de la variance	43
2.5.2. Test d'ajustement du $\chi^2$ (goodness-of-fit test/ pearson's chi-squared test for count data)	43
2.5.3. Régression linéaire simple	44
2.5.4. Modèle linéaire généralisé mixte (glmm)	44
2.5.5. Analyses multivariées	46

<b>3. Résultats .....</b>	<b>47</b>
3.1. CONTENU NUTRITIF DU POLLEN FLORAL.....	47
3.1.1. Teneur polypeptidique .....	47
3.1.2. Teneur en acides aminés.....	48
3.2. INFLUENCE DES PLANTES EXOTIQUES ENVAHISSANTES SUR LE COMPORTEMENT DES OUVRIÈRES ET L'APPROVISIONNEMENT DE LA COLONIE.....	50
3.2.1. Taux de visite .....	50
3.2.2. Temps de butinage .....	51
3.2.3. Nombre de voyages.....	52
3.3. APPORT À LA COLONIE .....	53
3.3.1. Caractérisation des pelotes.....	53
3.3.1.1. Contenu nutritif .....	53
3.3.1.2. Masse et surface .....	56
3.3.2. Apports polliniques et nutritifs.....	57
3.3.3. Efficacité de récolte de pollen.....	60
<b>4. Discussion .....</b>	<b>61</b>
4.1. IMPACT DES PLANTES EXOTIQUES ENVAHISSANTES SUR LE COMPORTEMENT DE <i>BOMBUS TERRESTRIS</i> ..	61
4.2. APPORT EN RESSOURCES ET QUALITÉ DU RÉGIME ALIMENTAIRE .....	63
4.3. DÉCLIN ET CONSERVATION DES BOURDONS.....	65
<b>5. Conclusion.....</b>	<b>67</b>
<b>6. Perspectives.....</b>	<b>68</b>
<b>7. Bibliographie.....</b>	<b>69</b>
<b>8. Annexes.....</b>	<b>81</b>

## 1. Introduction

### 1.1. Introduction générale

Les abeilles (Apoïdea, Apiformes) sont des insectes phytophages se nourrissant de pollen et de nectar au cours des différents stades de leur vie (Goulson, 2010). Les femelles collectent le pollen et le nectar afin d'alimenter les larves. Dans le cas des espèces sociales, ce sont principalement les ouvrières, femelles stériles, qui récoltent ces ressources (Goulson, 2010). Le pollen assure l'apport protéique permettant la croissance des larves alors que le nectar constitue la principale ressource énergétique de la colonie (Heinrich, 1979a). Ces deux ressources sont donc indispensables à la vie de tous les individus constituant la colonie, des larves aux adultes (Michener, 2000). Ces ressources sont largement distribuées dans l'environnement, mais diffèrent en quantité, qualité et accessibilité (Goulson, 2010). Par ailleurs, les visites d'insectes butineurs ont une importance capitale pour les plantes à fleurs. Ceux-ci contribuent au succès de leur reproduction par la pollinisation qui assure ainsi la pérennité de beaucoup d'espèces végétales (Ollerton *et al.*, 2011). Cette interaction réciproquement bénéfique pour les deux partis est appelée mutualisme. Elle permet aux organismes d'obtenir des biens et des services qu'ils ne pourraient produire ou acquérir seuls.

Néanmoins, cette relation ne se base pas uniquement sur les bénéfices rapportés mais aussi sur les coûts engendrés (Bronstein, 2001). Dès lors, cette relation pourrait être perçue comme un échange de commodités entre deux organismes, les plantes produisant le nectar afin d'obtenir le transport de leur pollen (Bronstein, 2001). L'enjeu étant élevé, une rivalité apparaîtra entre les plantes d'un même biotope afin d'essayer de surpasser la concurrence (Michez *et al.*, 2012).

Globalement, les animaux pollinisateurs assurent plus de 87% de la pollinisation des plantes à fleurs (Ollerton *et al.*, 2011). Ainsi, la pollinisation effectuée par les insectes pollinisateurs dont les bourdons permet la couverture du sol, la prévention contre l'érosion et assure l'alimentation des animaux (Heinrich, 1979a). Pour cela, la valeur annuelle de la pollinisation des cultures par les Apidae est évaluée à plus de 150 milliards de dollars (Gallai *et al.*, 2009). Malheureusement, ces pollinisateurs subissent un déclin massif depuis plusieurs décennies (Goulson *et al.*, 2008). L'une des causes potentielles pourrait être liée à la perturbation des réseaux de pollinisation, notamment par l'introduction de plantes exotiques envahissantes (Traveset & Richardson, 2006).

Les bourdons sont au cœur de cette dynamique plantes-pollinisateurs en participant activement à la pollinisation d'innombrables plantes à fleurs dont plus de 2500 destinées à l'alimentation humaine (Heinrich, 1979a ; Klein *et al.*, 2007).

Les bourdons sont des insectes eu-sociaux généralistes qualifiés de primitifs en raison de l'existence d'une période solitaire de la reine (Goulson, 2010 ; Kleijn & Raemakers, 2008). Le cycle est annuel et commence par l'émergence des reines à la fin de l'hiver ou au printemps, période à laquelle elles chercheront un site potentiel de nidification comme un ancien terrier de micromammifère (Goulson, 2010 ; FIG 1). La reine pondra un premier lot d'œufs fécondés, les larves se nourrissant de pollen et de nectar. Le rôle de la reine consiste à incuber les œufs mais également à butiner afin d'assurer le ravitaillement en pollen et nectar dans le nid (FIG 1). C'est sans aucun doute l'étape la plus délicate du cycle de la colonie de par la thermorégulation obligatoire du couvain mais aussi par le besoin constant d'apports alimentaires. La reine ira alors s'approvisionner non loin du nid. Le premier lot produit donnera des ouvrières qui aideront et remplaceront la reine dans sa tâche de collecte de ressources. C'est à ce stade que le cycle s'accélère et où la colonie atteindra une taille critique entre avril et août. A cette période, le grand nombre d'ouvrières réduit considérablement l'efficacité de la phéromone contraceptive produite par la reine afin de les empêcher de pondre. De plus, c'est à ce moment-là que celle-ci produit des individus reproducteurs (jeunes reines et mâles) (Goulson, 2010). Les sexués matures quitteront le nid pour s'accoupler alors que tous les individus de la colonie mère mourront. Après la fécondation, les reines continuent à s'alimenter afin de faire des réserves avant de chercher un site d'hibernation (FIG 1).

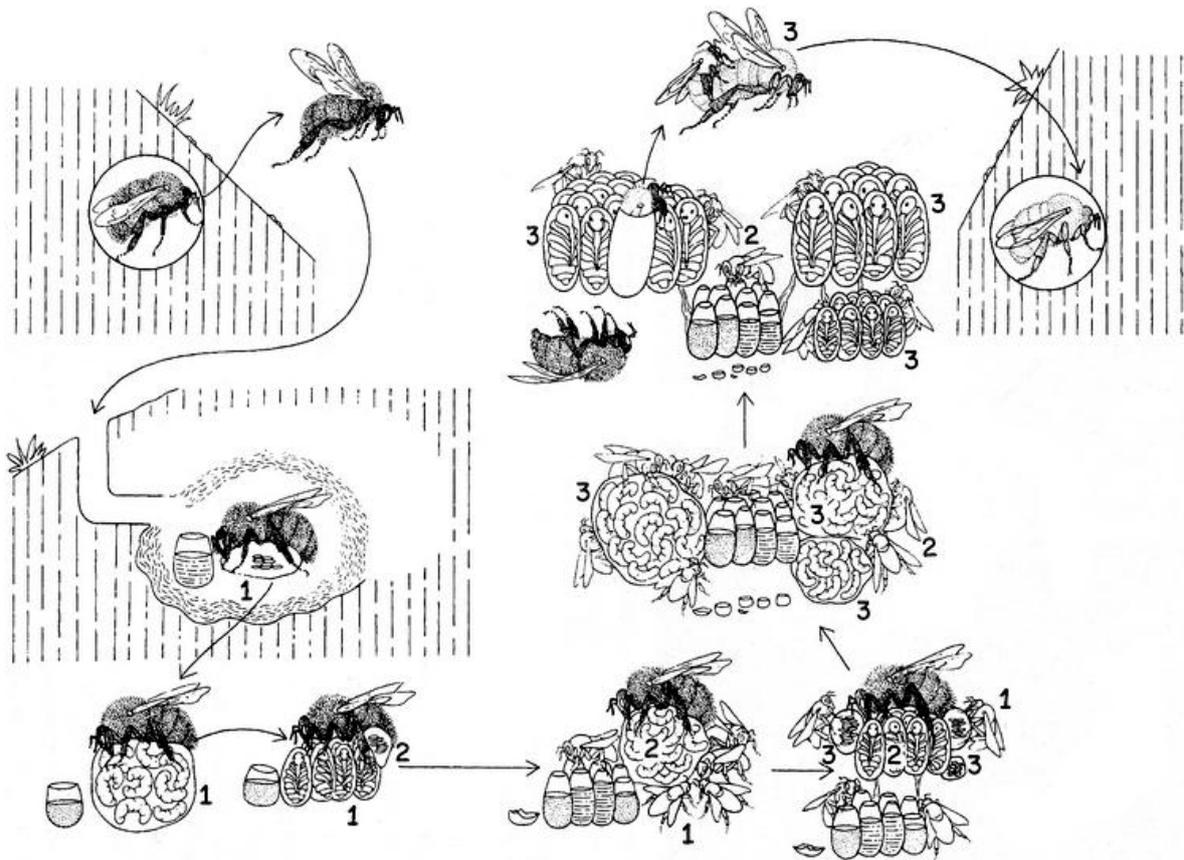


Figure 1 : Diagramme du cycle d'une colonie de bourdons, illustrant l'émergence de la reine (1), le développement des larves (2) ainsi que l'apparition de nouvelles reines (3) (d'après Heinrich, 1979a).

## 1.2. Optimal Foraging

### 1.2.1. Généralités

Comme décrit par Heinrich (1979a), une colonie de bourdon peut être assimilée à un véritable système économique. Les acteurs principaux sont les ouvrières qui permettent l'apport des ressources (i.e. pollen et nectar) à la communauté. Pour que l'ensemble fonctionne correctement, le bilan énergétique du système doit être positif (FIG 2).

Ainsi, une ouvrière ne doit pas dépenser plus d'énergie dans l'exploitation d'une ressource et ses coûts annexes (e.g. trajet, thermorégulation thoracique) que ce que celle-ci peut rapporter pendant une période de temps minimale. Cette notion de rendement énergétique basé sur l'activité de collecte est conceptualisée dans le principe d' « *Optimal Foraging* » pouvant se résumer comme la maximisation du gain énergétique par unité de temps investi dans cette activité (Stephens & Krebs, 1986).

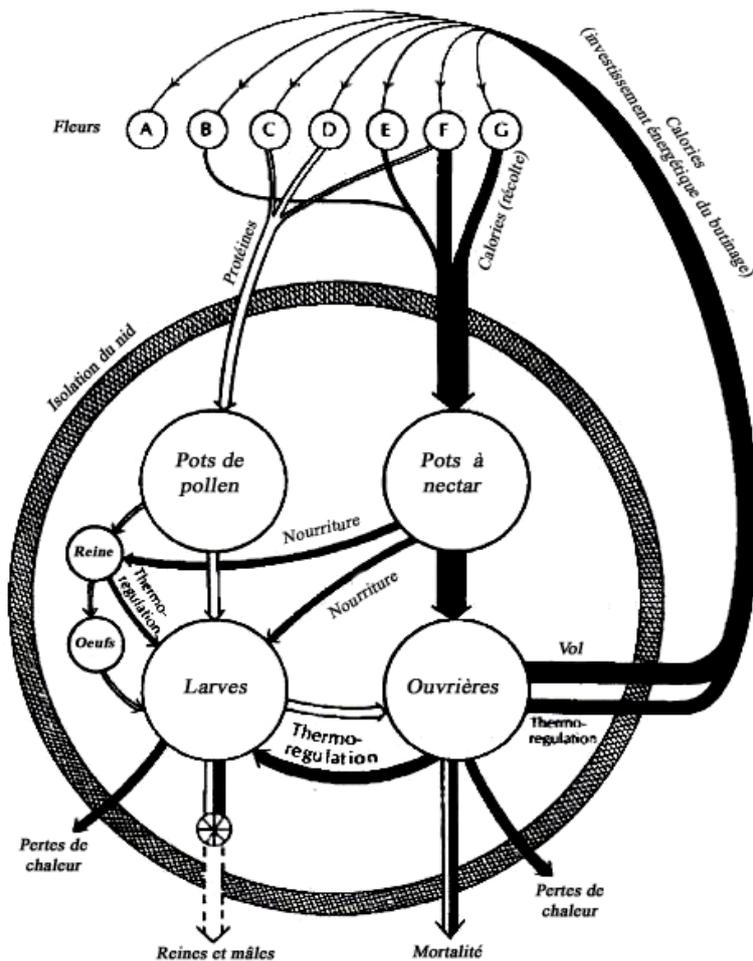


Figure 2 : Diagramme de flux d'énergie et de matière dans une colonie de bourdons (d'après Heinrich, 1979a).

Le succès d'une colonie repose donc sur l'optimisation des coûts et bénéfices énergétiques de l'ensemble des activités. Le réseau d'interactions entre les abeilles et les plantes étant en grande partie gouverné par les besoins énergétiques, une plasticité comportementale permet aux ouvrières de s'adapter aux conditions environnementales variables ainsi qu'à l'immense diversité florale (Heinrich, 1979a). De plus, la collecte de pollen ou de nectar n'induit pas le même investissement énergétique. Contrairement aux idées reçues, la récolte de pollen n'est pas un processus aléatoire et apparaît être plus complexe et plus coûteuse énergétiquement que celle du nectar (Heinrich, 1976 ; Harder, 1990 ; Rasheed & Harder, 1997a). Il nécessite d'être prélevé efficacement des anthères par des mouvements coordonnés et chaque grain doit être agrégé en pelotes (Heinrich, 1976 ; Westerkamp, 1997). A l'inverse, la prise de nectar implique peu de temps d'apprentissage afin de parvenir à une performance maximale. Le système ne serait donc pas basé exclusivement sur le nectar mais bien sur l'apport d'un pollen de qualité qui constitue le facteur critique principal pour le développement de la colonie (Kleijn & Raemakers, 2008).

### 1.2.2. Adaptations, optimisation et gestion des flux énergétiques individuels

Du point de vue morphologique et éthologique, cinq caractéristiques décrites par Heinrich (1979a) permettent d'optimiser la récolte et donc la gestion du flux d'énergie :

- Premièrement, la taille des individus varie au sein d'une colonie et serait liée à la division des tâches (polyéthisme) (Goulson *et al.*, 2002 ; Goulson, 2010). En effet, les ouvrières de petite taille resteront préférentiellement au nid alors que les plus grandes iront butiner, celles-ci étant plus aptes à réguler leur température et à voler sous des conditions atmosphériques plus difficiles (e.g. vent, basses températures). Celles-ci pourront aussi plus facilement accéder au nectar des fleurs à longue corolle. Néanmoins, la relation entre la taille et la spécialisation est loin d'être une règle générale. En effet, les petites ouvrières seront très utiles pour butiner sur des fleurs agrégées à corolle peu profonde, justifiant une plasticité dans l'attribution des fonctions (Free, 1955 ; Goulson *et al.*, 2002 ; Cameron & Robinson, 1993).
- Deuxièmement, la vitesse de vol est un bon indicateur de l'économie d'énergie réalisée de par le coût graduel qu'il demande en fonction de son intensité.
- Troisièmement, la charge qu'un bourdon peut transporter, tant en pollen qu'en nectar, peut fortement varier. Les bourdons pourront transporter jusqu'à 90% de leur propre poids en nectar, ainsi que 20% en pollen.
- Quatrièmement, la distance de butinage est un facteur influençant grandement le bénéfice de collecte. Celle-ci peut varier de quelques centaines de mètres à 10 kilomètres au vu de la qualité et de la quantité de ressources disponibles aux abords du nid (Cresswell *et al.*, 2000 ; Knight *et al.*, 2005 ; Walther-Hellwig & Frankl, 2000 ; Wolf & Moritz, 2008). De piètres conditions environnementales pousseraient les ouvrières à couvrir un territoire plus vaste afin de collecter leurs ressources (Heinrich, 1976 ; Cresswell *et al.*, 2000 ; Walther-Hellwig & Frankl, 2000).
- Enfin, cinquièmement, les bourdons optimisent leurs récoltes en effectuant des choix floraux, fleurs pour lesquelles ils apprennent la prise en main et se fidélisent (Laverty, 1994 ; Goulson, 1994 ; Chittka & Schrürkens, 2001).

Globalement, pour Heinrich (1979a), différentes stratégies peuvent simultanément être mises en œuvre afin de maximiser la productivité de la colonie. Le potentiel de la colonie sera utilisé au maximum pendant que les ressources sont disponibles et avant la production des nouvelles reines et mâles qui induisent un lourd coût énergétique. En effet, les nouvelles

reines nécessitent une plus grande quantité de nourriture pendant une longue période et, tout comme les mâles, ne prennent pas part aux récoltes.

Il faudra donc avoir suffisamment de nourriture disponible ainsi que d'ouvrières afin de produire et nourrir les sexués. Le profit final de la colonie n'est donc calculable qu'avant l'effondrement de la colonie par la somme du nombre de sexués produits.

### **1.2.3. Optimisation énergétique coloniale**

Rasheed & Harder (1997a) avancent que les ouvrières butineuses optimisent le rendement énergétique net apporté à la colonie sur le long terme plutôt que de le maximiser à chaque instant. Précédemment, plusieurs facteurs ont été mis en évidence afin d'expliquer les pertes énergétiques liées à l'extraction des ressources. La durée de vie d'une ouvrière est un autre critère à prendre en compte dans le profit global de la colonie. En effet, celle-ci varie de par la principale fonction de l'ouvrière (butineuse ou intra-nidale) et l'intensité avec laquelle elle l'exécute (Rasheed & Harder, 1997a). Ainsi, une intensification de l'activité d'une ouvrière butineuse diminue sa durée de vie et donc le temps au cours duquel elle contribue à la vie de la colonie (Rasheed & Harder, 1997a ; Pelletier & McNeil, 2004).

De plus, une ouvrière ne butinera pas toujours aussi activement qu'elle le pourrait. En effet, l'intensité du travail à l'extérieur de la colonie ainsi que sa nature varieraient en fonction de l'état des ressources et du nombre de larves au sein de la colonie. Ainsi, lorsque tout risque de pénurie alimentaire serait écarté, les ouvrières diminueraient au maximum les risques et les coûts liés à l'exploitation de ressources (Free, 1955 ; Pelletier & McNeil, 2004).

L'objectif final de la colonie est donc d'optimiser sur le long terme le rendement énergétique net tout en minimisant les coûts et risques directement imputables à une activité maximale de chaque ouvrière de manière continue.

## **1.3. Relations plantes- pollinisateurs**

### **1.3.1. Généralités**

Le besoin relationnel entre plantes et pollinisateurs est mutuel (Westerkamp, 1996). Les systèmes de pollinisation peuvent être perçus comme des marchés biologiques dans lesquels les pollinisateurs choisissent entre différents produits (plantes) sur base de leurs qualités nutritionnelles. Ces plantes sont en continuelle compétition afin de s'octroyer les clients (pollinisateurs) (Chittka & Schrürkens, 2001). De véritables liens se tissent donc parfois, induisant l'apparition de préférences florales chez les pollinisateurs.

Le degré de spécialisation florale varie énormément suivant les espèces mais aussi en fonction des individus (Heinrich, 1979a). Ceux-ci ont dans leur répertoire d'exploitation florale des spécialisations majeures et mineures interchangeables leur permettant de s'adapter à un environnement changeant tout en tirant profit au maximum des ressources présentes (Heinrich, 1979a). L'efficacité de cette stratégie repose sur l'estimation précise des récompenses florales dans l'environnement (Laverty, 1994).

Cette exploitation bilatérale est cependant balancée car les plantes doivent constamment attirer les pollinisateurs tout en minimisant les pertes de pollen (Westerkamp, 1996; Praz *et al.*, 2008 ; Müller *et al.*, 2006). En effet, la collecte de pollen et de nectar représente une grande perte énergétique pour la plante (Heinrich, 1979a ; Müller *et al.*, 2006). De plus, d'autres coûts sont à prendre en compte comme les dommages que peuvent causer les insectes pollinisateurs (e.g. vol de nectar) et ceux liés à la dépendance des plantes pour les mutualistes dans le succès de reproduction (Bronstein, 2001).

Toutes les caractéristiques florales sont le résultat d'une pression sélective exercée par les pollinisateurs afin d'optimiser l'exploitation des ressources (Michez *et al.*, 2012). Celles-ci sont le résultat de la sélection naturelle et sont apparues plusieurs fois indépendamment au cours de l'évolution pour pallier aux divers changements imposés par les vecteurs pollinisateurs, constituant les syndromes de pollinisation (Thorp, 2000).

### **1.3.2. Caractéristiques chimiques des récompenses florales**

#### **1.3.2.1. Pollen**

Le pollen est composé de protéines, d'acides aminés, de stérols mais aussi d'azote, de sucres, de vitamines, d'amidon, d'acides organiques, d'acides nucléiques, d'enzymes et de pigments (Pouvreau, 2004). Ces composés sont présents en concentrations variables selon les espèces végétales (i.e. la concentration en protéines brutes varie de 2,5% à 61% en masse sèche ; Buchmann, 1986 ; Roulston *et al.*, 2000).

La valeur nutritive du pollen est habituellement évaluée sur base de la teneur en protéines, les bourdons récoltant préférentiellement des pollens à haute teneur protéique (Roulston *et al.*, 2000 ; Cook *et al.*, 2003 ; Tasei & Aupinel, 2008 ; Leonhardt & Blüthgen, 2012). Néanmoins, le terme « protéine » peut faire référence à différents types de molécules dans la littérature : (i) aux protéines brutes (évaluées sur base de la concentration en azote) ; (ii) aux acides aminés totaux ; et (iii) aux polypeptides (Vanderplanck *et al.*, 2014b).

Les polypeptides (masse moléculaire > 10000 Da) ont différentes fonctions chez les insectes : (i) amélioration de la fonction immunitaire (Lee *et al.*, 2006), (ii) fixation et stockage des graisses (Cohen, 2004) ; (iii) action sur les glandes hypopharyngiennes et sexuelles des adultes ; (iv) développement larvaire (Chapman, 2012) ; (v) enzymes pouvant influencer la valeur nutritionnelle des régimes alimentaires, de par la dégradation de nutriments comme les lipides et les protéines ou par la formation de complexes insolubles ou indigestes (Cohen, 2004).

L'acide aminé constitue la sous-unité du polypeptide et peut donc se retrouver sous forme libre ou agrégée (Chapman, 2012). D'après De Groot (1953), certains sont considérés comme essentiels ou non et sont classés comme ci-dessous (TAB 1). Une carence en acides aminés essentiels pourrait entraîner un défaut de croissance chez l'insecte (Chapman, 2012). Plusieurs autres acides aminés assurent différentes fonctions : (i) l'aspartate et le glutamate constituent des sources d'azote pour les bourdons alors que (ii) Micheu *et al.*, (2000) ont démontré l'importance de la proline lors du vol.

Les stérols sont, quant à eux, impliqués dans la structure des membranes cellulaires et sont précurseurs d'importantes hormones stéroïdiennes ainsi que régulateurs de processus de développement (Behmer & Nes, 2003). Néanmoins, peu d'études ont été faites sur le rôle de ces composés dans les interactions plantes-abeilles.

Il semble de plus en plus avéré que la composition en acides aminés et en polypeptides détermine, plus que la teneur en protéines brutes, la quantité de pollen requise par les abeilles (Nicolson, 2011 ; Vanderplanck *et al.*, 2014b). Il semblerait donc que la valeur nutritive du pollen puisse être définie plus précisément par la composition en acides aminés et en polypeptides (Loper & Cohen, 1987 ; Vanderplanck *et al.*, 2014b).

Tableau 1 : Tableau groupant les acides aminés suivant leur importance pour l'alimentation d'*Apis mellifera* (d'après De Groot, 1953).

Non essentiels	Peu essentiels	Moyennement essentiels	Plus essentiels
Tyrosine	Tryptophane	Arginine	Leucine
Cystéine	Méthionine	Lysine	Isoleucine
Sérine	Histidine	Phénylalanine	Valine
Hydroxyproline		Thréonine	
Alanine			
Glycine			
Proline			

### **1.3.2.2. Nectar**

Le nectar floral est considéré comme étant le médiateur principal intervenant dans le mutualisme entre les plantes à fleurs et les pollinisateurs (Brandenburg *et al.*, 2009 ; Heil, 2011). Ce composé est une innovation des angiospermes, utilisé comme récompense en échange du transport de pollen par le vecteur animal (Brandenburg *et al.*, 2009). Il est produit au niveau des nectaires et est principalement composé d'eau, d'acides aminés et d'hexoses comme le glucose et le fructose, et de disaccharides comme le sucrose (Brandenburg *et al.*, 2009 ; Heil, 2011). Bien que les sucres nectarifères soient habituellement bien plus concentrés (i.e. 100-1000 fois) que les acides aminés, ces derniers peuvent grandement affecter l'attractivité du nectar (Heil, 2011). En effet, contrairement aux vertébrés pour lesquels il est possible de trouver d'autres sources d'azote, les abeilles ne peuvent s'en procurer que via le pollen et le nectar. Ainsi, de plus grandes concentrations en acides aminés sont retrouvées dans le nectar de fleurs adaptées aux abeilles (Petanidou *et al.*, 2006).

Outre son rôle d'attraction envers les pollinisateurs, certains composés secondaires et certaines protéines anti-microbiennes du nectar sont produits afin de protéger la plante contre les micro-organismes et animaux voleurs de nectar (Heil, 2011).

### **1.3.3. Optimisation de la récolte**

Trois étapes permettent d'optimiser la récolte de ressources : (i) la reconnaissance et le choix de ressources florales de qualité ; (ii) l'apprentissage de la manipulation optimale des fleurs ; et (iii) la fidélité ou constance florale.

#### **1.3.3.1. Critères de choix floraux**

##### **1.3.3.1.1. Reconnaissance florale**

Les abeilles exploitent les ressources florales dans un réseau de pollinisation dynamique et complexe dans lequel les fleurs ainsi que leurs récompenses sont distribuées inégalement dans le temps et l'espace (Goulson, 1999). Les signaux floraux (i.e. morphologie florale, couleurs vives, U.V., odeurs, présence de pollen et association pollen-nectar) restent quant à eux constants et permettent une reconnaissance florale selon différents sens (i.e. visuel, olfactif et gustatif) (Heinrich, 1979a ; Laverty, 1994 ; Raguso, 2004).

Une grande pression sélective a probablement été générée sur les fleurs afin d'optimiser les signaux indicateurs de récompenses (i.e. variation de la couleur florale, production d'odeurs caractéristiques ou variations du contour géométrique) ainsi que les

machineries sensibles et cognitives permettant de les percevoir (Gegear & Thomson, 2004 ; Raguso, 2004 ; Chittka & Raine, 2006).

Il semble de plus en plus avéré que l'abeille mellifère et les bourdons soient capables de discriminer les fleurs qui offrent les plus grandes récompenses sur base de leur taille, leur sexe ou leur symétrie (Goulson, 1999 ; Howell & Alarcón, 2007). Les mécanismes de reconnaissance ne sont pas encore bien compris mais il semblerait que ces abeilles sociales détectent notamment les variations de couleurs florales et concentrent leurs efforts sur les fleurs aux couleurs pour lesquelles ils ont associé les récompenses durant leur apprentissage (Nuttman *et al.*, 2006 ; Howell & Alarcón, 2007). De plus, les signaux olfactifs joueraient un rôle essentiel. Deux types d'olfaction de récompenses nectarifères sont possibles : (i) la détection directe de la présence de nectar par l'individu ; ainsi que (ii) le marquage d'odeurs par certains individus renseignant sur la qualité de la ressource florale (Howell & Alarcón, 2007). C'est le deuxième cas qui est actuellement le plus étudié. Le marquage floral permettrait aux bourdons d'éviter ou non les fleurs visitées précédemment par des congénères, des individus conspécifiques ou d'une espèce différente (Goulson *et al.*, 1998 ; Stout & Goulson, 2001 ; Lázaro & Piazzon, 2014).

#### **1.3.3.1.2. Préférences florales**

Goulson *et al.* (2005) ont compilé plus de 3000 visites florales de différentes espèces de bourdons dans plusieurs sites en Grande-Bretagne. Cette étude met en évidence les familles végétales préférées selon l'exploitation de pollen ou de nectar. En effet, alors que les Fabaceae constitueraient la principale source de pollen (i.e. 62% des visites) et de nectar (i.e. 39% des visites), certaines autres familles ne seraient visitées que pour l'une des ressources. C'est notamment le cas pour les Ericaceae qui seraient en grande partie visitées pour le pollen (i.e. 14% des visites polliniques et 3% des visites nectarifères). La situation est inverse pour les Asteraceae et les Boraginaceae qui constituent des ressources nectarifères importantes (i.e. respectivement 22% et 21% des visites nectarifères).

Plusieurs critères prévalent et conditionnent l'activité de butinage des bourdons comme la densité et, dans une moindre mesure, la diversité florale locale, la minimisation de la distance inter-plantes, ainsi que la grande quantité de ressources délivrées par la fleur ou l'inflorescence (Cook *et al.*, 2003 ; Ishii, 2005 ; Hegland & Boeke, 2006).

Le volume nectarifère et plus particulièrement la concentration en sucres sont des caractéristiques florales permettant le développement de préférences florales lors de la collecte de nectar (Cnaani *et al.*, 2006).

La prise de pollen implique, quant à elle, un plus grand investissement énergétique que celle du nectar (Heinrich, 1976 ; Harder, 1990 ; Rasheed & Harder, 1997a). De ce fait, les bourdons tendent donc à montrer un plus haut degré de constance florale quand ils collectent du pollen (Goulson & Darvill, 2004). La composition chimique du pollen influence aussi le choix des bourdons qui sélectionnent les fleurs contenant un pollen de haute valeur nutritive (en protéines et acides aminés) et ce, de manière à maximiser la quantité de protéines collectées tout en minimisant les coûts. De tels comportements viseraient à promouvoir le développement larvaire tout en maximisant la durée de vie des butineuses (Rasheed & Harder, 1997b ; Cook *et al.*, 2003 ; Tasei & Aupinel, 2008 ; Leonhardt & Blüthgen, 2012). Les plantes auraient donc pu être sélectionnées de par le contenu de leur pollen (acides aminés, polypeptides, stérols) pour la fidélisation des pollinisateurs (Roulston *et al.*, 2000 ; Vanderplanck *et al.*, 2014a).

La morphologie d'une fleur peut varier au travers de sa taille, sa couleur ainsi que sa surface d'exposition. Elle déterminera donc bien souvent par quels organismes celle-ci est visitée et certaines d'entre elles auront une forme adaptée. Les fleurs zygomorphes (i.e. symétrie bilatérale) exigent, de par leur morphologie, des pollinisateurs relativement efficaces, comme les bourdons, afin de forcer l'entrée et l'accès aux ressources (Heinrich, 1979a).

### **1.3.3.2. Apprentissage et performances d'exploitation**

Les caractères morphologiques d'une fleur déterminent sa complexité. Celle-ci se définit généralement comme étant la difficulté graduelle d'extraction des récompenses florales dissimulées par les traits floraux (Heinrich, 1979a ; Laverty, 1994). Néanmoins, il réside une autre vision plus objective de la complexité morphologique florale venant compléter la première. Celle-ci serait directement liée à la difficulté encourue par les pollinisateurs afin de manipuler correctement la fleur et donc à l'investissement énergétique de l'apprentissage qui en découle (Laverty, 1994).

Cet apprentissage se définit comme étant la modification adaptative du comportement basée sur l'expérience et se traduit par la diminution du temps de prise en main de la plante accompagnée d'une plus grande précision sur des visites successives (Laverty, 1994 ; Raine & Chittka, 2008). D'après Laverty (1994), la prise en main de fleurs à morphologie complexe (i.e. fleur fermée et placement inhabituel du nectar) serait plus difficile et plus longue mais néanmoins indispensable afin de minimiser le temps de visite (i.e. > 10s) (Goulson, 2010). En effet, il existe une corrélation positive entre la vitesse d'apprentissage et la performance de

récolte (Raine & Chittka, 2008). Les fleurs à morphologie simple (i.e. fleur ouverte, emplacement du nectar à la base) ne nécessiteraient, quant à elles, que peu de temps d'apprentissage. Ainsi, ce dernier serait équivalent au temps de visite (i.e. < 1s) pour ces fleurs (Goulson, 2010). Néanmoins, le degré de complexité ne serait pas aussi clair qu'il n'y paraît, la moindre différence causant de grands effets sur l'apprentissage. Il s'agirait donc d'un continuum dans lequel la durée d'apprentissage peut grandement varier mais serait plus petite lors de transitions entre fleurs à morphologie similaire (Lavery, 1994).

En outre, la durée de prise en main de la fleur dépendrait de la nature de la récolte. L'apprentissage de l'extraction du nectar d'une fleur à morphologie complexe prendrait trois fois moins de temps que l'extraction de pollen d'une fleur à morphologie simple (Raine & Chittka, 2007). Ainsi, il faudrait moins de 100 visites (équivalent à 1h d'exploitation) afin d'atteindre une performance d'exploitation maximale dans l'apprentissage de la récolte de nectar d'une fleur à morphologie complexe (Lavery, 1994 ; Chittka *et al.*, 1997).

Enfin, certaines caractéristiques individuelles comme l'âge, la taille ou la préférence innée d'une couleur seraient aussi source de variation des performances de récolte (Lavery, 1994 ; Raine & Chittka, 2007). En effet, les plus grands individus apprennent plus vite, forcent mieux l'entrée de la fleur, ont une meilleure acuité visuelle et plus de chance d'atteindre le nectar avec leur longue langue (Lavery, 1994 ; Spaethe & Chittka, 2003). Les plus vieilles ouvrières sont, quant à elles, moins efficaces (i.e. diminution du temps de vol ainsi que la vitesse de butinage) et ont moins tendance à apprendre à exploiter de nouvelles espèces végétales (Heinrich, 1976).

### **1.3.3.3. La fidélité florale**

La constance florale, également appelée fidélité, est la tendance à visiter un type de fleur précis en contournant les autres qui offrent une récompense similaire ou supérieure (Goulson, 1994). L'effet global de la fidélité florale serait d'empêcher une surexploitation de la fleur par des individus inexpérimentés et de sélectionner favorablement un groupe de pollinisateurs possédant l'habileté pour les exploiter et qui aurait accès à une ressource protégée de la plupart des autres pollinisateurs (Heinrich, 1979a ; Lavery, 1994 ; Westerkamp, 1997).

Les avis divergent quant à l'origine de la fidélité. Il pourrait s'agir d'une limite de capacités cognitives dans la détection et l'utilisation de multiples couleurs florales simultanément (Waser, 1983 ; Goulson, 2000 ; Spaethe *et al.*, 2001). En effet, les bourdons visitent en grande partie des fleurs de même couleur (Gegear & Thomson, 2004). Cependant,

Chittka (1998) affirme qu'une information, même non utilisée, pourrait être retenue plusieurs semaines malgré l'apprentissage d'autres compétences. De ce fait, selon les conditions environnementales, différentes associations entre données sensorielles et compétences de manipulations pourraient être réalisées. La constance florale serait donc plus probablement une adaptation comportementale et non une limitation, pouvant être rapidement ajustée en fonction des informations récoltées (e.g. valeur énergétique de la fleur visitée, complexité florale, distance entre fleurs, etc.) (Grüter & Ratnieks, 2011).

Les bénéfices de la fidélité florale sont multiples. Celle-ci favorise la dissémination du pollen aux plantes conspécifiques, une grande partie du pollen étant transférée aux fleurs de la même espèce (Ishii, 2005). Quant aux pollinisateurs, l'importance écologique de la fidélité apportée à une fleur réside dans son bénéfice énergétique net engrangé par l'ouvrière en minimisant le coût d'alternance entre diverses fleurs (Waser, 1983 ; Gegear & Thomson, 2004). De plus, la spécialisation augmente grandement la productivité vu qu'aucun individu de la colonie n'a besoin de maîtriser tous les mécanismes d'exploitation afin de subvenir aux besoins de la colonie. Elle résulte donc d'une interdépendance des individus qui aboutit à un échange du capital accumulé, d'ailleurs directement disponible chez les bourdons pour toute la colonie (Heinrich, 1979a).

#### **1.4. Perturbation du réseau de pollinisation**

##### **1.4.1. Déclin des apoïdes**

Le déclin des apoïdes fut constaté en Belgique dès 1980 (Leclercq *et al.*, 1980). Par la suite, plusieurs études confirmèrent cette baisse des effectifs. Parmi les 360 espèces d'apoïdes connues en Belgique, plus de 25% seraient en régression, 40% sembleraient stables, 11% en expansion et le statut de 23% des espèces serait indéterminé de par leur rareté (Rasmont *et al.*, 2005) (FIG 3). Quant aux bourdons, plusieurs études affirment qu'environ 50% des espèces belges se raréfient (Rasmont, 1988 ; Rasmont & Mersch, 1988 ; Rasmont *et al.*, 2005).

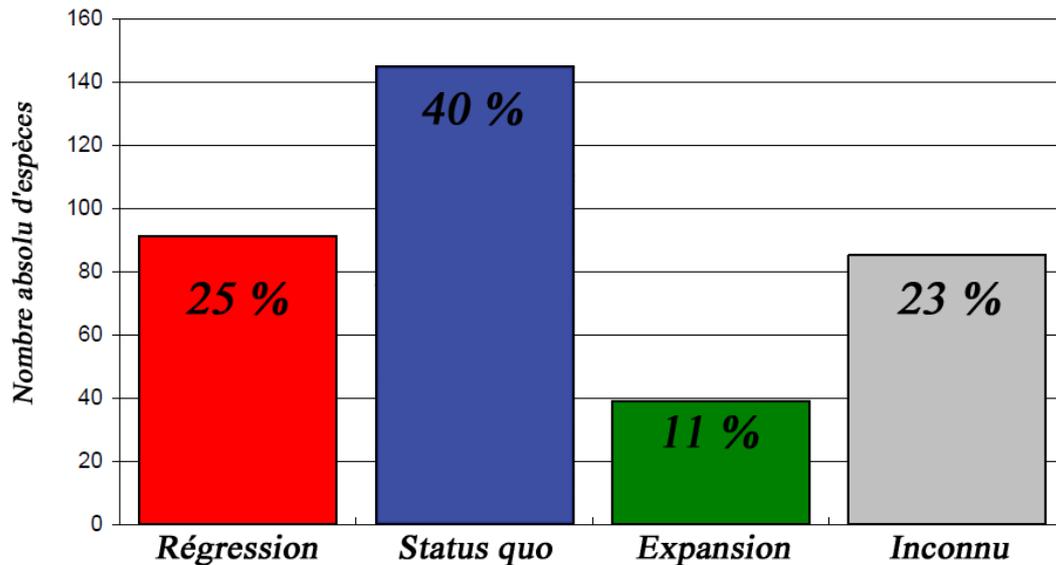


Figure 3 : Statut des espèces d'apoïdes en Belgique (d'après Rasmont *et al.*, 2005).

A l'échelle européenne, le constat est similaire : 91 espèces d'apoïdes seraient en déclin en France et en Belgique et 65% des espèces d'abeilles sur liste rouge dans certaines régions (Rasmont *et al.*, 2005 ; Patiny *et al.*, 2009). Plusieurs autres études (Biesmeijer, 2006 ; Grixti *et al.*, 2009 ; Cameron *et al.*, 2011 ; Williams & Osborne, 2009 ; IUCN, 2013) décrivent le déclin de nombreuses espèces d'abeilles depuis les dernières décennies aux Pays-Bas, en Grande-Bretagne, en Amérique du Nord et en Asie. Kosior *et al.* (2007) ont évalué que 80% des bourdons et psithyrus (i.e. bourdons parasites) seraient menacés dans au moins un des pays d'Europe de l'Ouest et centrale. De plus, 30% des taxons seraient, quant à eux, menacés dans toute leur aire de distribution (Kosior *et al.*, 2007).

Le déclin des apoïdes provient d'une combinaison de facteurs agissant directement ou indirectement sur leurs populations, induisant des effets désastreux sur la pollinisation des plantes hôtes et sur le fonctionnement des écosystèmes (Goulson *et al.*, 2005 ; Biesmeijer, 2006 ; Roulston & Goodell, 2011) (FIG 4).

Un des facteurs le plus souvent cité est l'intensification des pratiques agricoles où l'amélioration des techniques a mené à l'appauvrissement de la flore sur de grandes étendues et permis d'aboutir à des monocultures anémophiles (Goulson, 2006, 2010 ; Keller *et al.*, 2005). Associées à l'agriculture moderne ; la modification, la destruction et la fragmentation de biotopes (e.g. urbanisation) essentiels pour l'implantation de nids (e.g. terriers de rongeurs, haies épaisses) sont considérées comme étant les principaux risques pour les abeilles indigènes (Kremen *et al.*, 2002 ; Goulson, 2006 ; Goulson *et al.*, 2008).

De même, l'utilisation intensive de pesticides contribuerait à la réduction des populations de pollinisateurs (Blacchiere *et al.*, 2012). L'ensemble de ces facteurs entraîne une disparition des plantes à pollen de haute qualité nutritive et à un remplacement par des plantes à pollen de plus faible qualité (Leonhardt & Blüthgen, 2012). Dès lors, la diminution drastique des ressources alimentaires peut être considérée comme le facteur de déclin le plus critique (Müller *et al.*, 2006 ; Williams *et al.*, 2009).

Toutes les espèces ne sont, cependant, pas affectées de la même manière par ces perturbations. En effet, les différentes espèces de bourdons présentent certaines variations comportementales telles que : (i) le comportement alimentaire ; (ii) la distance de butinage ; et (iii) la période d'émergence des reines. Les bourdons généralistes et butinant loin du nid seraient capables de trouver des sources alternatives de nourriture (Walther-Hellwig & Frankl, 2000 ; Goulson & Darvill, 2004 ; Goulson *et al.*, 2005 ; Knight *et al.*, 2005 ; Wolf & Moritz, 2008). En outre, les espèces de bourdons dont les reines émergent tôt durant la saison sont plus à même de trouver des ressources alimentaires afin de fonder la colonie (Goulson *et al.*, 2005 ; Williams *et al.*, 2009).

Un autre facteur expliquant le déclin de certaines espèces est la propagation de maladies et de parasites hautement pathogènes de par la commercialisation d'espèces de bourdons dans le monde entier. L'introduction de ces espèces provoquerait, en outre, d'éventuelles hybridations nuisibles aux espèces locales (Goulson *et al.*, 2008 ; Stout & Morales, 2009 ; Arbetman *et al.*, 2013).

Certaines populations adaptées aux conditions stables locales, mais situées à la limite de l'aire de répartition de l'espèce, se verront faiblement adaptées face aux changements climatiques ou environnementaux (Williams, 1988 ; Williams *et al.*, 2009). En effet, les changements climatiques constituent potentiellement l'un des facteurs principaux causant le déclin des apoïdes en agissant directement sur les populations ou indirectement via les plantes nourricières ou les sites potentiels de nidification (Williams & Osborne, 2009 ; Iserbyt & Rasmont, 2012). Enfin, les perturbations environnementales, comme l'introduction de plantes exotiques devenant à terme envahissantes, peuvent aussi menacer la biodiversité (Sala *et al.*, 2000). Celles-ci perturbent la composition, la structure et le fonctionnement des écosystèmes (Traveset & Richardson, 2006 ; Saad *et al.*, 2009).

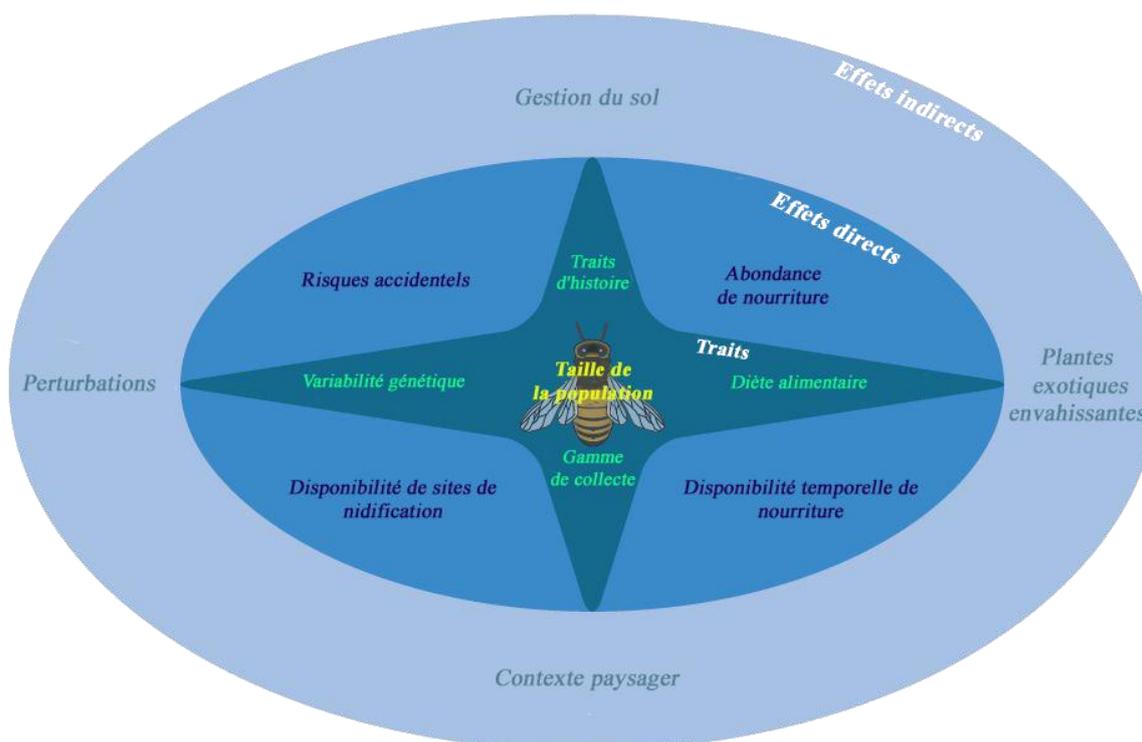


Figure 4 : Facteurs modulant et affectant les populations d'apoïdes (effets directs et traits). Les effets indirects agissent, quant à eux, par leur influence sur les facteurs directs (d'après Roulston & Goodell, 2011).

#### 1.4.2. Problématique des plantes exotiques envahissantes

Les plantes considérées comme exotiques envahissantes sont des plantes étrangères introduites accidentellement ou intentionnellement par l'Homme. Elles s'avèrent être envahissantes de par une expansion rapide, abondante et à grande distance (Traveset & Richardson, 2006). Leur import a considérablement augmenté depuis la fin du 18<sup>ème</sup> siècle pour l'ornementation (Pyšek *et al.*, 2003). Les fleurs, souvent colorées, apparaissent en grande densité dans les sites envahis et peuvent produire une grande quantité de ressources (i.e. pollen et nectar) provoquant un attrait particulier pour les insectes pollinisateurs. De plus, la phénologie étendue de ces plantes peut permettre un apport alimentaire constant aux insectes durant une longue période (Ghazoul, 2002 ; Stout & Morales, 2009).

L'effet global de ces espèces végétales sur la biocénose peut être considéré de deux points de vue : (i) positif de par les récompenses florales, sources de nourriture pour les pollinisateurs mais aussi (ii) négatif par la compétition avec les plantes indigènes pour des ressources abiotiques (i.e. nutriments, lumière, espace, eau) ou biotiques (i.e. pollinisation) (Levine *et al.*, 2003 ; Stout & Morales, 2009 ; Saad *et al.*, 2009). Ce deuxième point aboutit à une réduction de la diversité et de l'abondance ou même à une disparition locale des espèces végétales indigènes dans une communauté donnée (Martin, 1999 ; Saad *et al.*, 2009).

Chaque année, les invasions biologiques engendrent des préjudices estimés mondialement à 1400 milliards de dollars. A l'échelle européenne, ces coûts sont évalués annuellement à 12 milliards d'euros (Kettunen *et al.*, 2009).

#### 1.4.2.1. Impact sur les pollinisateurs

Les plantes exotiques envahissantes attirent une large gamme d'espèces pollinisatrices indigènes et peuvent constituer une grande part des interactions plantes-pollinisateurs (Vilà *et al.*, 2009). Ces espèces végétales représentent surtout une ressource alimentaire potentiellement importante pour les visiteurs généralistes (Stout & Morales, 2009). En effet, certaines études ont montré que les étendues florales massives favorisaient l'abondance de colonies de bourdons généralistes (i.e. *Bombus pascuorum*, *Bombus lucorum*), qu'il s'agisse d'espèces végétales cultivées (i.e. *Brassica napus*) ou exotiques envahissantes (i.e. *Rhododendron ponticum*) (Westphal *et al.*, 2006 ; Herrmann *et al.*, 2007 ; Stout, 2007 ; Dietzsch *et al.*, non publié, cité par Stout & Morales, 2009). Ces espèces pollinisatrices généralistes seraient ainsi capables d'inclure des espèces exotiques envahissantes dans leur diète (Kleijn & Raemakers, 2008) (FIG 5).

Par contre, l'impact de ces espèces végétales envahissantes peut être dramatique chez les pollinisateurs indigènes spécialistes incapables de manipuler ces espèces exotiques de par des restrictions morphologiques, temporelles, spatiales ou nutritionnelles (Génissel *et al.*, 2002 ; Stout & Morales, 2009) (FIG 5). En outre, le remplacement d'une espèce indigène pourra entraîner la disparition de micro-habitats, sites potentiels d'installation de nids (Edwards & Jenner, 2005).

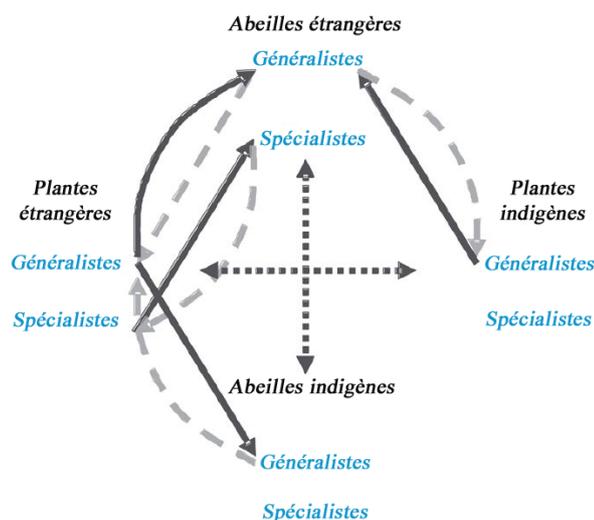


Figure 5 : Interactions potentielles entre les plantes et insectes indigènes ou non dans un écosystème envahi (d'après Stout & Morales, 2009).

#### 1.4.2.2. Impact sur les espèces végétales

La présence d'une plante exotique envahissante dans un réseau de pollinisation ne se traduirait pas toujours par un changement significatif du nombre de visites et d'interactions pour les plantes indigènes (Bascombe *et al.*, 2003 ; Vilà *et al.*, 2009). En effet, il semblerait que l'impact sur la végétation locale puisse varier en fonction des espèces végétales mises en présence (Saad *et al.*, 2009).

Chittka & Schürkens (2001) observent une diminution de la fructification chez *Stachys palustris* en présence d'*Impatiens glandulifera* au vu de la réduction du nombre de grains de pollen propres à cette plante déposés sur les stigmates. Or, certaines plantes exotiques envahissantes ont un effet facilitateur (i.e. *Impatiens glandulifera*). Elles attirent un plus grand nombre de pollinisateurs qui iront en plus grande proportion butiner sur les plantes indigènes (i.e. *Epilobium angustifolium*, *Aconitum napellus* subsp. *lusitanicum*) alors qu'ils ne le feraient pas forcément dans un site non envahi (Saad *et al.*, 2009).

L'impact d'une seule plante exotique envahissante serait probablement moins perturbateur que celui engendré par des pollinisateurs exotiques envahissants «super-généralistes». Ces derniers remplaceraient les populations de pollinisateurs indigènes et seraient moins efficaces dans la pollinisation des plantes indigènes (Vilà *et al.*, 2009). En outre, une action synergique des plantes exotiques envahissantes serait beaucoup plus problématique car elle pourrait faciliter leur intégration dans le réseau et augmenter leur impact sur l'écosystème (Simberloff, 1999 ; 2006).

### 1.5. Objectifs

De récentes études ont révélé que les bourdons généralistes sont capables d'exploiter les plantes exotiques envahissantes en lieu et place de plantes indigènes (Kleijn & Raemakers, 2008). Cependant, et bien qu'il puisse s'agir d'une cause importante du déclin des abeilles, peu d'études ont été menées sur les effets directs des plantes exotiques envahissantes sur nos pollinisateurs (Stout & Morales, 2009).

L'objectif de ce travail est de mesurer l'impact de l'exploitation de plantes exotiques envahissantes sur le comportement et la qualité du régime alimentaire de *Bombus terrestris*. Certaines plantes exotiques pourraient présenter des ressources florales (i.e. pollen et nectar) très attractives mais moins adéquates pour le bourdon terrestre (i.e. faible contenu nutritif), ce qui pourrait affecter leurs colonies (e.g. développement, densité locale).

Afin de vérifier cette hypothèse, des observations éthologiques seront réalisées en conditions contrôlées en présence soit de plantes indigènes (i.e. *Trifolium pratense*, *Lythrum salicaria* et *Calluna vulgaris*), soit de plantes exotiques envahissantes (i.e. *Impatiens glandulifera* et *Buddleja davidii*). Parallèlement, diverses analyses chimiques permettront de caractériser le contenu nutritif du pollen des différentes espèces florales.

Ces études comparatives permettront de statuer sur les effets des plantes exotiques envahissantes sur le succès d'une colonie de bourdons au travers de divers facteurs tels que les taux de visite, les temps de butinage, l'efficacité de récolte et les apports nutritifs à la colonie.

## 1.6. Modèles biologiques

### 1.6.1. *Bombus terrestris*

Il existe 250 espèces de bourdons regroupées dans le genre *Bombus* dont 65 espèces en Europe (Latreille, 1802; Goulson, 2006). L'espèce étudiée est le bourdon terrestre (*Bombus terrestris* Linné, 1758), l'une des plus abondantes de la région ouest-paléarctique. Sa distribution est centrée sur la Méditerranée en s'étendant au Nord jusqu'à Helsinki et à l'Est jusqu'à Altaï (Rasmont *et al.*, 2008) (FIG 6). Ce bourdon vole de mars à octobre et a la particularité de nicher sous terre, dans d'anciens terriers de micromammifères (Bellmann, 1999 ; Pouvreau, 2004).



Figure 6 : *Bombus terrestris* butinant sur *Calluna vulgaris* (W. Ceulemans).

Cette espèce n'est actuellement pas en déclin et est même en expansion de par sa domestication (i.e. implantation de nombreuses colonies) dans certains pays (Velthuis *et al.*, 2002 ; Rasmont *et al.*, 2008).

L'espèce *B. terrestris* comprend au total 9 sous-espèces (Rasmont *et al.*, 2008) (FIG 7). Sa facilité d'élevage, sa commercialisation et son aptitude à pouvoir changer de plantes nourricières en font les principales raisons du choix de cette espèce dans les études (Kleijn & Raemakers, 2008).

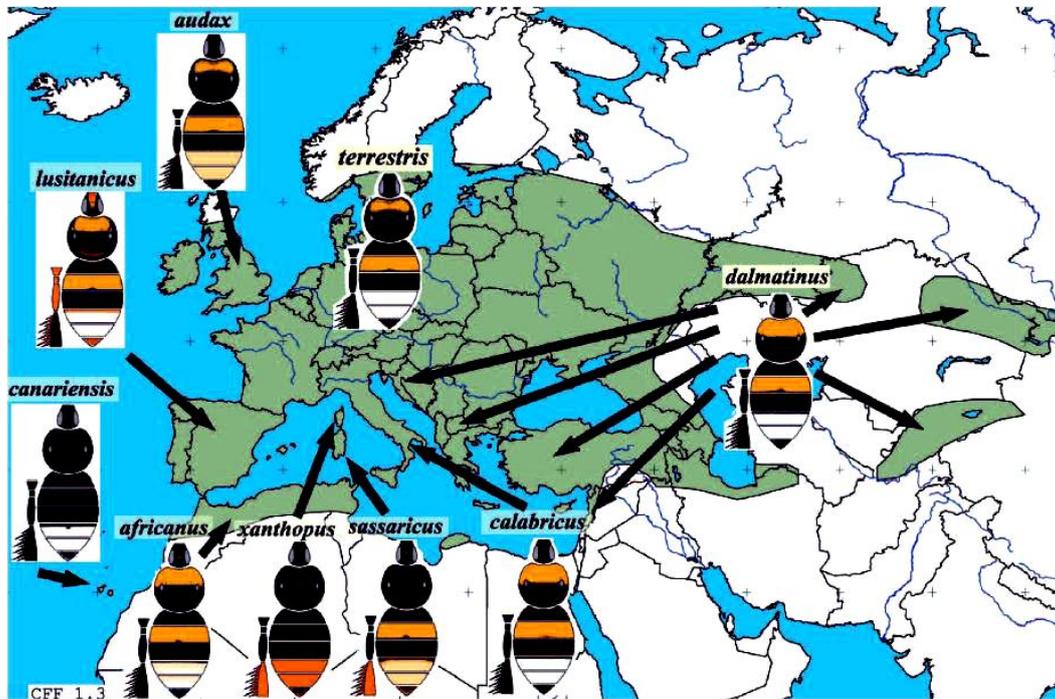


Figure 7 : Carte de distribution de *Bombus terrestris* (d'après Rasmont *et al.*, 2008).

### 1.6.2. Plantes exotiques envahissantes et indigènes

Les plantes exotiques envahissantes (i.e. *Impatiens glandulifera*, *Buddleja davidii*) choisies dans cette étude sont comprises dans la diète actuelle de *B. terrestris*. Ces espèces végétales n'étaient pas ou peu exploitées avant 1950 (Kleijn & Raemakers, 2008) (FIG 8).

Les plantes indigènes choisies (i.e. *Trifolium pratense*, *Calluna vulgaris*) ont largement été exploitées par les bourdons avant 1950 mais leur consommation a diminué depuis (Kleijn & Raemakers, 2008). *Lythrum salicaria* est une espèce végétale indigène qui constitue une nouvelle ressource dans l'alimentation de *B. terrestris* à l'instar d'*I. glandulifera* (Kleijn & Raemakers, 2008) (FIG 8).

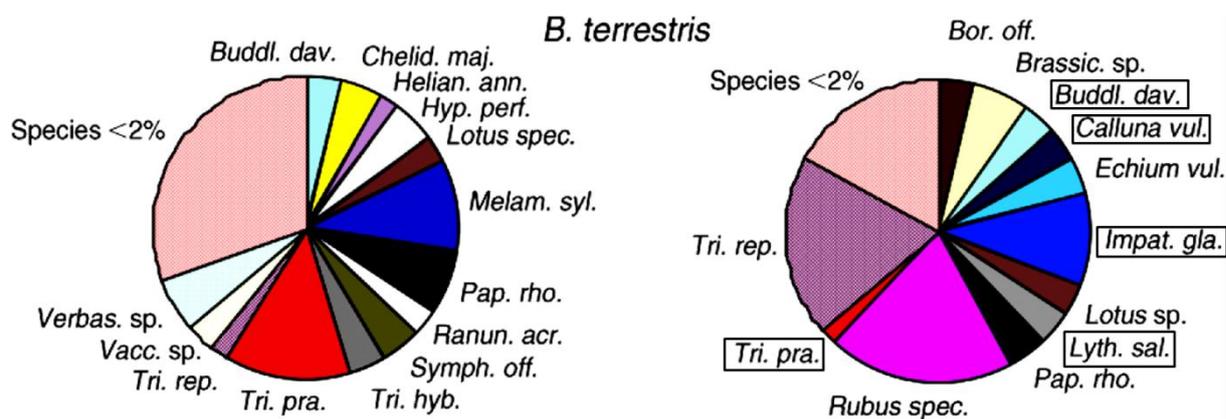


Figure 8: Comparaison de la proportion des différents pollens retrouvés dans les pelotes de *Bombus terrestris* avant 1950 (gauche) et en 2004-2005 (droite) (d'après Kleijn & Raemakers, 2008).

### 1.6.2.1. *Impatiens glandulifera*

La balsamine de l'Himalaya (*Impatiens glandulifera* Royle, 1835) est une plante à caractère extrêmement invasif de la famille des Balsaminaceae, considérée comme étant la plus grande herbe annuelle d'Europe (i.e. plus de deux mètres) (Beerling & Perrins, 1993 ; Janssens *et al.*, 2009). Elle fleurit de juillet à octobre (Lambion *et al.*, 2004) (FIG 9).



Figure 9 : *Impatiens glandulifera* (A : P. De Meirsman, modifié ; B : M. Drossart).

Cette plante, originaire de l'Himalaya, fut introduite au début du 19<sup>ème</sup> siècle (Beerling & Perrins, 1993). Elle s'implante dans les zones riveraines humides (e.g. rives, terrains humides, bosquets) et entre essentiellement en compétition avec les plantes indigènes nécessitant beaucoup de luminosité (Beerling & Perrins, 1993 ; Chittka & Schürkens, 2001 ; Hulme & Bremner, 2006). En outre, elle attire une grande variété d'insectes généralistes, dont les bourdons, grâce à ses grandes fleurs zygomorphes largement colorées (Beerling & Perrins, 1993 ; Nienhuis *et al.*, 2009).

*I. glandulifera* aurait, dans certains cas, des effets négatifs sur le succès de plantes indigènes. Elle attirerait une plus grande densité de pollinisateurs grâce à une importante production de pollen et de nectar, ce dernier plus riche en sucre que les plantes d'Europe

centrale. Cela causerait donc une réduction de la production de graines pour les espèces végétales locales, influençant leur succès reproducteur (Showler, 1989 ; Chittka & Schürkens, 2001 ; Nienhuis *et al.*, 2009 ; Saad *et al.*, 2009). Bien que la balsamine de l'Himalaya puisse réduire la diversité spécifique indigène dans les milieux ouverts et perturbés qu'elle envahit, une grande partie des espèces négativement influencées sont déjà largement répandues dans les zones rudérales (Hulme & Bremmer, 2006).

Peu d'études ont été réalisées sur la composition chimique du pollen de la balsamine de l'Himalaya. Vanderplanck *et al.* (2014b) ont évalué à 17 % la fraction polypeptidique que contient le pollen floral lyophilisé d'*I. glandulifera*. En outre, Vervoort *et al.* (2011) ont déterminé la composition nectarifère de cette espèce exotique. Le sucrose est le sucre principal composant le nectar (96 %) alors que le fructose (3 %) et le glucose (0,7 %) sont présents en beaucoup plus faibles proportions.

#### 1.6.2.2. *Buddleja davidii*

L'arbre à papillons ou Buddléia de David (*Buddleja davidii* Franchet, 1887) est une plante arbustive de la famille des Buddleiaceae dont la période de floraison s'étale de juillet à septembre (Wagner *et al.*, 1999 ; Lambion *et al.*, 2004). *B. davidii* est une plante qui fut introduite pour la première fois en Europe en tant que plante ornementale à la fin du 19<sup>ème</sup> siècle (i.e. 1890) en provenance de Chine (Binggeli, 1998 ; Starr *et al.*, 2003) (FIG 10).



Figure 10: *Buddleja davidii* (A : B. Nef, modifié ; B: M. Drossart).

Celui-ci produit de nombreuses graines (i.e. approximativement 3 millions par plant) germant rapidement dans les milieux perturbés et atteignant leur maturité après seulement une année. De plus, cet arbuste exotique peut tolérer une large gamme de conditions climatiques.

De par ces caractéristiques, *B. davidii* est considéré comme une plante à caractère extrêmement invasif en Europe (Binggeli, 1998 ; Starr *et al.*, 2003).

Ses fleurs largement colorées ainsi que la production d'un nectar odorant contribuent à attirer une large gamme de pollinisateurs tels que les papillons, les abeilles sauvages, les colibris, etc. (Binggeli, 1998 ; Starr, 2003).

Aucune information n'est disponible concernant la composition chimique du pollen. Culin (1997) a observé que le nectar de *B. davidii* contenait deux à trois fois plus de sucrose que de fructose ou de glucose.

### 1.6.2.3. *Trifolium pratense*

Le trèfle des près (*Trifolium pratense* Linné, 1753) est une plante herbacée de la famille des Fabaceae dont la période de floraison s'étend de mai à novembre (Lambion *et al.*, 2004). Cette famille se compose de plantes largement exploitées par les bourdons, constituant plus de trois quarts des visites florales lors de récoltes de pollen (Goulson & Darvill, 2004 ; Carvell *et al.*, 2006). Cette espèce de trèfle constituait la source la plus importante de pollen dans les diètes ancestrales de par sa large utilisation en agriculture (Keller *et al.*, 2005 ; Kleijn & Raemakers, 2008) (FIG 11).



Figure 11 : *Trifolium pratense* (A : E. Pannier, modifié ; B : M. Drossart).

Dans ce contexte, Carvell *et al.* (2006) ont constaté entre 1978 et 1998 un déclin de 76% des espèces florales incluses dans la diète des bourdons (au km<sup>2</sup>), dont fait partie *T. pratense*. La consommation de cette ressource par les bourdons a donc considérablement chuté depuis ces 60 dernières années (Goulson & Darvill, 2004 ; Kleijn & Raemakers, 2008).

L'étude de Somme *et al.* (2014) ont déterminé les fractions d'acides aminés totaux, de polypeptides et de stérols que contiennent les pelotes de *Bombus terrestris* composées de pollen de *T. pratense*. Ainsi, la concentration en acides aminés totaux est évaluée à 22 %, celle en polypeptides à 4 % alors que la proportion stérolique est estimée à 10 %.

En outre, Roulston *et al.* (2000) ont regroupé l'ensemble des données protéiques des différents pollens floraux trouvés dans la littérature. Ainsi, le contenu protéique brut du pollen floral de *T. pratense* est évalué à 32 % (Knight *et al.*, 1972).

#### 1.6.2.4. *Calluna vulgaris*

La callune ou bruyère commune (*Calluna vulgaris* (L.) Hull, 1808) est un sous-arbrisseau de la famille des Ericaceae dont la période de floraison s'étale de juillet à septembre (Lambion *et al.*, 2004). Sa hauteur varie d'une trentaine de centimètres au mètre. Ses fleurs mellifères sont roses et penchées en grappes simples. On la retrouve dans les landes, les pinèdes, les tourbières et coteaux arides des terrains siliceux (Coste & Flahault, 1937 ; Lambion *et al.*, 2004) (FIG 12).

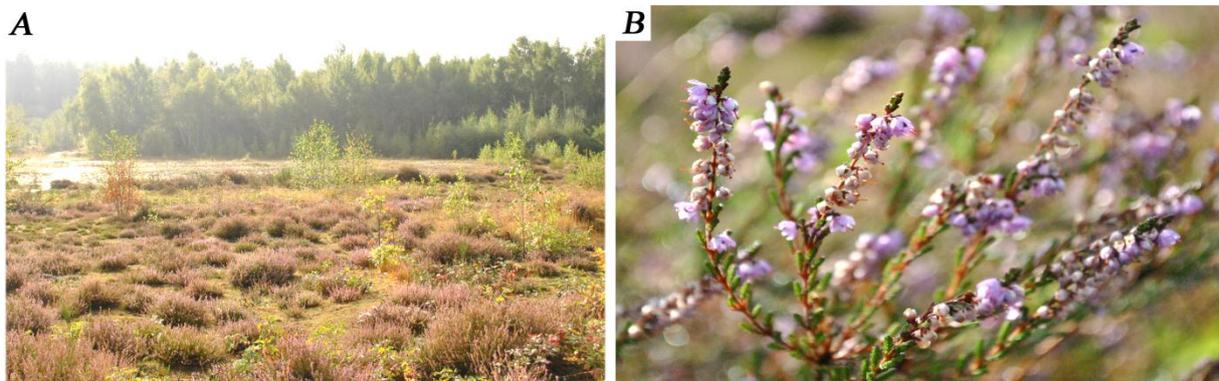


Figure 12 : A : Grande Bruyère de Blaton ; B : *Calluna vulgaris* (M. Drossart).

Dans les régions comprenant ce type d'habitat, il est une source dominante de pollen qui est abondamment collecté en plein été et début d'automne (e.g. dominance avec le châtaignier européen et le genêt à balais dans le Sud de la Suisse) (Keller *et al.*, 2005). Certaines espèces de bourdons à langue courte comme *B. magnus* et *B. jonellus* sont spécialisées dans l'exploitation de *C. vulgaris* comme plante nourricière (Waters *et al.*, 2011). En outre, certaines espèces d'abeilles solitaires sur liste rouge, comme *Andrena fuscipes* qui se trouve exclusivement dans les bruyères, dépendent aussi fortement de cette plante (Exeler *et al.*, 2010).

L'abondante présence du pollen de callune dans les diètes ancestrales de bourdons (i.e. avant 1950) s'explique par l'existence de nombreuses landes à callunes en Angleterre et aux Pays-Bas, écosystème de plus en plus rare à l'heure actuelle (Kleijn & Raemakers, 2008).

Vanderplanck *et al.* (2014b ; *in prep.*) ont déterminé les fractions d'acides aminés totaux, de polypeptides et de stérols que contient le pollen floral lyophilisé de *C. vulgaris*. Ainsi, la concentration en acides aminés totaux est évaluée à 29 %, celle en polypeptides à 13 % alors que la proportion stérolique est estimée à 1 %.

#### 1.6.2.5. *Lythrum salicaria*

La salicaire commune (*Lythrum salicaria* Linné, 1753) est une plante vivace herbacée de la famille des Lythraceae dont la période de floraison s'étale de juin à août (Lambion *et al.*, 2004). Sa hauteur varie d'une cinquantaine de centimètres au mètre. Ses grandes fleurs rouges forment un long épi terminal (Coste & Flahault, 1937). On la retrouve dans des zones humides où elle colonise le milieu à l'aide d'une grande quantité de graines. Cela aboutit souvent en monoculture de par sa compétitivité et la vulnérabilité des habitats humides (Mai *et al.*, 1992) (FIG 13).



Figure 13: *Lythrum salicaria* (A : K. Wuyts, modifié ; B : M. Drossart).

La salicaire, plante d'origine eurasienne, s'est établie dans les estuaires du Nord-Est de l'Amérique du Nord pour considérablement s'y développer et devenir une plante exotique envahissante en entrant en compétition avec la végétation indigène (Thompson *et al.*, 1987).

Vanderplanck *et al.* (*in prep.*) ont déterminé les fractions d'acides aminés totaux, de polypeptides et de stérols que contient le pollen floral lyophilisé de *L. salicaria*. Ainsi, la concentration en acides aminés totaux est évaluée à 32 %, celle en polypeptides à 3 % alors que la proportion stérolique est estimée à 2 %.

## 2. Matériel et méthodes

### 2.1. Plantes modèles et sites de récolte

Les plantes modèles de cette étude ont été sélectionnées sur base de plusieurs critères : (i) les choix floraux de *B. terrestris* (Kleijn & Raemakers, 2008) ; (ii) la date de floraison des espèces végétales ; et (iii) la disponibilité dans la littérature des données nutritives des pollens floraux (TAB 2).

Différents sites de récolte ont été choisis en fonction de l'abondance des plantes modèles qui y fleurissaient. Un tableau regroupant le nom de la localité, le lieu-dit, les coordonnées GPS ainsi que la date de récolte se trouve en annexe (Annexe I ; TAB 7).

Les plantes prises dans différentes stations *in Natura* ont été organisées en bouquet plus ou moins denses selon leur morphologie (herbacée, arbustive).

Tableau 2 : Concentrations (%) en acides aminés et polypeptides totaux disponibles dans la littérature des pollens (floraux/pelotes) pour les espèces végétales modèles (<sup>1</sup>Somme *et al.* (2014) ; <sup>2</sup>Vanderplanck *et al.* (2014c) ; <sup>3</sup>Vanderplanck *et al.* (*in prep.*)).

Espèce végétale	Pollen floral- teneur en:		Pollen de pelotes- teneur en:	
	acides aminés totaux (%)	polypeptides (%)	acides aminés totaux (%)	polypeptides (%)
<i>Trifolium pratense</i>	N.A	N.A	21,59 ± 2.76 <sup>1</sup>	4,02 ± 1,19 <sup>1</sup>
<i>Impatiens glandulifera</i>	N.A	17,2 ± 0.73 <sup>2</sup>	N.A	N.A
<i>Buddleja davidii</i>	N.A	N.A	N.A	N.A
<i>Calluna vulgaris</i>	29 ± 0.25 <sup>2</sup>	13,37 ± 0.93 <sup>3</sup>	N.A	N.A
<i>Lythrum salicaria</i>	31,52 ± 1.05 <sup>3</sup>	3,22 ± 0.13 <sup>3</sup>	N.A	N.A

### 2.2. Colonies de *Bombus terrestris*

Les colonies de bourdons utilisées au cours de test éthologiques provenaient de la firme BIOBEST bvba (Westerlo, Belgique). Afin de maximiser le nombre d'ouvrières butineuses, notre choix s'est arrêté sur deux colonies de stade avancé (i.e. ouvrières plus nombreuses).

Toutes les ouvrières ont été marquées afin de permettre leur différenciation. Le marquage a été réalisé à l'aide de pastilles colorées et numérotées. Des pastilles de couleur verte ont été utilisées pour identifier les individus de la colonie A tandis que des pastilles blanches ont été utilisées pour identifier les individus de la colonie B. Dans les deux cas, les nombres permettant de différencier chaque individu étaient de couleur noire (FIG 14).



Figure 14 : Individus n°69 (Colonie B) et n°34 (Colonie B) butinant respectivement sur *Buddleja davidii* et *Trifolium pratense* (M. Drossart).

### 2.3. Design expérimental

Les manipulations ont été effectuées dans une pièce (UMons, Chaville V) à température et humidité relative constantes, respectivement 23°C (+/- 1°C) et 50%. Un climatiseur Everglades (EV 9057 1050W) ainsi que deux convecteurs muraux AEG (WKL 2003 U 2kW) permettaient de régler précisément la température ambiante de la pièce. Afin d'entrer sans danger et d'éviter la sortie de bourdons hors de la pièce, un long filet a été installé sur toute la largeur de la salle. En cas de besoin, notamment lors du marquage des individus ou de la fermeture des colonies, un éclairage en lumière rouge était disponible et permettait de manipuler les ouvrières. En effet, les bourdons ne voient pas cette partie du spectre lumineux et ne volent donc pas en lumière rouge.

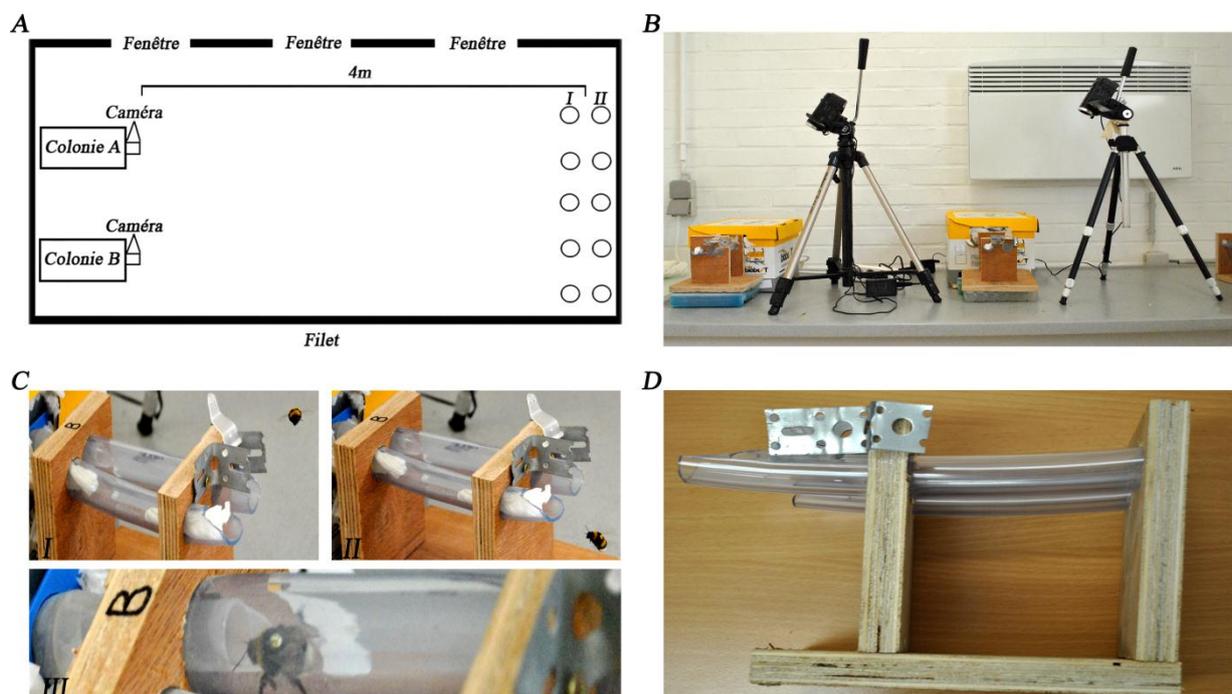
Les espèces florales ciblées ont été successivement amenées dans la salle sans période de chevauchement de sorte que les ouvrières n'aient eu à disposition qu'une seule ressource à la fois (i.e. respectivement *I. glandulifera*, *T. pratense*, *L. salicaria*, *C. vulgaris* et *B. davidii*). Suite au marquage des ouvrières de bourdons, les deux colonies ont été ouvertes simultanément et en continu pendant toute la durée de l'expérimentation. Les réserves en BIOGLUC® et en substitut de pollen ont été enlevées dès le début de la manipulation afin de pousser les ouvrières à sortir du nid et à butiner les fleurs mises à disposition. Néanmoins, la source sucrée a été remise à disposition lorsque les colonies n'étaient pas alimentées par l'une des plantes test (transition entre deux plantes). C'est dans cette optique que les espèces végétales ont été installées successivement avec un temps de transition minimal.

Un sas, constitué d'un tube transparent, a été connecté à chaque colonie afin de ralentir les entrées et sorties des ouvrières. Des caméras (Panasonic HC-V100 Haute définition) étaient disposées au-dessus des sas afin d'enregistrer les allées et venues (FIG 15B-D).

Chacune disposait en rotation d'une carte mémoire de 16gb et de 8gb afin de permettre le transfert des films sur disque dur et ainsi d'obtenir une période de film ininterrompue pendant

la journée. Chacune des ressources végétales a été disposée pendant 48 heures, la période de tournage débutant à 8h et se terminant à 17h (i.e. 2 cycles de 8h d'observation).

Les colonies ont été placées à l'une des extrémités de la salle et les plantes à leur opposé. La distance de butinage était donc maintenue constante (4m). La moitié des bouquets a été disposée sur une table alors que l'autre était à même le sol. Ces différentes positions avaient pour but d'exploiter au maximum l'espace disponible (FIG 15A). Les plantes ont été organisées en bouquets plus ou moins denses selon leur morphologie (herbacée, arbustive) et de manière à ce que leur abondance soit équivalente quelle que soit l'espèce végétale considérée.



#### 2.4. Paramètres considérés

L'acquisition des données a été effectuée afin de pouvoir établir deux catégories de données relatives à :

- I. *L'investissement des ouvrières (coût)* lié à l'exploitation de la plante pour la récolte de pollen ou non.

Cette catégorie regroupe deux paramètres, à savoir (i) le taux de visite pendant chaque période d'observation ; et (ii) le temps de sortie.

II. *L'apport à la colonie (bénéfice)* lié à la qualité et à la quantité de pollen ramené au sein de la colonie.

Cette catégorie regroupe trois paramètres, à savoir (i) la quantité de pollen ramenée à la colonie par jour (nombre et masse des pelotes de pollen) ; (ii) la composition chimique (acides aminés, polypeptides) des différents pollens floraux ; et (iii) la teneur en polypeptides et acides aminés des pelotes.

Le jeu de données acquis se définit donc via deux types de paramètres : comportementaux et nutritionnels (TAB 3).

Tableau 3 : Récapitulatif des différents paramètres permettant d'établir l'apport à la colonie et l'investissement des ouvrières.

	Paramètres comportementaux	Paramètres nutritionnels
<i>Investissement des ouvrières</i>	Temps de sortie/butinage Taux de visite	N.A.
<i>Apport à la colonie</i>	Nombre total de pelotes Masse des pelotes	Teneur en polypeptides Teneur et composition en acides aminés

#### 2.4.1. Investissement des ouvrières : coût de l'exploitation des espèces florales

Comme la récolte de pollen est plus complexe et plus coûteuse énergétiquement que celle de nectar, les observations basées sur la récolte de pollen ont été différenciées de celles n'en impliquant pas (Heinrich, 1976 ; Harder, 1990 ; Rasheed & Harder, 1997a).

##### 2.4.1.1. Taux de visite

Chaque heure pendant la période de tournage (i.e. 8h à 17h), plusieurs individus ont été suivis et chronométrés pendant leurs visites florales afin de déterminer le *nombre* et la *durée* de chacune durant environ 15 minutes. Laverty (1994) délimite la durée d'une visite du premier contact avec la fleur jusqu'au dernier contact avec celle-ci. Un chronomètre était utilisé afin de déterminer la durée de la période alors qu'un autre enregistrait le temps de chaque visite. Sur base de ces paramètres (i. e. nombre et durée de visites), le *taux de visite* a été défini pour chaque individu pris en compte et ce, pour chacune des ressources étudiées. Cette variable est définie comme étant le nombre de visites florales effectuées par minute.

Il n'a pas été possible d'observer les visites d'ouvrières sur *T. pratense* à l'échelle florale. En effet, les fleurs de cette espèce végétale sont groupées en une inflorescence globuleuse. Il était trop difficile de déterminer le temps moyen de visite sur chacune des fleurs et donc le taux de visite. L'inflorescence a donc été prise comme unité de comptage pour cette seule espèce végétale.

#### 2.4.1.2. Temps de butinage

L'analyse des films obtenus par les caméras a permis de déterminer les temps de butinage de chaque ouvrière. Les films ont été visionnés à différentes vitesses de lecture selon le besoin (vitesse \*1-\*2-\*4-\*8) grâce au logiciel Windows Live Movie Maker. Les entrées et sorties des différents individus ont donc pu être enregistrées (FIG 16). Chaque sortie a, dès lors, pu être caractérisée par un intervalle de temps défini comme « temps de butinage ». Une ouvrière donnée a donc pu se voir assigner de plusieurs temps de sorties en fonction du nombre de trajets qu'elle effectuait. Dans le cas d'une récolte de pollen, le temps obtenu correspond au temps de formation des pelotes de pollen.

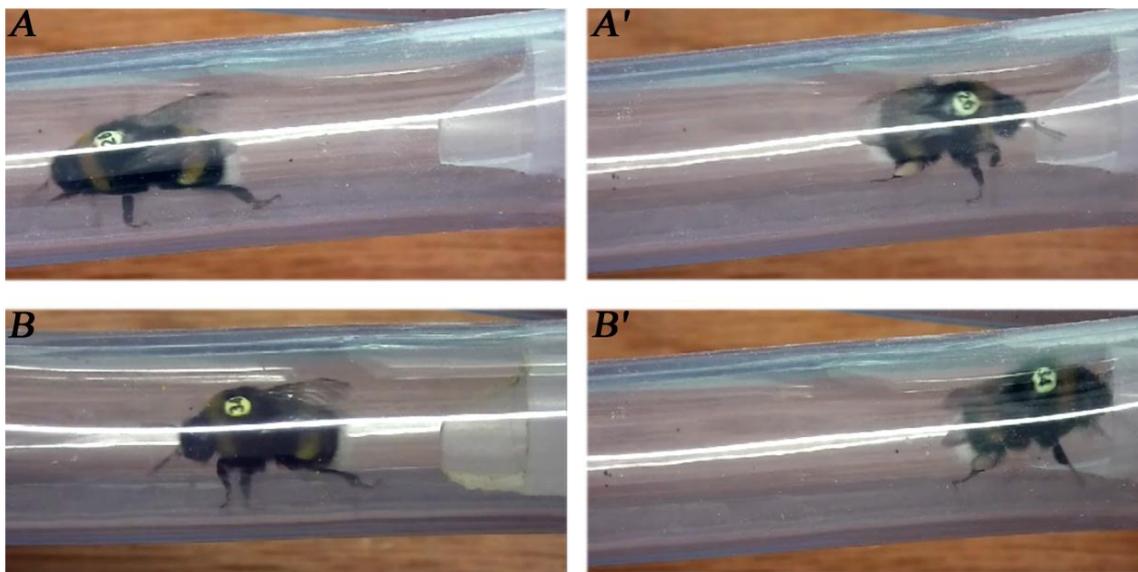


Figure 16: A : Sortie de la colonie de l'individu 26 ; A' : Entrée dans la colonie de l'individu 26 après collecte de pollen ; B : Sortie de la colonie de l'individu 34 ; B' : Entrée dans la colonie de l'individu 34 après collecte de pollen (Captures d'écran des films. M. Drossart).

## 2.4.2. Apport à la colonie : bénéfique de l'exploitation des espèces florales

### 2.4.2.1. Apport pollinique

Un maximum de pelotes de pollen ont été prélevées des corbeilles des pattes postérieures de différentes ouvrières et immédiatement pesées puis entreposées au congélateur à  $-24^{\circ}\text{C}$  (FIG 17). Un filet à insectes ou un aspirateur était utilisé pour la capture des individus. Les ouvrières attrapées étaient, ensuite, immobilisées dans un tube de contention afin de prélever leur pelote à l'aide d'un cure-dents. Leur taille devait s'approcher au maximum de la taille des pelotes terminales, c'est-à-dire celles ramenées au nid par les ouvrières. Lors de chaque prélèvement, une seule pelote était retirée afin que l'ouvrière continue à butiner (Raine & Chittka, 2007). Grâce au logiciel ImageJ®, il a été possible de déterminer la surface des pelotes prélevées. Pour cela, chaque pelote a été photographiée sous tous ses angles (appareil photo : Nikon D3000). Pour chacun des clichés, le contour de la pelote a été tracé le plus précisément possible sur la photo (zoom maximal). Le logiciel ImageJ® a, ensuite, calculé l'aire de la surface délimitée. Une moyenne des surfaces obtenues, pour les différents clichés d'une même pelote a été faite et a servi de valeur de surface pour la pelote considérée.

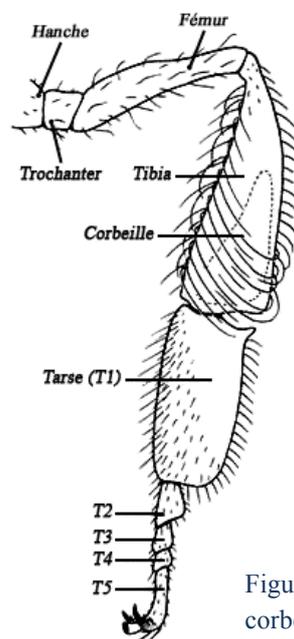


Figure 17: Représentation d'une patte postérieure et de la corbeille d'un Hyménoptère apiforme (d'après Pouvreau, 2004).

Une analyse de la corrélation entre la surface d'une pelote prélevée et sa masse a été effectuée. L'existence d'une relation entre les deux variables a été testée pour un set d'échantillonnage, constitué dans ce cas des pelotes prélevées ; afin de pouvoir éventuellement inférer la masse des pelotes ramenées à la colonie sur base de leurs surfaces mesurables lors de l'analyse des vidéos (set d'utilisation) (FIG 18). Une régression linéaire a

été réalisée pour les données obtenues pour chaque espèce florale afin de déterminer l'équation qui relie la surface et la masse. Sur base de ces équations, la masse des pelotes filmées lors des entrées des ouvrières au sein de la colonie ont pu être estimées (FIG 18). Seule la masse des pelotes situées dans la corbeille du tibia de la patte postérieure droite des ouvrières était visible à la caméra. La masse totale obtenue a donc été multipliée par deux afin de prendre en compte la patte postérieure gauche. L'apport pollinique total a été déterminé comme étant la somme des masses des pelotes portées par les ouvrières rentrant à la colonie.

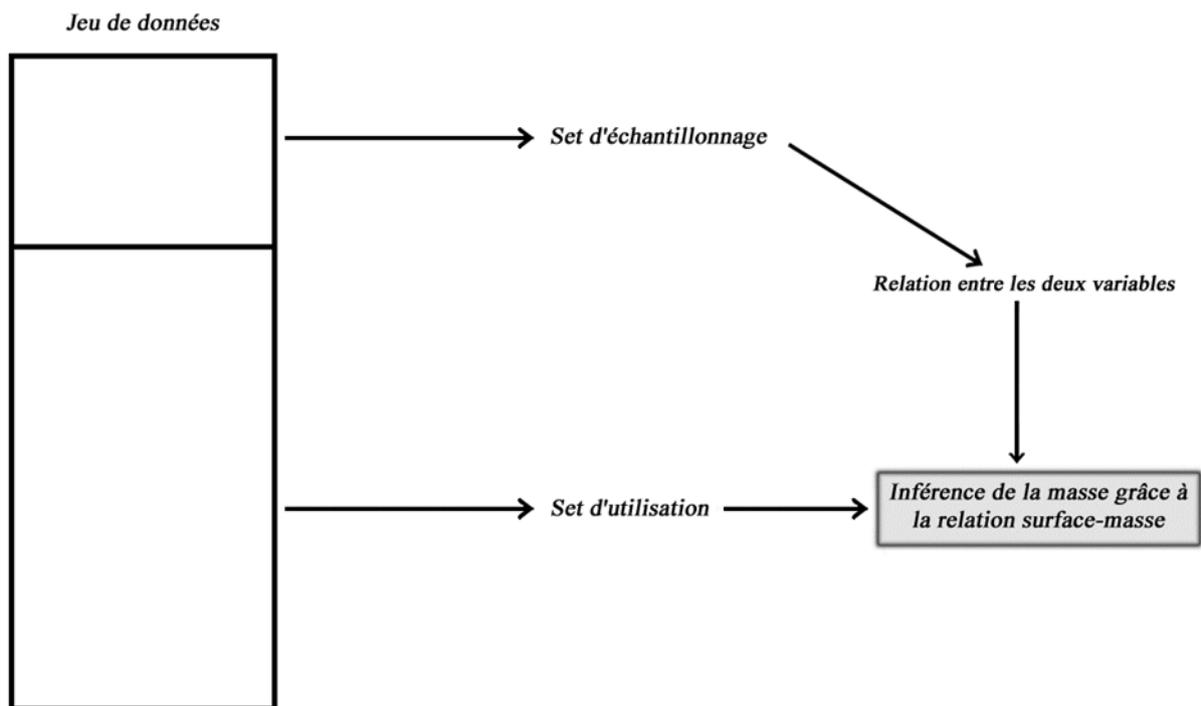


Figure 18: Schéma récapitulatif des étapes suivies dans la détermination de la quantité de pollen ramenée à la colonie.

Sur base des temps de butinage et des quantités de pollen amenées à la colonie, l'efficacité de récolte a été déterminée pour chacune des espèces végétales exploitées. Celle-ci est définie comme étant la quantité de pollen rentrant à la colonie par heure.

#### 2.4.2.2. Apport polypeptidique et en acides aminés

Les teneurs polypeptidiques et en acides aminés des pelotes ont été déterminées afin d'établir un coefficient de dilution pollen floral/pelote et de pouvoir ainsi transposer les mesures effectuées sur les pollens floraux en terme de pelotes (i.e. apport au sein de la colonie). L'application d'un tel coefficient de conversion (i.e. dilution suite à l'ajout de nectar) est possible uniquement dans le cas des bourdons puisqu'ils ne modifient pas la

composition des pelotes de pollen par ajout de substances endogènes comme le fait l'abeille domestique (Pereboom, 2000). Cette teneur réajustée, par rapport aux teneurs florales, permet donc de connaître l'apport réel de polypeptides et d'acides aminés au sein des colonies. En effet, suite à l'estimation de l'apport pollinique total et aux analyses chimiques, les apports en polypeptides et en acides aminés ont pu être déterminés pour les colonies en fonction de l'espèce florale considérée.

### A. Analyses polypeptidiques

Nous avons réalisé des analyses, via cinq répliques, sur le seul pollen floral pour lequel les données sur la composition chimique n'étaient pas connues : *B. davidii* ; le pollen de *T. pratense* n'ayant pas pu être prélevé en suffisance afin de réaliser les analyses. Une quantité de 5 mg de pollen lyophilisé a été prélevée pour chaque réplique. Les analyses effectuées sur les pelotes ont, quant à elles, été réalisées en triplicatas sur des prises d'essai plus importantes étant donné l'effet de dilution susmentionné : 6 mg ont été pesés pour *C. vulgaris*, 7 mg pour *B. davidii*, *L. salicaria* et *T. pratense* et enfin 8mg pour *I. glandulifera*. Le pollen, ainsi que les différents réactifs, ont été pesés à l'aide d'une balance analytique à quatre décimales ( $10^{-4}$ g).

Le protocole utilisé est celui mis au point par Vanderplanck *et al.* (2014b), adaptation du protocole pour les tissus végétaux récalcitrants de Wang *et al.* (2006). Les analyses ont été effectuées au sein du service de Protéomie et de microbiologie du Professeur Wattiez de l'Université de Mons.

Afin de faciliter l'élimination des contaminants, le pollen est préalablement broyé à l'aide de billes de verre sous azote (5 broyages successifs). Trois bains successifs sont effectués afin d'éliminer les contaminants et les pigments du pollen : (i) bain d'acide trichloroacétique 10% dans l'acétone, (ii) bain d'acétate d'ammonium méthanolique (0,1 M dans du méthanol 80%) et (iii) bain d'acétone 80%. Entre chaque bain, l'échantillon est centrifugé et le surnageant éliminé. Le culot est alors solubilisé dans le bain sous agitation et sonication à 4°C. Lors du dernier bain, l'échantillon est placé à 50°C durant environ 10 min afin que toute trace d'acétone se soit évaporée.

Le culot de pollen, nettoyé et séché, est mis en solution dans 500 µl de tampon d'extraction (30% sucrose, 2% SDS, 0,1M tris-HCl, 5% 2-mercaptoéthanol, pH 8,0). L'échantillon est alors placé sous agitation à 4°C durant 10 min. Par la suite, 500 µl de phénol sont ajoutés et l'échantillon est placé à agitation durant 10 min et à température ambiante. C'est à ce moment que les polypeptides extraits et mis en solution dans le tampon d'extraction

passent dans la phase phénolique. Suite à une centrifugation, 400 µl de la phase phénolique sont précautionneusement extraits pour les placer dans un nouveau tube auquel sont ajoutés 1600 µl d'une solution d'acétate d'ammonium méthanolique 0,1 M glacée. L'échantillon est alors vortexé et placé à -20°C durant toute une nuit afin d'assurer la précipitation des polypeptides purifiés.

L'incubation terminée, l'échantillon est centrifugé et le surnageant délicatement éliminé tout en veillant à ne pas prélever le culot polypeptidique. Deux bains successifs sont effectués afin d'éliminer les dernières traces de phénol ainsi que d'autres contaminants résiduels. Le premier se fait au méthanol glacé (100%), le second à l'acétone glacé (80%). Entre les deux, l'échantillon est centrifugé et le surnageant éliminé. Enfin, l'échantillon est brièvement séché à température ambiante. Il sera repris dans un tampon chlorhydrate de guanidine 4M pour mettre en solution les protéines purifiées.

Le test colorimétrique utilisé pour la quantification est le BCA Protein Assay®. Le réactif BCA change de couleur lorsque celui-ci est associé à un ion  $\text{Cu}^+$ . Cet ion provient de la réduction d'un ion  $\text{Cu}^{++}$  par les liens peptidiques des polypeptides. Le BCA est composé d'un réactif A (acide bicinchoninique) et d'un réactif B (sulfate de cuivre) (B : A, 1 : 50). Le complexe formé est de couleur pourpre et son intensité varie proportionnellement à la concentration protéique de l'échantillon. La quantification des protéines est effectuée dans une plaque multi-puits. Quatre courbes de calibration quadratiques sont réalisées sur cette plaque à l'aide d'une dilution d'un standard BSA 1mg/ml dans du tampon chlorhydrate de guanidine 4M. Après 30 minutes d'incubation sur un agitateur à 37°C, la plaque est insérée dans un lecteur de plaques multi-puits. Les densités optiques sont mesurées à 570 nm par le programme OPTIMA. Trois mesures sont réalisées ; la première directement après l'incubation, la seconde après 5 minutes et la dernière après 10 minutes.

Le nombre de répliques du pollen de *B. davidii* étant de 5 et le programme effectuant 3 mesures, la concentration moyenne en polypeptides d'un lot de pollen est déterminée sur base des 15 valeurs obtenues par échantillon. Quant aux pelotes de pollen, la quantification est basée sur 9 valeurs obtenues par réplique.

## **B. Analyses des acides aminés totaux**

Nous avons réalisé des analyses, via trois répliques, sur les pollens floraux pour lesquels les données sur la composition en acides aminés n'étaient pas connues : *B. davidii* et *I. glandulifera* ; le pollen de *T. pratense* n'ayant pas pu être récolté en suffisance afin de réaliser les analyses. Celles-ci ont aussi été effectuées sur les pelotes de pollen provenant de *B.*

*dauidii*, *T. pratense*, *I. glandulifera* en triplicas et *L. salicaria* en duplicas ; le pollen de pelote provenant de *C. vulgaris* n'ayant pas pu être prélevé en suffisance afin de l'analyser. L'analyse des acides aminés totaux a été effectuée sur les mêmes lots de pollens (i.e. floraux/pelotes) que ceux utilisés pour les analyses polypeptidiques et dans les mêmes conditions (pollen lyophilisé et conservé à -40°C). Les répliques étaient constitués chacun de 3mg de pollen floral. La masse des répliques était inférieure à 3mg pour les pelotes provenant du pollen de *L. salicaria* (i.e. 2,2mg et 1,8mg) ainsi que de *B. dauidii* (i.e. 3mg, 1,9mg et 1,9mg). Le pollen, ainsi que les différents réactifs, ont été pesés à l'aide d'une balance analytique à quatre décimales ( $10^{-4}$ g).

Le protocole d'extraction des acides aminés suivi est celui mis au point par Vanderplanck *et al.* (2014b). Les échantillons ont été analysés à la Faculté universitaire des Sciences Agronomiques de Gembloux par le laboratoire de Chimie Biologique et Industrielle du professeur B. Wathelet.

L'extraction des acides aminés totaux se fait en ajoutant 1ml de solution d'hydrolyse acide (HCl 6N, 0,1% de phénol et 500  $\mu$ M norleucine qui constitue le standard interne) aux prises d'essai préalablement pesées. Le tube est mis 1 minute sous azote afin d'éviter la dégradation de la méthionine, puis incubé à 110°C durant 24 heures. L'hydrolysate est ensuite totalement évaporé sous vide dans un bain à ébullition à 100°C. L'échantillon sec est alors repris par 1ml de solution tampon de citrate de sodium de pH 2.2. La tout est homogénéisé, filtré (diamètre de 0.2  $\mu$ m) et transvasé dans un flacon HPLC.

Chaque acide aminé est identifié et quantifié séparément par une analyse sur chromatographe échangeur d'ion (Biochrom 20plus amino acid analyser). La séparation des acides aminés est effectuée sur base d'un gradient pH du tampon citrate de sodium ainsi que des valeurs de pKa de chaque acide aminé. Une réaction ninhydrine post-colonne permet ensuite de produire des dérivés colorés mesurés par un détecteur à UV (570 nm hormis pour la proline détectée à 440 nm). Les différentes quantifications sont effectuées par comparaison des aires des différents acides aminés avec le standard de norleucine. Pour chaque acide aminé, les différents facteurs de réponse ont été établis sur base d'injections d'une solution standard.

Cette méthode ne permet pas de quantifier le tryptophane qui est détruit lors de l'hydrolyse acide et dont l'analyse seule requiert une quantité de matériel pollinique trop importante. Cependant, l'étude de Standifer *et al.*, (1980) a déterminé que bien que le tryptophane soit un acide aminé essentiel pour l'abeille, il est rarement un facteur limitant.

## 2.5. Analyses statistiques

### 2.5.1. Analyse de la variance

Des analyses de la variance à un facteur (One-Way ANOVA) ont été effectuées afin de comparer les différentes espèces florales en terme de teneur en polypeptides et en acides aminés (i.e. pelotes et pollen floral), d'efficacité de récolte ainsi que de masse des pelotes confectionnées par les ouvrières. L'ANOVA à un facteur est un test statistique univarié dont le but est d'expliquer une variable quantitative par le biais d'une variable qualitative à plus de deux niveaux (FIG 19). S'agissant d'un test paramétrique, certaines conditions d'application doivent être obligatoirement remplies : (i) échantillonnage aléatoire, (ii) observations indépendantes, (iii) homoscedasticité ou égalité des variances (i.e. test de Bartlett,  $H_0 =$  égalité des variances) et (iv) distribution normale des résidus (i.e. test de Shapiro,  $H_0 =$  distribution normale). Si l'une des conditions n'est pas rencontrée et ce, même après transformation des données, les données sont comparées par le biais d'un test de Kruskal-Wallis, équivalent non-paramétrique de l'ANOVA (package « pgirmess »).

Lorsque le test statistique (i.e. ANOVA/Kruskal-Wallis) retourne une *p-value* inférieure à 0,05, un test post-hoc (i.e. comparaisons multiples paire par paire des moyennes ou des médianes) est effectué afin de pouvoir structurer les données et cibler précisément la (les) différence(s) significative(s) détectée(s) entre les plantes. La structuration des données est visualisée à l'aide de graphiques de type « nuages de points » (stripchart) dans le cas des jeux de données chimiques (i.e. teneurs en polypeptides des pelotes et du pollen floral) et de type « boîte de dispersion » (boxplot) dans le cas des autres variables testées (i.e. efficacité de récolte, masse des pelotes).

### 2.5.2. Test d'ajustement du $\chi^2$ (goodness-of-fit test/ Pearson's Chi-squared Test for Count Data)

Afin de comparer les apports polliniques et nutritifs à la colonie (i.e. polypeptides totaux et acides aminés totaux) ainsi que le nombre de trajets effectués par les ouvrières, des tests d'ajustement du khi-deux ont été effectués sur chacun des paramètres. Ce test permet la comparaison de valeurs uniques telles que des comptages et d'ainsi déterminer si les proportions de tous les groupes sont égales (i.e.  $H_0$ ). Des comparaisons multiples ont ensuite été effectuées pour cibler plus précisément les différences.

Les données sont visualisées à l'aide d'histogramme munis d'indices lettrés, les barres partageant un même indice lettré n'étant pas significativement différentes les unes des autres.

### 2.5.3. Régression linéaire simple

La régression linéaire simple décrit la variation d'une variable dépendante (i.e. masse) en fonction d'une variable explicative quantitative (i.e. surface) (FIG 19). S'agissant d'un test paramétrique, certaines conditions d'applications doivent obligatoirement être remplies : (i) absence d'autocorrélation des résidus (i.e. test de Durbin-Watson,  $H_0$  = pas d'autocorrélation), (ii) homoscédasticité des résidus (i.e. test de Breush-Pagan,  $H_0$  = homoscédasticité) et (iii) distribution normale des résidus (i.e. test de Shapiro,  $H_0$  = distribution normale).

La fonction `lm` (package « `lmtest` ») effectuée dans R (version 3.0.2., The R Foundation for Statistical Computing) retourne différents paramètres dont la pente (a) et l'ordonnée à l'origine (b) de l'équation de type  $y = ax + b$  ainsi que des tests de significativité qui leur sont associés (i.e. paramètres significativement différents de 0). Une ANOVA est également incluse dans la fonction afin de tester la significativité de la relation précédemment établie. Le  $R^2$  ajusté permet de définir la part de variabilité expliquée par la régression, plus il est proche de 1 pour la relation établie est fiable.

Les modèles reliant la masse des pelotes à leur surface sont illustrés par le biais de nuages de points et de lignes de régression pour chacune des espèces florales étudiées.

### 2.5.4. Modèle linéaire généralisé mixte (GLMM)

Les paramètres éthologiques caractérisant l'investissement des ouvrières (i.e. taux de visite et temps de sortie) ont été comparés entre les différentes espèces florales par le biais de modèles linéaires généralisés mixtes (GLMM). Il s'agit d'un test statistique très bien adapté aux données impliquant des effets fixes et aléatoires, et permettant d'effectuer une analyse globale pouvant regrouper des données appariées et non appariées en évitant le problème de pseudo-réplication (Bolker *et al.*, 2009). Cette analyse permet de choisir le type de distribution la plus adaptée au jeu de données (Bolker *et al.*, 2009). Dans ce cas-ci, la distribution gaussienne des résidus a été privilégiée. Le choix de cette distribution dans le GLMM revient donc à effectuer un modèle linéaire mixte (LMM) (FIG 19). S'agissant d'un test paramétrique, certaines conditions d'application ont dû être vérifiées : (i) absence de surdispersion des résidus et (ii) distribution normale des résidus (test de Shapiro,  $H_0$  = distribution normale). Si ces conditions d'applications ne sont pas remplies, les données sont normalisées via une transformation en rang (`rntransform`, package « `GenABEL` »).

Dans le cas de nos modèles, les effets aléatoires sont liés aux identifiants des ouvrières observées pouvant entraîner des cas de pseudo-réplication (i.e. une même ouvrière visitant une même espèce de plante de manière répétée) ou d'appariement de données (i.e. une même

ouvrière visitant successivement les différentes espèces florales présentées) (Bolker *et al.*, 2009). Les facteurs fixes considérés dans mes modèles sont (i) le taux de visite ou le temps de sortie ; (ii) l'espèce végétale (i.e. *Buddleja davidii*, *Calluna vulgaris*, *Impatiens glandulifera*, *Lythrum salicaria* ou *Trifolium pratense*); et (iii) la nature de la récolte effectuée (i.e. avec pollen ou non).

Une fois les modèles LMM établis, une ANOVA (i.e. type III avec approximation de Kenward-Roger pour les degrés de liberté sur les facteurs fixes) est effectuée sur chacun d'entre eux afin de pouvoir tester l'effet des facteurs fixes sur la variable quantitative. Lorsque le test statistique retourne une *p-value* inférieure à 0,05; un test post-hoc (i.e. comparaisons multiples paire par paire des moyennes) est réalisé afin de pouvoir structurer les données et cibler précisément la (les) différence(s) significative(s) détectée(s) entre les plantes et/ou les comportements de récolte. La structuration des données est visualisée à l'aide de graphiques de type « boîtes de dispersion » munies d'indices lettrés, deux boîtes partageant un même indice lettré n'étant pas significativement différente l'une de l'autre.

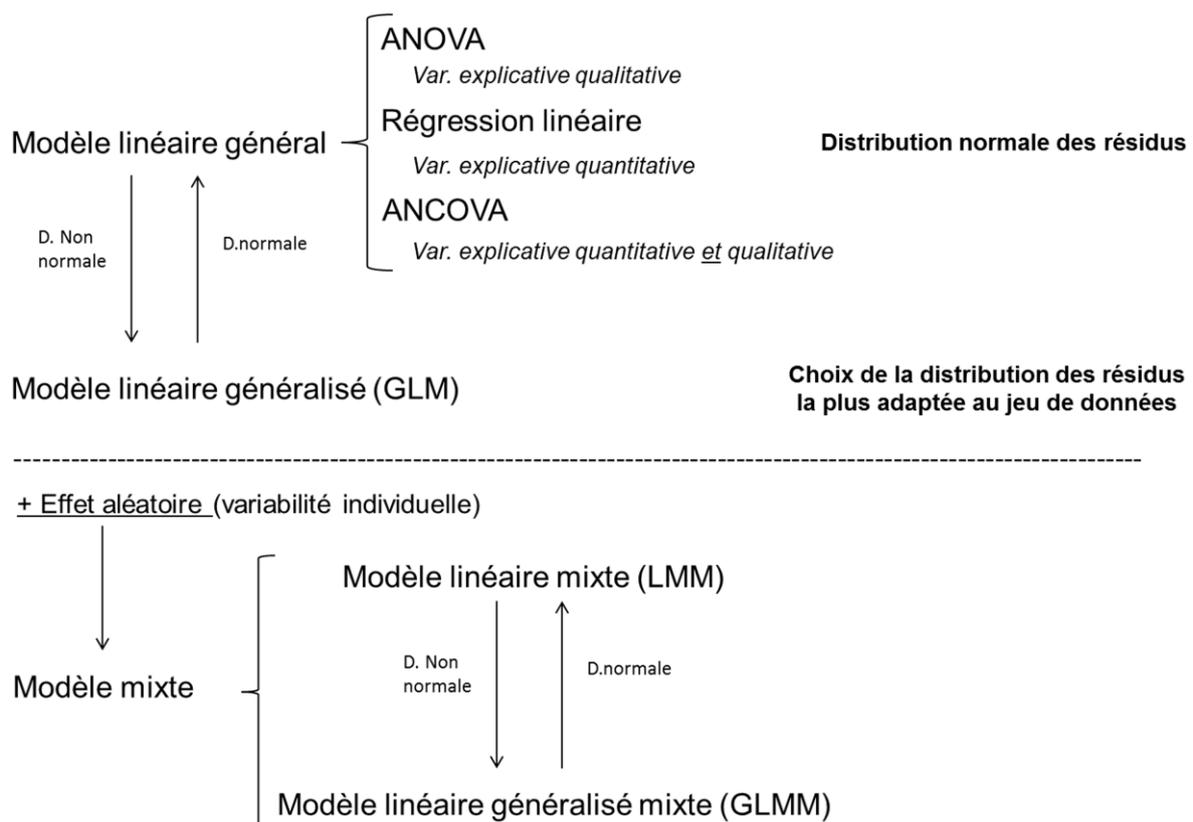


Figure 19 : Diagramme décisionnel dans le choix des analyses statistiques à appliquer selon les caractéristiques du jeu de données. Illustration basée sur le cours de Wajnberg (2011).

### 2.5.5. Analyses multivariées

Afin de détecter une éventuelle différence significative entre les espèces végétales sur base de la composition en acides aminés (i.e. pelotes et pollens floraux), une analyse multivariée de la variance par test de permutation (Permutational Multivariate Analysis of Variance, perMANOVA) a été réalisée en utilisant l'indice de dissimilarité de Bray-Curtis et 999 permutations. La perMANOVA est une MANOVA effectuée par tests de permutation qui la rendent robuste à la non-normalité des données, seule l'égalité des variances (homoscédasticité) doit être vérifiée (fonction « betadisper »). A l'instar des analyses statistiques précédentes, lorsque la perMANOVA retourne une *p-value* inférieure au seuil  $\alpha$ , une comparaison multiple paire par paire avec correction de Bonferroni est effectuée afin de cibler précisément la(les) différence(s) détectée(s).

Une analyse basée sur le principe d'IndVal a ensuite été réalisée dans le but de déterminer si certains acides aminés sont caractéristiques d'une matrice donnée (i.e. pelote ou pollen floral d'une espèce donnée). Une valeur indicatrice est calculée pour chaque acide aminé sur base de sa fréquence et de son abondance dans chacun des échantillons. Plus la valeur indicatrice est élevée, plus l'acide aminé est caractéristique de la matrice.

Une *p-value* est retournée pour chaque association acide aminé/matrice afin d'établir la significativité des valeurs indicatrices. Chaque *p-value* est ajustée par le biais d'une correction de Holm afin d'éviter l'augmentation de l'erreur de type I due aux comparaisons multiples.

Les différences significatives mises en évidence entre les diverses matrices sont visualisées dans un espace réduit ( $n$  dimensions) à l'aide d'un positionnement multidimensionnel non métrique (non Metric Multidimensional Scaling). Tout comme la perMANOVA, cette méthode d'ordination se base une matrice de dissimilarité de Bray-Curtis. Afin de déterminer le nombre de dimensions caractérisant au mieux le modèle (i.e. stress value minimale et inférieure à 0,2), 10 itérations sont effectuées pour des dimensions allant de 1 à 5. Lorsque le nombre de dimensions est défini, 50 itérations sont à nouveau générées afin d'obtenir la configuration qui minimise au mieux la *stress value*. Il en résulte un graphique nMDS représentant par des points les répliques pour chacune des matrices. La distance spatiale entre deux points représente la similarité dans leur composition en acides aminés. Ainsi, des points proches présentent une composition chimique similaire.

### 3. Résultats

#### 3.1. Contenu nutritif du pollen floral

##### 3.1.1. Teneur polypeptidique

La teneur en polypeptides varie de 172 mg/g pour *I. glandulifera* à 20 mg/g pour *B. davidii* (Annexe II ; TAB 8). L'ANOVA détecte une différence hautement significative dans les concentrations polypeptidiques pour au moins un des pollens analysés ( $F = 3,85$  ;  $p < 0,001$ ) (Annexe II ; TAB 8). Les comparaisons multiples révèlent que toutes les espèces florales diffèrent significativement les unes des autres, le pollen d'*I. glandulifera* contenant la plus grande concentration en polypeptides et *B. davidii* la plus faible (FIG 20).

Il est à noter qu'une correction pourrait être appliquée dans le cas de *B. davidii*. En effet, malgré la dilution du pollen dans les pelotes des ouvrières, les valeurs de la concentration en polypeptides du pollen floral sont inférieures à celles obtenues pour les concentrations dans les pelotes (Annexe II ; TAB 8). Ce biais pourrait provenir de la préparation des échantillons qui n'a pu être ré-effectuée en raison d'un manque de matériel. Toutefois, les autres analyses effectuées sur *B. davidii* (i.e. teneur en acides aminés totaux) ont permis de calculer un facteur de dilution entre le pollen floral et les pelotes. Une estimation de la teneur en polypeptides du pollen floral a donc pu être établie sur base de ce facteur et est renseignée dans les annexes (Annexe II ; TAB 8).

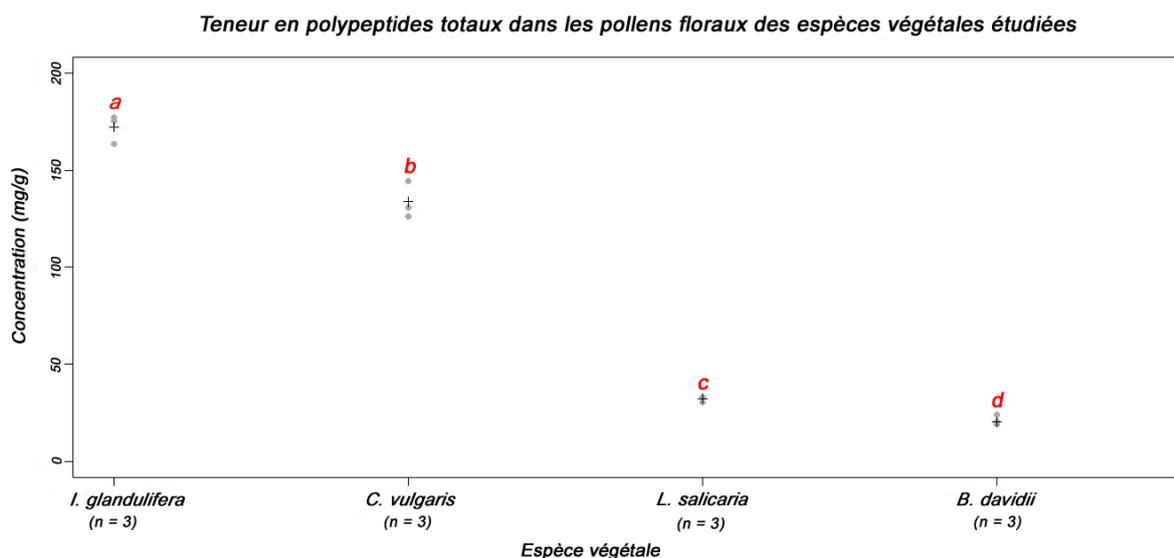


Figure 20 : Nuages de points représentant les concentrations en polypeptides totaux obtenues pour le pollen floral des différentes espèces végétales. Les points représentent les valeurs obtenues pour chaque réplica. Les croix représentent la moyenne des concentrations de l'échantillon.



Les analyses statistiques révèlent également que la concentration en acides aminés essentiels ne diffère pas significativement entre les espèces florales ( $H = 3,3$  ;  $p = 0,34$ ). Par ailleurs, le ratio acides aminés essentiels/ acides aminés non essentiels reste proche de 1/1 pour chacune des espèces végétales (i.e. proportions d'acides aminés essentiels pour *I. glandulifera* : 53% ; *C. vulgaris* : 50,3% ; *B. davidii* : 49,5% ; *L. salicaria* : 48 %) (TAB 4).

En ce qui concerne la teneur en aspartate et glutamate, l'ANOVA détecte une différence significative entre les espèces végétales ( $F = 7,85$  ;  $p = 0,009$ ). Les comparaisons multiples ont permis de structurer les données en trois groupes : (i) un premier groupe est constitué de *L. salicaria*, (ii) un second groupe comprend *I. glandulifera* et (iii) un troisième groupe de concentration intermédiaire est constitué de *C. vulgaris* et *B. davidii* (TAB 4).

Des différences significatives sont également détectées pour la concentration en proline du pollen des différentes espèces ( $F = 41,51$  ;  $p < 0,001$ ). Les comparaisons multiples permettent de structurer les données en deux groupes : (i) un groupe de concentration élevée qui comprend *L. salicaria* et *C. vulgaris* et (ii) un groupe de concentration faible comprenant *B. davidii* et *I. glandulifera* (TAB 4).

Tableau 4 : Tableau résumant les teneurs en acides aminés totaux (AAT), acides aminés essentiels (AAE), en aspartate et glutamate (Asp et Glu) ainsi qu'en proline (Pro) du pollen floral des différentes espèces végétales considérées, exprimées en mg par gramme de pollen. Les espèces végétales partageant le même indice lettré appartiennent au même groupe et n'ont donc pas des concentrations significativement différentes.

Espèce végétale	Teneur en AAT (mg/g)	Teneur en AAE (mg/g)	Teneur en Glu et Asp (mg/g)	Teneur en proline (mg/g)
<i>Lythrum salicaria</i> (n = 3)	315,23 ± 10,53	a 150,8 ± 4,63	a 76,3 ± 3,07	a 27,65 ± 2,37
<i>Calluna vulgaris</i> (n = 3)	290 ± 2,52	a 145,73 ± 1,06	a 62,04 ± 1	ab 22,9 ± 0,3
<i>Buddleja davidii</i> (n = 3)	274 ± 19,81	a 135,53 ± 10,24	a 64,77 ± 3,83	ab 16,24 ± 1,04
<i>Impatiens glandulifera</i> (n = 3)	252,85 ± 52,91	a 134,05 ± 28,56	a 54,12 ± 10,18	b 11,18 ± 2,9
Résultats statistiques	H = 6,59 p = 0,086	H = 3,3 p = 0,34	F = 7,85 p = 0,009	F = 41,51 p < 0,001

### 3.2. Influence des plantes exotiques envahissantes sur le comportement des ouvrières et l'approvisionnement de la colonie

#### 3.2.1. Taux de visite

L'ANOVA détecte une différence significative du taux de visite durant la récolte de pollen entre les différentes espèces florales ( $F = 9,83; p < 0,001$ ). Le test post-hoc révèle que toutes les espèces diffèrent significativement les unes des autres (FIG 22). Il est à noter que le taux de visite sur *T. pratense* était trop grand pour dénombrer les fleurs visitées. L'inflorescence a donc été prise comme unité de comptage.

A l'instar du taux de visite « pollen », l'ANOVA détecte une différence hautement significative du taux de visite hors période de récolte de pollen ( $F = 9,83; p < 0,001$ ). Les comparaisons multiples permettent de structurer les données en trois groupes : (i) le premier constitué de *B. davidii*, *C. vulgaris* et de *L. salicaria* dont les taux de visite sont les plus élevés ; (ii) le second comportant *I. glandulifera* avec des valeurs nettement inférieures ; et (iii) *T. pratense* dont les taux de visites sont inférieurs à la balsamine de l'Himalaya mais où les inflorescences ont été prises en compte comme unité de comptage (FIG 22).

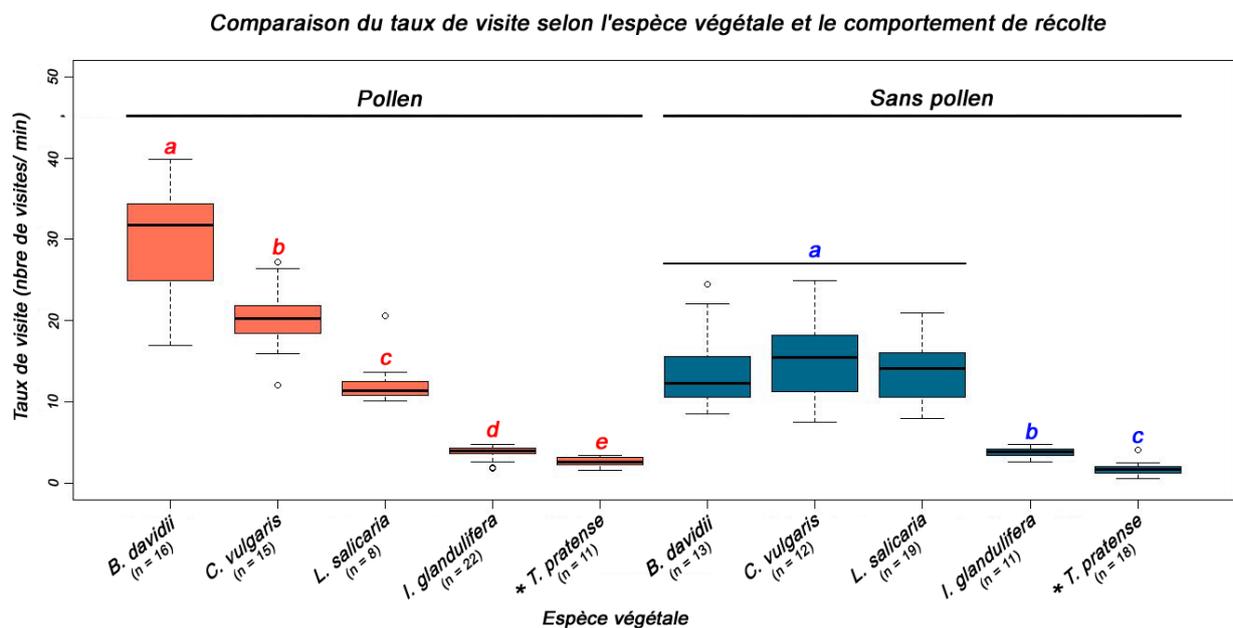


Figure 22 : Boîtes à moustaches basées sur le taux de visite selon les différentes espèces végétales et le comportement de récolte (i.e. avec ou sans pollen). Les deux types de comportement sont représentés via des couleurs différentes : (i) rouge pour la récolte de pollen ; (ii) bleu sans récolte de pollen. (\*) L'unité de comptage de *T. pratense* (inflorescences) est différente des autres espèces végétales (fleurs).

### 3.2.2. Temps de butinage

Le temps de butinage avec récolte de pollen a été comparé pour les différentes espèces florales. L'ANOVA détecte une différence significative des temps de sortie « pollen » ( $F = 3,15$ ;  $p = 0,015$ ) et le test post-hoc permet de distinguer trois groupes : (i) le premier groupe se compose du *T. pratense*, (ii) le second groupe comprend *I. glandulifera*, *C. vulgaris* et *L. salicaria* dont les temps de sortie sont plus faibles et (iii) le troisième groupe se compose de *B. davidii* dont les temps de sortie sont intermédiaires et ne diffèrent pas significativement des deux autres groupes (FIG 23).

Les tests statistiques détectent également une différence significative pour le temps de sortie sans récolte de pollen ( $F = 3,15$  ;  $p = 0,015$ ) mais la structuration des données est quelque peu différente avec (i) un premier groupe comprenant *B. davidii* et *T. pratense*, (ii) un second groupe composé d'*I. glandulifera* et *L. salicaria* et (iii) un troisième comprenant *C. vulgaris* qui ne diffère pas significativement du groupe (ii) ni du *T. pratense* (FIG 23).

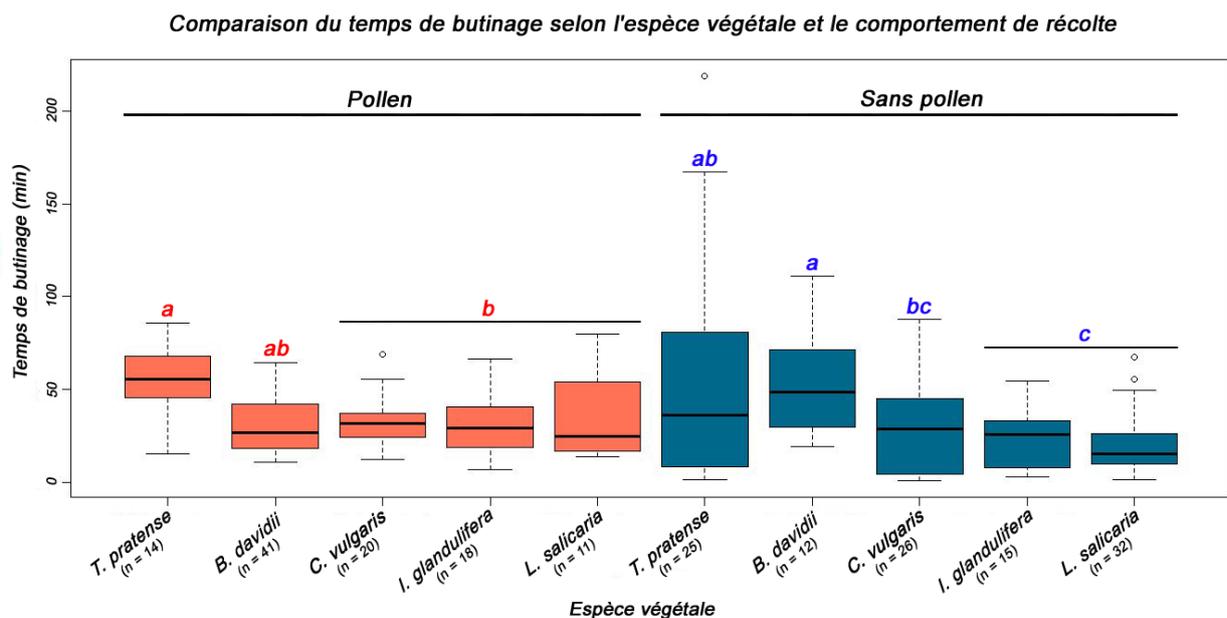


Figure 23 : Boîtes à moustaches basées sur le temps de butinage selon les différentes espèces végétales et le comportement de récolte. Les deux types de comportement sont représentés via des couleurs différentes : (i) rouge pour la récolte de pollen ; (ii) bleu sans récolte de pollen.

### 3.2.3. Nombre de voyages

Les trajets effectués par les ouvrières pour la collecte de pollen ont été dénombrés pour les colonies en présence de chacune des espèces végétales sur 16 heures (i.e. 2 cycles de 8 heures) (Annexe III ; TAB 11). Des tests d'ajustement du  $\chi^2$  (goodness-of-fit test) ont été réalisés afin de comparer les valeurs obtenues. Le test global détecte une différence significative entre les espèces ( $\chi^2 = 25,36$  ;  $p < 0,001$ ) et les comparaisons multiples permettent de structurer les données en deux groupes : (i) un groupe composé de *B. davidii* et (ii) un groupe constitué des autres espèces (FIG 24).

Les trajets effectués par les ouvrières ne collectant pas de pollen ont également été dénombrés pour les différentes espèces florales et comparés à l'aide de tests d'ajustement du  $\chi^2$  (goodness-of-fit test) (Annexe III ; TAB 11). Aucune différence n'est détectée et aucune structuration claire des données n'a pu être établie ( $\chi^2 = 9,15$  ;  $p = 0,058$ ) (FIG 24).

Globalement, le comportement de récolte varie entre les espèces végétales. Plus de 60% des trajets effectués par les ouvrières sur *B. davidii* sont consacrés à la récolte de pollen. Dans le cas d'*I. glandulifera* et *C. vulgaris*, environ la moitié des trajets sont dédiés à la collecte de pollen tandis qu'elle représente moins de 40% des trajets pour *T. pratense* et *L. salicaria* (FIG 24).

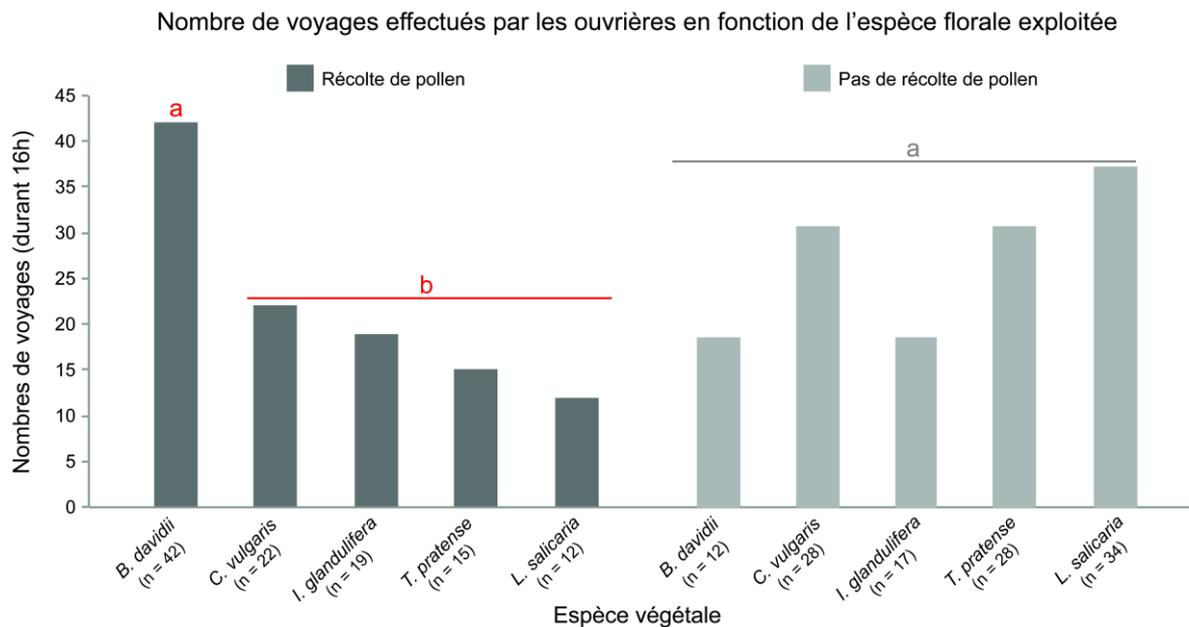


Figure 24: Histogramme du nombre de trajets effectués par les ouvrières pendant 16 heures selon les espèces florales présentes. Une distinction a été faite entre les trajets consacrés à la collecte de pollen et les autres.

### 3.3. Apport à la colonie

#### 3.3.1. Caractérisation des pelotes

##### 3.3.1.1. Contenu nutritif

Les pelotes de *T. pratense* et d'*I. glandulifera* contiennent près de 4% de polypeptides alors que les concentrations sont moindres pour *B. davidii* (3%), *C. vulgaris* (2,4%) et *L. salicaria* (1,5%) (Annexe II ; TAB 8). L'ANOVA détecte une différence hautement significative de la concentration polypeptidique pour au moins une des espèces ( $F = 41,95$ ;  $p < 0,001$ ). Cette différence est confirmée par le test post-hoc qui permet de structurer les données en trois groupes : (i) le premier groupe comprend *T. pratense* et *I. glandulifera*. (ii) le second groupe reprend *B. davidii* et *C. vulgaris* et (iii) le troisième groupe est composé de *L. salicaria* dont la concentration en polypeptides totaux est significativement inférieure aux deux groupes précédents (FIG 25).

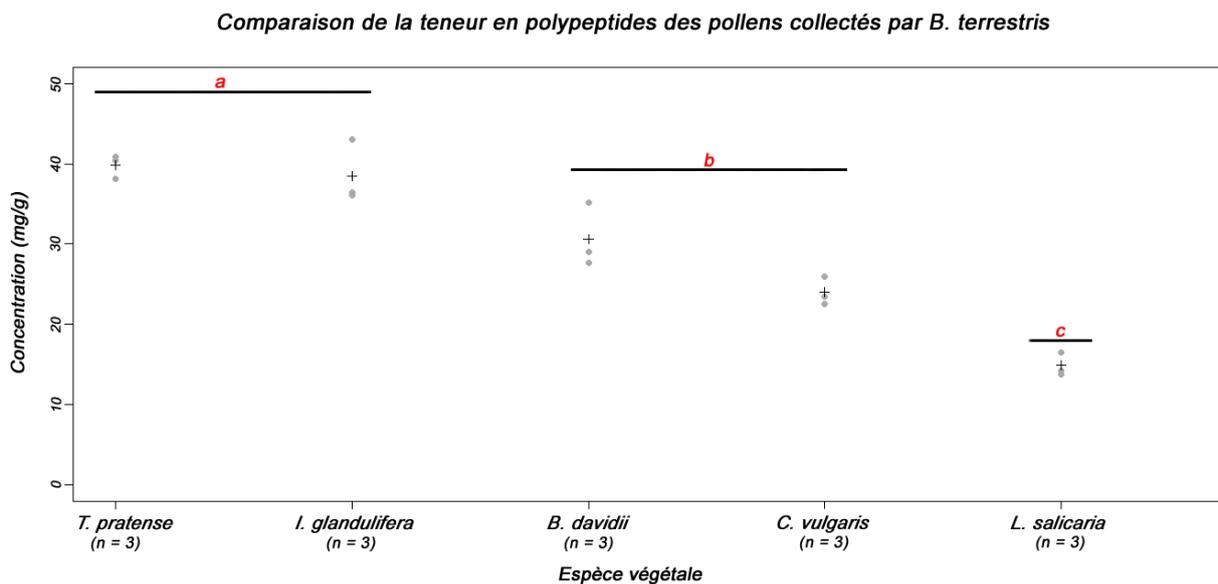


Figure 25 : Nuage de points représentant les concentrations en polypeptides totaux obtenues pour chaque espèce florale. Les points représentent les valeurs obtenues pour chaque réplique. Les croix représentent la moyenne des concentrations de l'échantillon.

La perMANOVA détecte une différence significative des proportions relatives des acides aminés totaux (i.e. essentiels et non essentiels, libres et protéiques) entre les différentes espèces florales ( $F = 32,73$  ;  $p = 0,001$ ) (Annexe II ; TAB 8,10). Il n'a pas été possible de recueillir assez de pollen de pelote provenant de *C. vulgaris* afin de réaliser les analyses, cette espèce n'est donc pas considérée dans la suite des tests statistiques. Les comparaisons multiples ont permis de mettre en évidence trois groupes distincts : (i) un groupe composé des pelotes de pollens originaires de *T. pratense* et *I. glandulifera* dont les matrices se chevauchent; (ii) le second composé des pelotes de pollen provenant de *T.*

*pratense* et de *B. davidii* ; (iii) le troisième étant composé des pelotes de pollen venant de *L. salicaria* (*stress value* = 0,046 ;  $R^2 = 0,99$  ; FIG 26). Bien qu'aucun acide aminé indicateur n'ait pu être mis en évidence via le test IndVal, l'espace des vecteurs révèle malgré tout une concentration plus importante en proline dans le pollen de *T. pratense* (FIG 26).

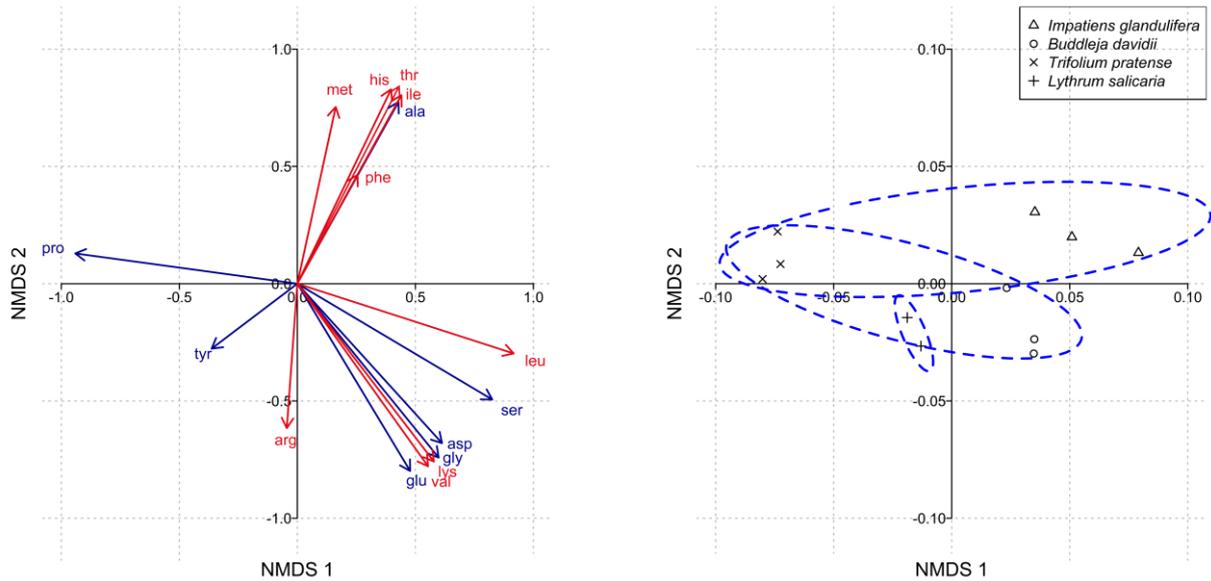


Figure 26 : Représentation nMDS des proportions en acides aminés (%) dans les pelotes de pollen d'*I. glandulifera*, *B. davidii*, *L. salicaria* et de *T. pratense*. Le graphique de gauche représente l'espace des variables avec des vecteurs pour chaque acide aminé essentiel (rouge) ou non essentiel (bleu). Le graphique de droite représente l'espace des individus où chaque point correspond à un réplica et chaque symbole à une espèce végétale. (Glu=glutamate ; Arg= arginine ; Pro= proline ; Cys= cystéine ; Val= valine ; Met= méthionine ; His= histidine ; Tyr= tyrosine ; Ala= alanine ; Lys= lysine ; Ser= serine ; Thr= thréonine ; Ile= isoleucine ; Gly= glycine ; Phe= phenylalanine ; Leu= leucine).

Bien que l'ANOVA ne détecte aucune différence significative pour la concentration en acides aminés totaux entre les quatre espèces ( $F = 3,2$  ;  $p = 0,09$ ), les pelotes de pollen provenant de *T. pratense* détiennent une plus grande concentration que les pelotes provenant des autres espèces végétales (TAB 5).

Les analyses statistiques révèlent également que la concentration en acides aminés essentiels ne diffère pas significativement entre les pelotes des diverses espèces florales ( $F = 1,21$  ;  $p = 0,38$ ). Par ailleurs, le ratio acides aminés essentiels/ acides aminés non essentiels reste proche de 1/1 pour chacune des espèces végétales (i.e. proportions d'acides aminés essentiels pour *I. glandulifera* : 53% ; *B. davidii* : 50,5% ; *L. salicaria* : 48,5 % ; *T. pratense* : 45,81%) (TAB 5).

En ce qui concerne la teneur en aspartate et glutamate, l'ANOVA ne détecte pas de différence significative entre les pelotes des diverses espèces florales ( $F = 0,78$  ;  $p = 0,54$ ) (TAB 5).

A l'inverse, l'ANOVA détecte une différence hautement significative pour la concentration en proline entre les pelotes des diverses espèces florales ( $F = 116,2$  ;  $p < 0,001$ ). Le test post-hoc permet de structurer les données en trois groupes : (i) un premier groupe constitué de *T. pratense* et présentant la plus haute concentration en proline, (ii) un second groupe composé de *L. salicaria* avec une concentration en proline intermédiaire et (iii) un troisième groupe comprenant *B. davidii* et *I. glandulifera* dont les concentrations en proline sont les plus faibles (TAB 5).

Tableau 5 : Tableau résumant les teneurs en acides aminés totaux (AAT), acides aminés essentiels (AAE), en aspartate et glutamate (Asp et Glu) ainsi qu'en proline (Pro) des pelotes de pollen des différentes espèces végétales considérées, exprimées en mg par gramme de pollen. Les espèces végétales partageant le même indice lettré appartiennent au même groupe et n'ont donc pas des concentrations significativement différentes.

Espèce végétale	Teneur en AAT (mg/g)	Teneur en AAE (mg/g)	Teneur en Glu et Asp (mg/g)	Teneur en proline (mg/g)
<i>Trifolium pratense</i> (n = 3)	184,5 ± 26,6	a 84,63 ± 13,48	a 37,8 ± 4,56	a 29 ± 3,72
<i>Buddleja davidii</i> (n = 3)	151,72 ± 16,44	a 78,71 ± 8,2	a 37,81 ± 4,1	a 7,73 ± 1,18
<i>Impatiens glandulifera</i> (n = 3)	149,31 ± 6,71	a 76,61 ± 3,38	a 35,8 ± 1,25	a 6,24 ± 0,1
<i>Lythrum salicaria</i> (n = 2)	144,03 ± 5,4	a 70 ± 3,14	a 33,77 ± 0,51	a 14 ± 0,86
Résultats statistiques	H = 3,2 p = 0,09	H = 1,21 p = 0,38	F = 0,783 p = 0,54	F = 116,2 p < 0,001

### 3.3.1.2. Masse et surface

Afin d'évaluer l'apport pollinique total pour chaque espèce végétale, la relation entre la surface d'une pelote et sa masse a été caractérisée. Une régression linéaire a été réalisée pour chacune des espèces végétales afin d'établir pour chaque espèce un modèle linéaire (FIG 27, TAB 6).

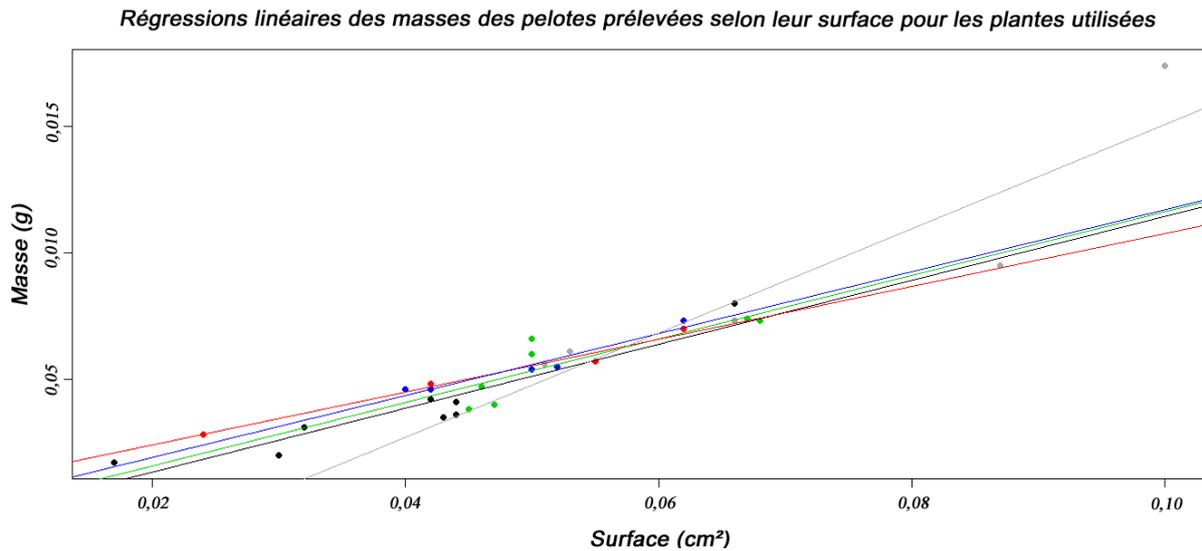


Figure 27 : Régressions linéaires entre la masse et la surface des pelotes prélevées, établies pour chacune des espèces florales. Chaque couleur représente une espèce florale: gris, *T. pratense* (n=5); bleu, *L. salicaria* (n=5); vert, *I. glandulifera* (n=9); rouge, *C. vulgaris* (n=4) et noir, *B. davidii* (n=9).

La *p-value* obtenue pour chacun des modèles établis était significative (i.e. *I. glandulifera*,  $p = 0,006$  ; *T. pratense*,  $p = 0,029$  ; *L. salicaria*,  $p = 0,005$ ; *B. davidii*,  $p < 0,001$  ; *C. vulgaris*,  $p = 0,01$ ). Il est à noter que pour chacune des équations établies, l'ordonnée à l'origine n'était pas significativement différente de 0 (TAB 6). Les  $R^2$  ajustés des différentes équations étaient respectivement de 0,64 pour *I. glandulifera*; 0,78 pour *T. pratense*; 0,93 pour *L. salicaria*; 0,97 pour *C. vulgaris* et 0,87 pour *B. davidii*.

Tableau 6 : Equations des droites reliant la masse à la surface des pelotes prélevées pour chaque plante.

	<i>I. glandulifera</i>	<i>T. pratense</i>	<i>L. salicaria</i>	<i>C. vulgaris</i>	<i>B. davidii</i>
<b>Equation</b>	$y = 0,126x$	$y = 0,206x$	$y = 0,122x$	$y = 0,104x$	$y = 0,127x$

Les masses des pelotes ramenées aux colonies par les ouvrières pendant les 16 heures d'observation ont été estimées à partir des relations précédemment établies et des surfaces mesurées sur les films (Image J). Le test de Kruskal-Wallis met en évidence une différence

hautement significative de la masse des pelotes en fonction de l'espèce florale exploitée ( $H= 53,6; p < 0,001$ ). Les comparaisons multiples permettent de distinguer trois groupes : (i) un premier comprenant les pelotes de *T. pratense* caractérisées par une masse élevée; (ii) le second composé des pelotes de *L. salicaria* et *I. glandulifera* (i.e. masses intermédiaires); (iii) le troisième formé par les pelotes de *B. davidii* et *C. vulgaris* de masses significativement plus faibles (FIG 28).

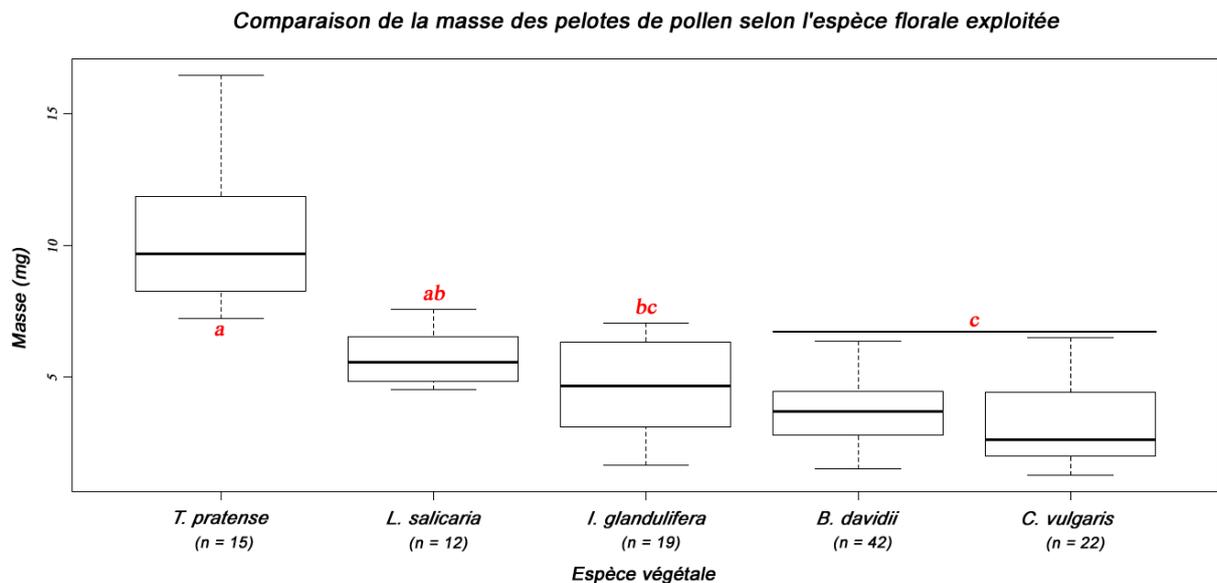


Figure 28: Boîtes à moustache représentant la masse des pelotes confectionnées au cours des 16 heures d'observation sur les différentes espèces florales (inférence à partir des données de surface).

### 3.3.2. Apports polliniques et nutritifs

Les apports polliniques et nutritifs à la colonie se définissent comme étant les masses de pollen et de nutriments (i.e. polypeptides, acides aminés totaux) ramenées à la colonie sur 16 heures (i.e. 2 cycles de 8 heures). Les données relatives à la teneur en acides aminés totaux n'étant pas disponibles pour les pelotes de *C. vulgaris* (matériel insuffisant), elles ont été estimées à partir du pollen floral en utilisant un facteur de dilution (i.e. nutriments floraux = 5,57\* nutriments pelotes) défini lors des analyses polypeptiques sur les deux matrices (i.e. pollen floral et pelotes).

Les quantités de pollen ramenées à la colonie ont été comparées à l'aide de tests d'ajustement du  $\chi^2$  (goodness-of-fit test) (Annexe IV ; TAB 12). Le test global met en évidence une différence hautement significative des quantités de pollen ramenées à la colonie selon l'espèce florale exploitée ( $\chi^2 = 144,9; p < 0,001$ ). Les comparaisons multiples permettent de structurer les données en deux groupes : (i) un premier groupe composé de *B. davidii* et de *T. pratense* avec des quantités de pollen ramenées significativement supérieures

et (ii), un second groupe reprenant les autres espèces végétales (i.e. *I. glandulifera*, *C. vulgaris*, *L. salicaria*) (FIG 29).

De manière similaire, les quantités de polypeptides ramenées à la colonie ont été comparées à l'aide de tests d'ajustement du  $\chi^2$  (goodness-of-fit test) (Annexe IV ; TAB 12). Le test global met en évidence une différence significative des quantités de polypeptides ramenées à la colonie selon l'espèce florale exploitée ( $\chi^2 = 10,52$  ;  $p = 0,032$ ). Les comparaisons multiples ne permettent pas de structurer les données en groupes clairement distincts mais reflètent un continuum s'étalant de 12,26mg pour *T. pratense* à 2,06 pour *L. salicaria* (FIG 29).

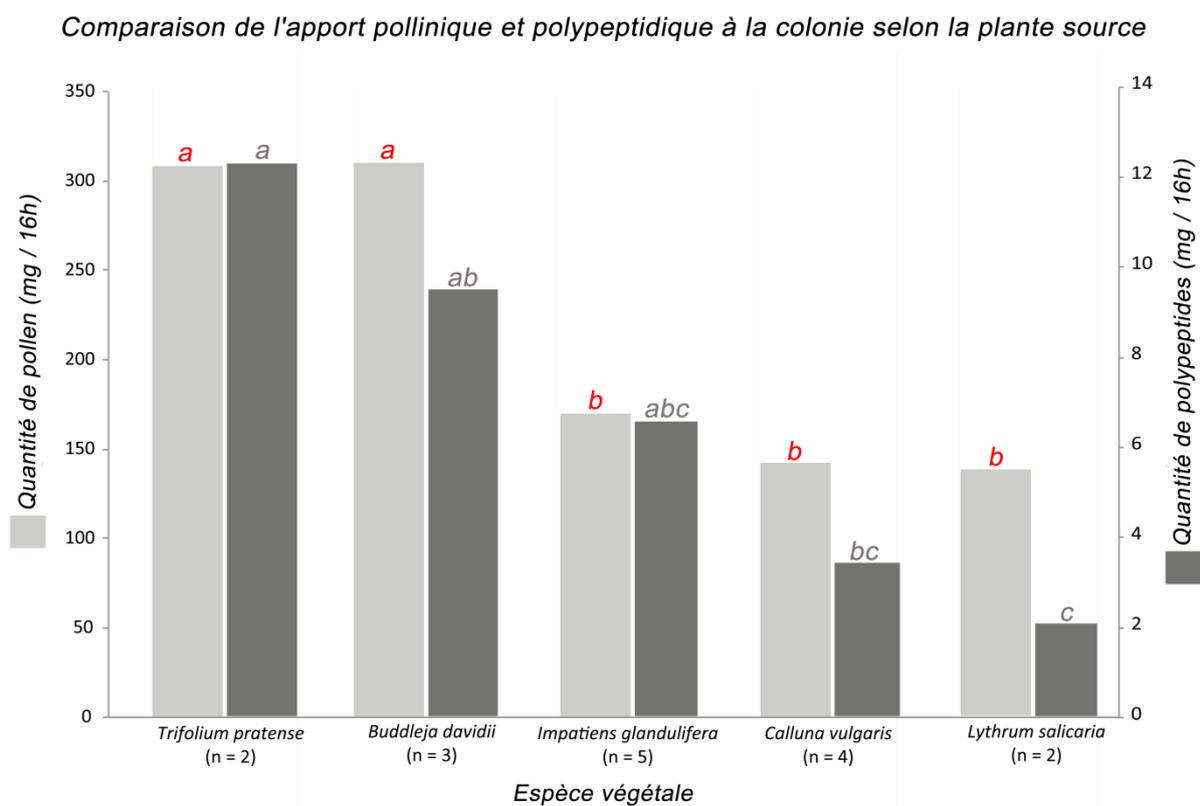


Figure 29 : Histogramme des quantités de pollen et de polypeptides rapportées au nid en fonction de l'espèce florale exploitée. Les effectifs des ouvrières ayant été observées sont repris dans le graphe (n).

Les quantités d'acides aminés totaux ramenées à la colonie ont été comparées à l'aide de tests d'ajustement du  $\chi^2$  (goodness-of-fit test) (Annexe IV ; TAB 12). Le test global met en évidence une différence hautement significative des quantités d'acides aminés totaux ramenées à la colonie en fonction de l'espèce florale ( $\chi^2 = 52,31$  ;  $p < 0,001$ ). Les comparaisons multiples permettent de structurer les données en trois groupes : (i) un premier groupe composé de *T. pratense* et de *B. davidii* avec des quantités de pollen ramenées significativement supérieures ; (ii) le second composé de *I. glandulifera* et de *L. salicaria* et

(iii) le troisième comportant *C. vulgaris* avec les plus petits apports en acides aminés totaux (FIG 30).

Les mêmes analyses ont été effectuées sur les apports en acides aminés essentiels. A l'instar des acides aminés totaux, le test global d'ajustement du  $\chi^2$  met en évidence une différence hautement significative des quantités ramenées à la colonie en fonction de l'espèce florale exploitée ( $\chi^2 = 23,24$ ;  $p < 0,001$ ). Les comparaisons multiples révèlent que les apports en acides aminés forment un continuum entre les différentes espèces florales exploitées, avec l'apport le plus important pour *T. pratense* (26,03mg) et le plus faible pour *C. vulgaris* (3,72mg) (FIG 30).

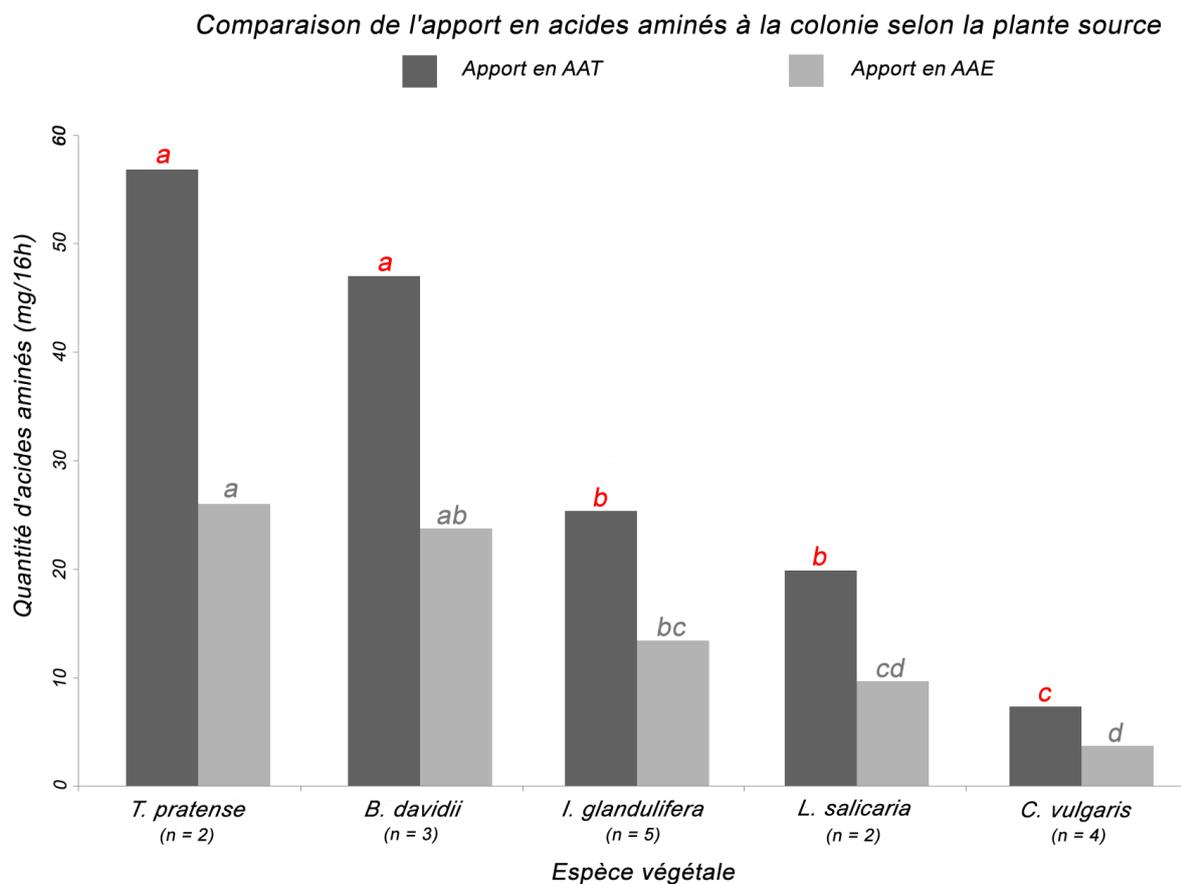


Figure 30 : Histogramme des quantités d'acides aminés rapportées à la colonie selon l'espèce florale exploitée. Les effectifs des ouvrières ayant été observées sont repris dans le graphe (n).

### 3.3.3. Efficacité de récolte de pollen

L'efficacité de récolte de pollen, définie comme étant la quantité de pollen (mg) ramenée à la colonie par heure, a été établie et comparée pour les différentes espèces florales. Le test de l'ANOVA met en évidence une différence hautement significative entre les espèces visitées ( $F = 6,31$  ;  $p < 0,001$ ). Les comparaisons multiples permettent de structurer les données en trois groupes : (i) un premier constitué par *T. pratense*, *L. salicaria* et *I. glandulifera* pour lequel l'efficacité de récolte est la plus élevée; (ii) le second comprenant *B. davidii* avec une efficacité de récolte intermédiaire ; (iii) le troisième formé par *C. vulgaris* sur laquelle l'efficacité de récolte est la plus faible. Cependant, les groupes semblent refléter un continuum étant donné que l'efficacité de récolte sur *L. salicaria* et sur *I. glandulifera* n'est pas significativement différente de celle observée sur *B. davidii*, elle-même ne différant pas de l'efficacité observée sur *C. vulgaris* (FIG 31).

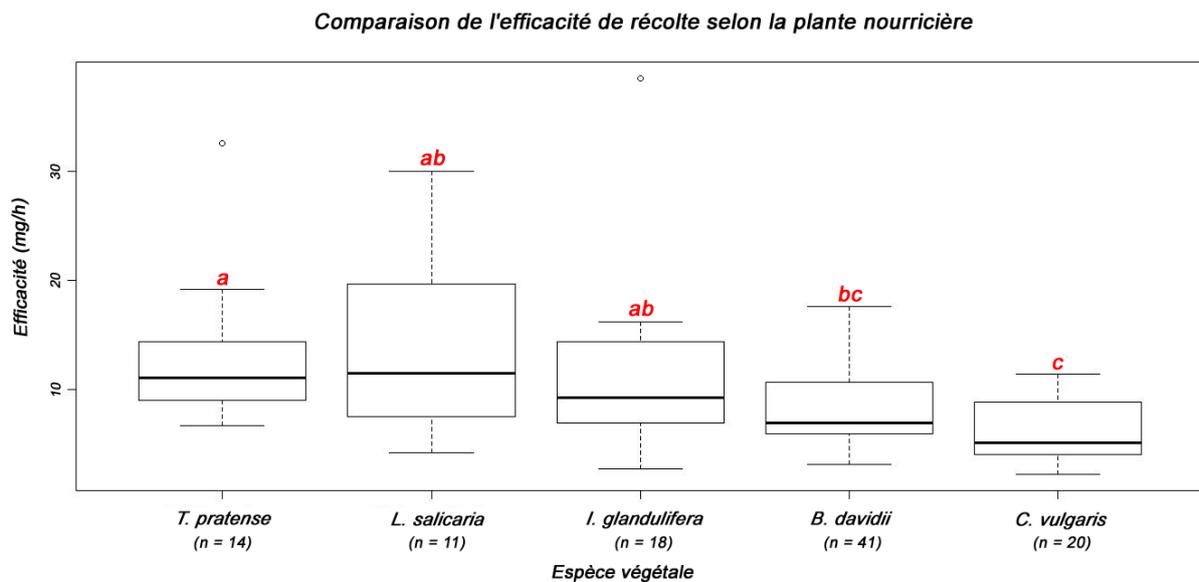


Figure 31 : Boîtes à moustaches basées sur l'efficacité de récolte selon les différentes espèces végétales. Les boîtes partageant le même indice lettré ne diffèrent pas significativement l'une de l'autre.

## 4. Discussion

### 4.1. Impact des plantes exotiques envahissantes sur le comportement de *Bombus terrestris*

L'investissement énergétique des ouvrières lors de la collecte des ressources dépend de leur nature, la récolte de pollen étant plus coûteuse que celle de nectar (Heinrich, 1976 ; Harder, 1990 ; Rasheed & Harder, 1997a). Dans le cadre de cette étude, les observations ont principalement été effectuées lors de la collecte de pollen, aucune distinction n'a été établie entre les collectes de nectar ou autres comportements de sortie indiscernables via les films. La variabilité observée pour la catégorie « collecte sans pollen » pourrait donc être issue d'une variabilité comportementale des ouvrières et ne reflète en aucun cas une variabilité de l'investissement des ouvrières lors de la collecte de nectar sur les différents hôtes.

Le pollen nécessite d'être prélevé efficacement des anthères par des mouvements coordonnés, chaque grain devant ensuite être agrégé en pelotes (Heinrich, 1976 ; Westerkamp, 1997). Le prélèvement du pollen découle donc d'un apprentissage plus ou moins long de la manipulation de la fleur ainsi que de processus de mémorisation (Laverty, 1994 ; Goulson, 2010). Comme décrit par Laverty (1994), la complexité florale est directement liée à la difficulté de manipulation de la fleur et à l'investissement énergétique qui en découle. Celui-ci se traduit dans la variation du temps de visite, n'excédant pas la seconde pour les fleurs à morphologie simple et pouvant dépasser les 10 secondes pour une fleur à morphologie complexe (Goulson, 2010). En outre, la disposition générale des fleurs (i.e. inflorescence, fleurs simples) influencerait les coûts énergétiques et temporels d'exploitation (Arbulo *et al.*, 2011). Une inflorescence, composée d'un grand nombre de fleurs contenant chacune pollen et nectar, pourrait offrir aux ouvrières l'opportunité de maximiser le nombre de fleurs visitées par unité de temps et d'ainsi réduire l'investissement. A l'inverse, l'exploitation de fleurs solitaires nécessiterait un investissement temporel et énergétique supplémentaire (Heinrich, 1979a).

Dans ce cas d'étude, la morphologie des fleurs parmi les espèces végétales étudiées est assez variable. Le trèfle des prés et la balsamine de l'Himalaya sont composés de fleurs zygomorphes alors que la symétrie florale des autres espèces végétales est de type radiaire, plus simple à exploiter (Lambion *et al.*, 2004 ; Goulson, 2010). Nos résultats montrent que les taux de visites mesurés pendant la récolte de pollen diffèrent entre les espèces florales exploitées. Les inflorescences plus denses telles que celles de *B. davidii*, et dans une moindre mesure *C. vulgaris* et *L. salicaria*, semblent permettre une plus grande performance

d'exploitation (i.e. grand nombre de fleurs visitées par minute). Des résultats similaires auraient pu être établis pour le trèfle mais les observations ayant été effectuées sur la totalité de l'inflorescence et non pas sur les fleurs, le taux de visite mentionné dans cette étude n'est pas comparable aux autres espèces florales. Cependant, des études antérieures ont mis en évidence que malgré leurs morphologies complexes (i.e. fleurs zygomorphes), les fleurs des Fabaceae sont aisément exploitées par les bourdons terrestres dont ils constituent des hôtes de prédilection (Heinrich, 1979a ; Rasmont, 1988 ; Teper, 2005 ; Hanley *et al.*, 2008). Dans le cas de *C. vulgaris*, les fleurs de la callune disposées en grappes denses ainsi que la structure générale de la plante organisée en buisson permettent aux ouvrières de passer de fleurs en fleurs en marchant sur l'inflorescence, optimisant ainsi leur taux de visite (Heinrich, 1979a ; Lambion *et al.*, 2004). A l'inverse, le taux de visite florale lors de l'exploitation d'*I. glandulifera* est fortement réduit, indiquant que les ouvrières mettent plus de temps à exploiter chacune des fleurs. Cette observation pourrait s'expliquer de par la structure générale élancée de la balsamine pouvant impliquer un plus grand investissement temporel et énergétique (i.e. vol d'une fleur à l'autre). Par ailleurs, les dimensions de la fleur pourraient annoncer une abondance de ressources, incitant les ouvrières à maximiser le rendement énergétique de l'exploitation de cette plante en passant plus de temps à recueillir pollen et nectar (Harder, 1983 ; Goulson, 2010).

Outre les traits floraux, les propriétés propres au pollen pourraient également influencer sur le comportement des pollinisateurs. Ainsi, une teneur polypeptidique élevée pourrait être positivement associée au caractère entomophile de la fleur (Vanderplanck, 2013). Nos résultats montrent en effet un haut taux de visite pour les espèces florales possédant un pollen riche en polypeptides (i.e. *B. davidii*, *T. pratense*). A l'inverse, les espèces végétales détenant une plus petite concentration en polypeptides au sein de leur pollen (i.e. *C. vulgaris*, *L. salicaria*) sont visitées moins rapidement. Cependant, ce constat ne peut être appliqué à *I. glandulifera*, espèce dont la teneur polypeptidique n'est pas significativement différente de celle de *T. pratense* mais dont le taux de visite est relativement faible. Pour cette espèce végétale exotique envahissante, il semblerait que le comportement de récolte soit majoritairement influencé par la disposition et la taille des fleurs.

## 4.2. Apport en ressources et qualité du régime alimentaire

Conformément à d'autres études (e.g. Vanderplanck, 2013), nos analyses mettent en évidence la variabilité de la teneur en polypeptides du pollen, le pollen floral d'*I. glandulifera* détenant la plus grande concentration en polypeptides totaux. Bien qu'aucune analyse n'ait pu être effectuée sur le pollen floral de *T. pratense*, les comparaisons des teneurs polypeptidiques des pelotes suggèrent que le pollen du trèfle possède une teneur polypeptidique supérieure à celle d'*I. glandulifera*. Cette observation est corroborée du fait que les Fabaceae sont connues pour produire un pollen riche en protéines (Hanley *et al.*, 2008). Les teneurs en polypeptides du pollen des autres espèces végétales (i.e. *B. davidii*, *C. vulgaris* et *L. salicaria*) sont inférieures à celles du *T. pratense* et d'*I. glandulifera*.

De manière générale, plusieurs hypothèses ont été émises quant aux facteurs régissant la teneur en protéines du pollen floral, à savoir la fidélisation des pollinisateurs et la croissance du tube pollinique (Stanley & Linskens, 1974 ; Roulston *et al.*, 2000 ; Hanley *et al.*, 2008 ; Goulson, 2010 ; Michez *et al.*, 2012 ; Vanderplanck *et al.*, 2014a). La seconde hypothèse implique que la teneur en protéines soit plus élevée dans les fleurs à corolle profonde (i.e. long style) telles qu'*I. glandulifera* (Goulson, 2010). A l'inverse des polypeptides, la teneur et la composition en acides aminés totaux sont relativement conservées dans les pollens des différentes espèces étudiées, confirmant les résultats d'études similaires (Roulston & Cane, 2002 ; Weiner *et al.*, 2010 ; Vanderplanck, 2013).

Cette variabilité de la teneur en nutriments des pollens, couplée à la variation du comportement de récolte de *B. terrestris* dépendant elle-même de la disposition et de la morphologie des fleurs ainsi que de la qualité des ressources, pourrait se répercuter de manière non négligeable sur l'apport de ressources au sein de la colonie, ainsi que sur la qualité du régime alimentaire. En effet, à l'instar du pollen floral, la composition chimique des pelotes des ouvrières est fortement variable en fonction de l'espèce florale exploitée. Si la composition chimique du pollen floral est un trait important pouvant régir l'attractivité des plantes hôtes, la composition chimique des pelotes joue un rôle important dans le maintien et le développement des colonies de bourdons (Roulston & Cane, 2002 ; Goulson *et al.*, 2005 ; Hanley *et al.*, 2008 ; Kleijn & Raemakers, 2008). Outre la différence de composition des pelotes, nos résultats mettent également en évidence une différence dans la quantité totale de pollen ramenée à la colonie. Ces deux paramètres influent de manière générale sur l'apport nutritif de la colonie, étroitement lié à l'espèce florale exploitée.

Parmi les différentes espèces florales étudiées, l'exploitation du *T. pratense* semble permettre le meilleur apport pollinique et nutritif. En effet, les observations éthologiques ont permis d'établir que les ouvrières confectionnent des pelotes de plus grande taille de ce pollen détenant par ailleurs la plus grande teneur polypeptidique. De plus, les pelotes à base de *T. pratense* contiennent des concentrations supérieures en proline par rapport aux pelotes issues des autres espèces. Bien que non essentiel, cet acide aminé reste néanmoins primordial pour les abeilles de par son implication dans le métabolisme du vol (Micheu *et al.*, 2000). L'abondance de proline dans l'alimentation pourrait dès lors influencer indirectement le développement de colonies de bourdons *in natura* et constituer un attrait floral particulier. Cette hypothèse est renforcée par l'étude de Weiner *et al.* (2010) qui met en évidence l'importante concentration de proline dans le pollen de *Campanula trachelium* dont le genre était largement exploitée avant 1950 par des espèces de bourdons aussi bien stables (i.e. *B. pascuorum*) qu'en déclin (i.e. *B. jonellus*, *B. soroensis*) (Kleijn & Raemakers, 2008). Le même raisonnement peut être appliqué au *T. pratense*, ressource riche en proline et abondamment consommée par la majorité des espèces de bourdons au siècle dernier (Kleijn & Raemakers, 2008). A l'opposé du trèfle, l'exploitation de *C. vulgaris* et *L. salicaria* résulte en un apport plus faible à la fois en termes de pollen et en termes de polypeptides. Ces résultats concordent avec certaines études attestant de la faible valeur nutritionnelle du pollen de la callune et de la salicaire (Tasei & Aupinel, 2008 ; Vanderplanck *et al.*, 2014a ; Vanderplanck *et al.*, *in prep.*).

Face à cette variabilité des apports polliniques et nutritifs issus de l'exploitation des plantes indigènes, les plantes exotiques envahissantes donnent des résultats intermédiaires à la fois en termes de quantités de pollen et de nutriments (i.e. polypeptides et acides aminés) ramenées à la colonie. La qualité des pollens de ces espèces exotiques, relativement similaire à celle des plantes indigènes, pourrait constituer un facteur majeur ayant permis l'implantation de ces espèces végétales. En effet, Kleijn & Raemakers (2008) ont mis en évidence la présence du pollen d'*I. glandulifera* dans les diètes actuelles (i.e. 2004-2005) d'espèces stables de bourdons (i.e. *B. hortorum*, *B. pascuorum*, *B. pratorum*, *B. terrestris*). En ce qui concerne le pollen de *B. davidii*, la même étude révèle qu'il est présent de manière constante depuis le siècle dernier dans la diète de *B. terrestris*.

Autre paramètre important dans la caractérisation de l'exploitation des espèces florales par les ouvrières de bourdons, l'efficacité de récolte. Celle-ci est définie comme étant la masse de pollen ramenée au nid par unité de temps (i.e. heure). Il semble que l'efficacité de récolte de pollen soit corrélée avec la masse des pelotes des ouvrières. Nos résultats suggèrent

que les ouvrières confectionnent de plus grosses pelotes (i.e. supérieures en masse et surface) lors de l'exploitation du trèfle des prés, ramenant ainsi une plus grande quantité de pollen par unité de temps. Inversement, l'exploitation de la callune résulte en la confection de pelotes plus petites, et donc en une efficacité de récolte plus faible. Ces résultats sont à mettre en parallèle avec la notion d' «*Optimal Foraging*», qui se résume à maximiser le bénéfice énergétique (i.e. maximisation du gain, minimisation des dépenses) pendant le plus petit intervalle de temps (Heinrich, 1979a ; Stephens & Krebs, 1986). Certains facteurs, comme la quantité de pollen produite par fleur, n'ont pas été pris en compte et auraient pu nous aider à réellement comprendre les différences d'apports observées lors de l'exploitation des espèces florales. Par ailleurs, la quantité de ressources produite par une espèce végétale dépend du nombre total de fleurs disponibles ainsi que de la disposition des fleurs (i.e. inflorescence, fleurs simples) (Heinrich, 1979b). Ces deux caractéristiques pourraient, dès lors, influencer le comportement de récolte des ouvrières, lui-même modulé afin de maximiser le bénéfice net colonial (Heinrich, 1979a).

#### **4.3. Déclin et conservation des bourdons**

Il est maintenant évident que certaines espèces de bourdons ont décliné en diversité et en abondance au cours des dernières décennies (e.g. *B. jonellus*, *B. soroensis*) (Goulson *et al.*, 2005 ; Biesmeijer *et al.*, 2006 ; Carvell *et al.*, 2006). Plusieurs causes agissent simultanément, de manière directe ou indirecte, sur les populations (Goulson *et al.*, 2005 ; Biesmeijer, 2006 ; Roulston & Goodell, 2011). Kleijn & Raemakers (2008) ont mis en évidence une relation entre le déclin de certaines espèces de bourdons et la régression de leurs ressources florales. La réduction drastique des populations de pollinisateurs semble être en grande partie due aux changements de gestion et d'exploitation des terres. En effet, le maintien des colonies de bourdons serait fortement lié aux formes traditionnelles d'utilisation des terres (i.e. utilisation des légumineuses comme cultures fourragères et des bruyères dans le système agro-pastoral) en raison de leurs préférences florales et du manque d'espèces végétales hôtes alternatives (Kleijn & Raemakers, 2008).

Cependant, d'autres espèces de bourdons voient leurs populations rester stables (e.g. *B. pascuorum*, *B. terrestris*) (Kleijn & Raemakers, 2008 ; Goulson & Darvill, 2004 ; Rasmont *et al.*, 2008). Ces espèces de bourdons sont caractérisées par leur capacité d'adaptation à l'exploitation de nouveaux hôtes tels que les plantes exotiques envahissantes (Kleijn & Raemakers, 2008). Cette plasticité comportementale favoriserait le caractère invasif de *B. terrestris* qui a été démontré via de nombreuses études (e.g. Inoue *et al.* 2008).

Le réseau plantes-pollinisateurs forme un ensemble d'une grande cohésion constitué d'un corps d'espèces généralistes ou « super-généralistes » interagissant entre elles et auquel se rattache la communauté pollinisatrice (Bascompte *et al.*, 2003). Les espèces stables de bourdons fournissent d'importants services écosystémiques et constituent le vecteur pollinisateur d'une large gamme de plantes de par leur grande abondance, même dans des habitats *a priori* défavorables (Kleijn *et al.*, 2001 ; Goulson, 2010). Leur perte serait potentiellement bien plus préjudiciable aux communautés végétales (Memmott *et al.*, 2004 ).

D'après nos résultats, les plantes exotiques envahissantes ne semblent pas agir négativement sur le bourdon polylectique *B. terrestris*. Ce constat concorde avec certaines études mettant en évidence l'influence positive des espèces exotiques envahissantes sur le développement de colonies de bourdons ainsi que le fait qu'elles puissent constituer une ressource alimentaire importante pour les espèces généralistes (Stout, 2007 ; Dietzsch *et al.*, non publié, cité par Stout & Morales, 2009).

Cependant, certaines plantes exotiques envahissantes influenceraient négativement le maintien de certaines espèces végétales indigènes par situations de compétition (i.e. pour les nutriments, l'eau, la lumière, l'espace et la reproduction) (Chittka & Schrürkens, 2001 ; Kleunen *et al.*, 2010). Les pollinisateurs indigènes spécialisés dans l'exploitation de ces dernières (i.e. *Bombus jonellus* sur *C. vulgaris*, *Melitta nigricans* (Melittidae) et *Tetraloniella salicariae* (Apidae) sur *L. salicaria*) en seraient dès lors affectés (Génissel *et al.*, 2002 ; Müller *et al.*, 2006 ; Kleijn & Raemakers, 2008 ; Stout & Morales, 2009). Afin d'enrayer une érosion continue de la biodiversité, certaines mesures de gestion devraient être prises pour au final maximiser la diversité spécifique, génétique et écosystémique (Primack *et al.*, 2012). Ainsi, garder une hétérogénéité des paysages (i.e. richesse et abondance florale) renforcerait la diversité et l'activité des pollinisateurs (Westphal *et al.*, 2003).

## 5. Conclusion

Différentes performances et stratégies d'exploitation ont été observées selon la qualité chimique du pollen, la disposition et la morphologie des fleurs de l'espèce végétale. Ces différences comportementales des ouvrières ont pour but de maximiser le rendement énergétique colonial, les fleurs à pollen riche en nutriments et densément groupées offrant les meilleurs rendements d'exploitation florale.

Cette étude révèle que, contrairement au postulat de départ, les espèces exotiques envahissantes peuvent produire des ressources adaptées aux pollinisateurs généralistes indigènes, que ce soit en termes de composition nutritionnelle ou d'efficacité d'exploitation. Tout comme les plantes indigènes, les espèces exotiques arborent une variabilité dans les apports polliniques et nutritifs à la colonie. Alors que *T. pratense*, *B. davidii* et dans une moindre mesure *I. glandulifera* semblent constituer des hôtes de prédilection pour *B. terrestris*, *C. vulgaris* et *L. salicaria* présentent des ressources nutritives moins bénéfiques.

## 6. Perspectives

Dans un premier temps, il serait intéressant d'élargir cette étude à d'autres modèles de plantes exotiques envahissantes et indigènes ainsi qu'à d'autres espèces de bourdons afin de pouvoir statuer sur le réel impact des plantes exotiques sur nos écosystèmes et plus particulièrement, sur la biodiversité des bourdons.

D'autres paramètres pourraient également être considérés tels que la couleur des fleurs, les parfums qu'elles dégagent, la composition en stéroïdes du pollen, les sucres nectarifères mais aussi la quantité de pollen produite par une fleur. La mesure de ces différents paramètres permettrait d'améliorer notre compréhension quant à la qualité des plantes exotiques en tant qu'hôtes et à l'efficacité de récolte.

Enfin, la masse totale de pollen, et donc de nutriments, requise pour nourrir une larve serait intéressante à prendre en compte. Conjointement à la quantité de pollen produite par les fleurs, ce paramètre permettrait de déterminer le nombre de fleurs nécessaire à la production d'un bourdon et ce, en fonction de l'espèce florale exploitée.

## 7. Bibliographie

- Arbetman, M.P., Meeus, I., Morales, C.L., Aizen, M.A., Smagghe, G.** (2013). Alien parasite hitchhikes to Patagonia on invasive bumblebee. *Biological invasions*, 15(3): 489-494.
- Arbulo, N., Santos, E., Salvarrey, S., Invernizzi, C.** (2011). Proboscis length and resource utilization in two Uruguayan bumble bees: *Bombus atratus* Franklin and *Bombus bellicosus* Smith (Hymenoptera: Apidae). *Neotropical entomology*, 40(1): 72-77.
- Bascompte, J., Jordano, P., Melián, C.J., Olesen, J.M.** (2003). The nested assembly of plant-animal mutualistic networks. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(16): 9383-9387.
- Beerling, D.J., Perrins, J.M.** (1993). *Impatiens glandulifera* Royle (*Impatiens roylei* Walp.). *Journal of Ecology*, 81: 367-382.
- Behmer, S.T., Nes W.D.** (2003). Insect sterol nutrition and physiology: a global overview. *Advances in Insect Physiology*, 31: 1-72.
- Bellmann, H.** (1999). Guide des abeilles, bourdons, guêpes et fourmis d'Europe. L'identification, le comportement, l'habitat. Delachaux et Niestlé, Lausanne, Paris, 336pp.
- Biesmeijer, J.C., Roberts, S.P.M., Reemer, M., Ohlemüller, R., Edwards, M., Peeters, T., Schaffers, A.P., Potts, S.G., Kleukers, R., Thomas, C.D., Kunin, W.E.** (2006). Parallel declines in pollinators and insect-pollinated plants in Britain and the Netherlands. *Science*, 313(5785): 351-354.
- Binggeli, P.** (1998). An overview of invasive woody plants in the tropics. School of Agricultural and Forest Sciences Publication Number 13, University of Wales, Bangor [<http://www.bangor.ac.uk/~afs101/iwpt/web1-99.pdf> accessed 31 May 2014].
- Blacquiere, T., Smagghe, G., Van Gestel, C.A., Mommaerts, V.** (2012). Neonicotinoids in bees: a review on concentrations, side-effects and risk assessment. *Ecotoxicology*, 21(4): 973-992.
- Bolker, B.M., Brooks, M.E., Clark, C.J., Geange, S.W., Poulsen, J.R., Stevens, M.H.H., White, J.S.S.** (2009). Generalized linear mixed models: a practical guide for ecology and evolution. *Trends in ecology & evolution*, 24(3): 127-135.
- Brandenburg, A., Dell'Olivo, A., Bshary, R., Kuhlemeier, C.** (2009). The sweetest thing: advances in nectar research. *Current opinion in plant biology*, 12(4): 486-490.
- Bronstein, J.L.** (2001). The costs of mutualism. *American Zoologist*, 41: 825-839.

- Buchmann, S.L.** (1986). Vibratile pollination in *Solanum* and *Lycopersicon*: a look at pollen chemistry. *Solanaceae: biology and systematics*. Columbia University Press, New York, pp. 237-252.
- Cameron, S.A., Robinson, G.E.** (1993). Juvenile hormone does not affect division of labour in bumble bee colonies (Hymenoptera: Apidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 83: 626-631.
- Cameron, S.A., Lozier J.D., Strange J.P., Koch J.B., Cordes N., Solter L.F., Griswold, T.L.** (2011). Patterns of widespread decline in North American bumble bees. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*, 108: 662-667.
- Carvell, C., Roy, D.B., Smart, S.M., Pywell, R.F., Preston, C.D., Goulson, D.** (2006). Declines in forage availability for bumble bees at a national scale. *Biological conservation*, 132(4): 481-489.
- Chapman, R.F.** (2012). *The insects structures and function* 5th edition. Cambridge, Massachusetts, Cambridge University press. 929pp.
- Chittka, L., Gumbert, A., Kunze, J.** (1997). Foraging dynamics of bumble bees: correlates of movements within and between plant species. *Behavioural Ecology*, 8: 239-249.
- Chittka, L.** (1998). Sensorimotor learning in bumblebees: long-term retention and reversal training. *Journal of Experimental Biology*, 201(4): 515-524.
- Chittka, L., Schürkens, S.** (2001). Successful invasion of a floral market. *Nature*, 411(6838): 653-653.
- Chittka, L., Raine, N.E.** (2006). Recognition of flowers by pollinators. *Current opinion in plant biology*, 9(4): 428-435.
- Cnaani, J., Thomson, J.D., Papaj, D.R.** (2006). Flower choice and learning in foraging bumblebees: effects of variation in nectar volume and concentration. *Ethology*, 112(3): 278-285.
- Cohen, A.C.** (2004). *Insect Diet: Science and Technology*. CRC, Boca Raton, Florida, USA, 324pp.
- Cook, S.M., Awmack, C.S., Murray, D.A., Williams, I.H.** (2003). Are honeybees' foraging preferences affected by pollen amino acid composition? *Ecological Entomology*, pp. 622-627.
- Coste, H., Flahault, C.** (1937). *Flore descriptive et illustrée de la France, de la Corse, et des contrées limitrophes* (Vol. 2). Librairie des sciences et des arts, Paris, 627pp.
- Cresswell, J.E., Osborne, J.L., Goulson, D.** (2000). An economic model of the limits to foraging range in central place foragers with numerical solutions for bumblebees. *Ecological Entomology*, 25(3): 249-255.

- Culin, J.D.** (1997). Relationship of butterfly visitation with nectar qualities and flower color in butterfly bush, *Buddleia davidii*. *News of the Lepidopterists' Society*, 39: 35-38.
- De Groot, A.P.** (1953). Protein and Amino Acid Requirements of the Honey bee (*Apis mellifera*). *Physiologia Comparata et d'Ecologia*, 3: 197-285.
- Edwards, M., Jenner, M.** (2005). Field guide to the bumblebees of Great Britain and Ireland, Ocelli Limited, United Kingdom, 108pp.
- Exeler, N., Kratochwil, A., Hochkirch, A.** (2010). Does recent habitat fragmentation affect the population genetics of a heathland specialist, *Andrena fuscipes* (Hymenoptera: Andrenidae)? *Conservation Genetics*, 11(5): 1679-1687.
- Free, J.B.** (1955). The division of labour within bumblebee colonies. *Insectes Sociaux* 11: 195-211.
- Gallai, N., Salles, J.M., Settele, J., Vaission, B.E.** (2009). Economic valuation of the vulnerability of world agriculture confronted with pollinator decline. *Ecological Economics*, 68(3): 810-821.
- Gegear, R.J., Thomson, J.D.** (2004). Does the flower constancy of bumble bees reflect foraging economics? *Ethology*, 110: 793-805.
- Génissel, A., Aupinel, P., Bressac, C., Tasei, J.N., Chevrier, C.** (2002). Influence of pollen origin on performance of *Bombus terrestris* micro-colonies. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 104: 329-336.
- Ghazoul, J.** (2002). Flowers at the front line of invasion? *Ecological Entomology*, 27: 639-640.
- Goulson, D.** (1994). A model to predict the role of flower constancy in inter-specific competition between insect pollinated flowers. *Journal of Theoretical Biology*, 168: 309-314.
- Goulson, D., Hawson, S.A., Stout, J.C.** (1998). Foraging bumblebees avoid flowers already visited by conspecifics or by other bumblebee species. *Animal Behaviour*, 55(1): 199-206.
- Goulson, D.** (1999). Foraging strategies of insects for gathering nectar and pollen, and implications for plant ecology and evolution. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, 2(2): 185-209.
- Goulson, D.** (2000). Are insects flower constant because they use search images to find flowers? *Oikos*, 88: 547-552.
- Goulson, D., Peat, J., Stout, J.C., Tucker, J., Darwill, B., Derwent, L.C., Hughes, W.O.H.** (2002). Can alloethism in workers of the bumblebee, *Bombus terrestris*, be explained in terms of foraging efficiency? *Animal Behaviour*, 64: 123-130.

- Goulson, D., Darvill, B.** (2004). Niche overlap and diet breadth in bumblebees. Are rare species more specialized in their choice of flowers? *Apidologie*, 35: 55-64.
- Goulson, D., Hanley, M.E., Darvill, B., Ellis, J.S., Knight, M.E.** (2005). Causes of rarity in bumble bees. *Biological Conservation*, 122: 1-8.
- Goulson, D.** (2006). The demise of the bumblebee in Britain. *Biologist*, 53: 294-299.
- Goulson, D., Lye, G.C., Darvill, B.** (2008). Decline and conservation of bumble bees. *Annual Review of Entomology*, 53: 191-208.
- Goulson, D.** (2010). *Bumblebees: Behaviour and Ecology*. Oxford, UK: Oxford University Press, 317pp.
- Grixti, J.C., Wong L.T., Cameron, S.A., Favret, C.** (2009). Decline of bumble bees (*Bombus*) in the North American Midwest. *Biological Conservation*, 142: 75-84.
- Grüter, C., Ratnieks, F.L.** (2011). Flower constancy in insect pollinators: Adaptive foraging behaviour or cognitive limitation? *Communicative & integrative biology*, 4(6): 633-636.
- Hanley, M.E., Franco, M., Pichon, S., Darvill, B., Goulson, D.** (2008). Breeding system, pollinator choice and variation in pollen quality in British herbaceous plants. *Functional Ecology*, 22(4): 592-598.
- Harder, L.D.** (1983). Flower handling efficiency of bumble bees: morphological aspects of probing time. *Oecologia*, 57(1-2): 274-280.
- Harder, L.D.** (1990). Behavioral responses by bumble bees to variation in pollen availability. *Oecologia*, 85: 41-47.
- Hegland, S.J., Boeke, L.** (2006). Relationships between the density and diversity of floral resources and flower visitor activity in a temperate grassland community. *Ecological Entomology*, 31(5): 532-538.
- Heinrich, B.** (1976). Foraging specializations of individual bumblebees. *Ecological Monographs*, 46: 105-128.
- Heinrich, B.** (1979a). *Bumblebee Economics*. Cambridge, MA: Harvard University Press. 245pp.
- Heinrich, B.** (1979b). "Majoring" and "minoring" by foraging bumblebees, *Bombus vagans*: an experimental analysis. *Ecology*, 60(2): 245-255.
- Heil, M.** (2011). Nectar: generation, regulation and ecological functions. *Trends in plant science*, 16(4): 191-200.
- Herrmann, F., Westphal C., Moritz R.F.A., Steffan- Dewenter I.** (2007). Genetic diversity and mass resources promote colony size and forager densities of a social bee (*Bombus pascuorum*) in agricultural landscapes. *Molecular Ecology*, 16: 1167-1178.

- Howell, A.D., Alarcón, R.** (2007). *Osmia* bees (Hymenoptera: Megachilidae) can detect nectar-rewarding flowers using olfactory cues. *Animal behavior*, 74(2): 199-205.
- Hulme, P.E., Bremner, E.T.** (2006). Assessing the impact of *Impatiens glandulifera* on riparian habitats: partitioning diversity components following species removal. *Journal of Applied Ecology*, 43: 43-50.
- Inoue, M.N., Yokoyama, J., Washitani, I.** (2008). Displacement of Japanese native bumblebees by the recently introduced *Bombus terrestris* (L.) (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Insect Conservation*, 12(2): 135-146.
- Iserbyt, S., Rasmont, P.** (2012). The effect of climatic variation on abundance and diversity of bumblebees: A ten years survey in a mountain hotspot. *Annales de la société entomologique de France*, 48 (3-4): 261-273.
- Ishii, H.S.** (2005). Analysis of bumblebee visitation sequences within single bouts: implication of the overstrike effect on short-term memory. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 57(6): 599-610.
- IUCN.** (2013). Bumblebee Specialist Group. IUCN, Gland, Switzerland. [[http://www.iucn.org/about/work/programmes/species/who\\_we\\_are/ssc\\_specialist\\_groups\\_and\\_red\\_list\\_authorities\\_directory/invertebrates/bumblebee\\_specialist\\_group/](http://www.iucn.org/about/work/programmes/species/who_we_are/ssc_specialist_groups_and_red_list_authorities_directory/invertebrates/bumblebee_specialist_group/) accessed 15 May 2014].
- Janssens, S.B., Knox, E.B., Huysmans, S., Smets, E.F., Merckx, V.S.** (2009). Rapid radiation of *Impatiens* (Balsaminaceae) during Pliocene and Pleistocene: Result of a global climate change. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 52(3): 806-824.
- Keller, I., Fluri, P., Imdorf, A.** (2005). Pollen nutrition and colony development in honey bees: part I. *Bee World*, 86(1): 3-10.
- Kettunen, M., Genovesi, P., Gollasch, S., Pagad, S., Starfinger, U., Ten Brink, P., Shine, C.** (2009). Technical support to EU strategy on invasive alien species (IAS)-Assessment of the impacts of IAS in Europe and the EU. *Brussels: Institute for European Environmental Policy*.
- Klein, A.M., Vaissière, B.E., Cane, J.H., Steffan-Dewenter, I., Cunningham, S.A., Kremen, C., Tscharrntke, T.** (2007). Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. *Proceedings of the Royal Society B Biological Sciences*, 274: 303-313.
- Kleijn, D., Berendse, F., Smit, R., Gilissen, N.** (2001). Agri-environment schemes do not effectively protect biodiversity in Dutch agricultural landscapes. *Nature*, 413(6857): 723-725.
- Kleijn, D., Raemakers, I.** (2008). A retrospective analysis of pollen host plant use by stable and declining bumblebee species. *Ecology*, 89: 1811-1823.

- Knight, A.H., Crooke, W. M., Shepherd, H.** (1972). Chemical composition of pollen with particular reference to cation exchange capacity and uronic acid content. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 23(3): 263-274.
- Knight, M.E., Martin, A.P., Bishop, S., Osborne, J.L., Hale, R.J., Sanderson, R.A., Goulson, D.** (2005). An interspecific comparison of foraging range and nest density of four bumblebee (*Bombus*) species. *Molecular Ecology*, 14(6): 1811-1820.
- Kosior, A., Celary, W., Olejniczak, P., Fijal, J., Krol, W., Solarz, W., Plonka, P.** (2007). The decline of the bumble bees and cuckoo bees (Hymenoptera: Apidae: Bombini) of Western and Central Europe. *Oryx*, 41(01): 79-88.
- Kremen, C., Williams, N.M., Thorp, R.W.** (2002). Crop pollination from native bees at risk from agricultural intensification. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(26): 16812-16816.
- Lambion, J., Delvosalle, L., Duvigneaud, J.** (2004). Nouvelle Flore de la Belgique, du Grand-Duché de Luxembourg, du Nord de la France et des Régions voisines (Ptéridophytes et Spermatophytes) cinquième édition. Edition du jardin botanique de Belgique, 1092pp.
- Latreille, P.A.** (1802). Histoire naturelle des fourmis, et recueil de mémoires et d'observations sur les abeilles, les araignées, les faucheurs, et autres insectes, Paris, Imprimerie Francaise Dufart.
- Laverty, T.M.** (1994). Bumble bee learning and flower morphology. *Animal Behaviour*, 47: 531-545.
- Lázaro, A., Piazzon, M.** (2014). Influence of number of flowers and number of previous and simultaneous foragers on bumblebees' local foraging decisions. *Acta ethologica*, 1-10.
- Leclercq, J., Gaspar, C., Marchal, J.L., Verstaeten, C., Wonville, C.** (1980). Analyse des 1600 premières cartes de l'atlas provisoire des insectes de Belgique, et première liste rouge d'insectes menaces dans la faune belge. *Notes fauniques de Gembloux (Belgium)*, 4: 1-104.
- Lee, K.P., Cory, J.S., Wilson, K., Raubenheimer, D., Simpson, S.J.** (2006). Flexible diet choice offsets protein costs of pathogen resistance in a caterpillar. *Proceedings of the Royal Society B Biological Sciences*, 273: 823-829.
- Leonhardt, S.D., Blüthgen, N.** (2012). The same, but different: pollen foraging in honeybee and bumblebee colonies. *Apidologie*, 43: 449-464.
- Levine, J.M., Vilà, M., D'Antonio, C.M., Dukes, J.S., Grigulis, K., Lavorel, S.** (2003). Mechanisms underlying the impacts of exotic plant invasions. *Proceedings of the Royal Society B Biological Sciences*, 270: 775-781.

- Loper, G.M., Cohen, A.C.** (1987). Amino acid content of dandelion pollen, a honey bee (Hymenoptera: Apidae) nutritional evaluation. *Journal of Economic Entomology*, 80: 14-17.
- Mai, T.R., Lovett-Doust, J., Lovett-Doust, L., Mulligan, G.A.** (1992). The biology of Canadian weeds. 100. *Lythrum salicaria*. *Canadian Journal of Plant Science*, 72(4): 1305-1330.
- Martin, P.H.** (1999). Norway maple (*Acer platanoides*) invasion of a natural forest stand: understory consequence and regeneration pattern. *Biological Invasions*, 1: 215-222.
- Memmott, J., Waser, N.M., Price, M.V.** (2004). Tolerance of pollination networks to species extinctions. *Proceedings of the Royal Society B Biological Sciences*, 271: 2605-2611.
- Michener, C.D.** (2000). *The Bees of the World*. Baltimore: Johns Hopkins University Press, 913pp.
- Micheu, S., Crailsheim, K., Leonhard, B.** (2000). Importance of proline and other amino acids during honeybee flight. *Amino acids*, 18(2): 157-175.
- Michez, D., Vanderplanck, M., Engel, M.S.** (2012). Fossil bees and their plant associates. *Evolution of Plant-Pollinator Relationships*, (ed. by S. Patiny), Cambridge University Press, Cambridge, U.K, pp. 103-164.
- Müller, A., Diener, S., Schnyder, S., Stutz, K., Sedivy, C., Dorn, S.** (2006). Quantitative pollen requirements of solitary bees: implications for bee conservation and the evolution of bee-flower relationships. *Biological Conservation*, 130(4): 604-615.
- Nicolson, S.W.** (2011). Bee food: the chemistry and nutritional value of nectar, pollen and mixtures of the two. *African Zoology*, 46(2): 197-204.
- Nienhuis, C.M., Dietzsch, A.C., Stout, J.C.** (2009). The impacts of an invasive alien plant and its removal on native bees. *Apidologie*, 40: 450-463.
- Nuttman, C.V., Semida, F.M., Zalut, S., Willmer, P.G.** (2006). Visual cues and foraging choices: bee visits to floral colour phases in *Alkanna orientalis* (Boraginaceae). *Biological journal of the Linnean Society*, 87(3): 427-435.
- Ollerton, J., Winfree, R., Tarrant, S.** (2011). How many flowering plants are pollinated by animals? *Oikos*, 120(3): 321-326.
- Patiny, S., Michez, D., Rasmont, P.** (2009). A survey and review of the status of wild bees in the West Palaearctic region. *Apidologie*, 40: 313-331.
- Pelletier, L., McNeil J.N.** (2004). Do bumblebees always forage as much as they could? *Insectes Sociaux*, 51: 271-274.
- Pereboom, J.J.M.** (2000). The composition of larval food and the significance of exocrine secretions in the bumblebee *Bombus terrestris*. *Insectes Sociaux*, 47(1): 11-20.

- Petanidou, T., Van Laere, A., Ellis, W.N., Smets, E.** (2006). What shapes amino acid and sugar composition in Mediterranean floral nectars? *Oikos*, 115(1): 155-169.
- Pouvreau, A.** (2004). Les insectes pollinisateurs. Delachaux et Niestlé, Lausanne, Paris, 190pp.
- Praz, C.J., Muller, A., Dorn, S.** (2008). Specialized bees fail to develop on non-host pollen: do plants chemically protect their pollen? *Ecology*, 89: 795-804.
- Primack, R. B., Sarrazin F., Lecomte. A.,** (2012). Biologie de la conservation. Dunod, Paris, 351pp.
- Pyšek, P., Jarošík, V., Kučera T.** (2003). Inclusion of native and alien species in temperate nature reserves: an historical study from Central Europe. *Conservation Biology*, 17: 1414-1424.
- Raguso, R.A.** (2004). Flowers as sensory billboards: progress towards an integrated understanding of floral advertisement. *Current opinion in plant biology*, 7(4): 434-440.
- Raine, N.E, Chittka, L.** (2007). Pollen foraging: learning a complex motor skill by bumblebees (*Bombus terrestris*). *Naturwissenschaften*, 94: 459-464.
- Raine, N.E, Chittka, L.** (2008). The correlation of learning speed and natural foraging success in bumble-bees. *Proceedings of the Royal Society B*, 275: 803-808.
- Rasheed S.A., Harder, L.D.** (1997a). Foraging currencies for non-energetic resources: pollen collection by bumblebees. *Animal Behaviour*, 54: 911-926.
- Rasheed, S.A., Harder, L.D.** (1997b). Economic motivation for plant species preferences of pollen-collecting bumble bees. *Ecological Entomology*, 22(2): 209-219.
- Rasmont, P.** (1988). Monographie écologique et zoogéographique des bourdons de France et de Belgique (Hymenoptera, Apidae, Bombinae). Ph.D. Thesis, Faculté des Sciences Agronomique de l'Etat, Gembloux, Belgium.
- Rasmont, P., Mersch, P.** (1988). Première estimation de la dérive faunique chez les Bourdons de la Belgique (Hymenoptera, Apidae). *Annales de la Société royale Zoologique de Belgique*, 118(2): 141-147.
- Rasmont, P., Pauly, A., Terzo, M., Patiny, S., Michez, D., Iserbyt, S., Barbier, Y., Haubruge, E.** (2005). The survey of wild bees (Hymenoptera, Apoidea) in Belgium and France, Rapport d'activité, UMH - FUSAGx - FAO, 18pp.
- Rasmont, P., Coppée, A., Michez, D., de Meulemeester, T.** (2008). An overview of the *Bombus terrestris* (L. 1758) subspecies (Hymenoptera: Apidae). *Annales de la société entomologique de France*, 44: 243-250.

- Roulston, T.A.H., Cane, J.H., Buchmann, S.L.** (2000). What governs protein content of pollen: pollinator preferences, pollen-pistil interactions, or phylogeny? *Ecological monographs*, 70(4): 617-643.
- Roulston, T.A.H., Cane, J. H.** (2002). The effect of pollen protein concentration on body size in the sweat bee *Lasioglossum zephyrum* (Hymenoptera: Apiformes). *Evolutionary Ecology*, 16(1): 49-65.
- Roulston, T.A.H., Goodell, K.** (2011). The role of resources and risks in regulating wild bee populations. *Annual Review of Entomology*, 56: 293-312.
- Saad, L., Jacquemart, A. L., Cawoy, V., Vanparys, V., Vervoort, A., Meerts, P., Dassonville, N., Domken, S., Mahy, G.** (2009). Les plantes exotiques envahissantes en Belgique ont-elles des impacts? *Parcs & Réserves, Namur, Belgique, Ardenne et Gaume*, 64 : 10-16.
- Sala, O.E., Chapin, F.S., Armesto, J.J., Berlow, E., Bloomfield, J., Dirzo, R., Huber-Sanwald, E., Hünneke, L.F., Jackson, R.B., Kinzig, A., Leemans, R., Lodge, D.M., Mooney, H.A., Österheld, M., Poff, N.L., Sykes, M.T., Walker, B.H., Walker, M., Wall, D.H.** (2000). Biodiversity- global biodiversity scenarios for the year 2100. *Science*, 287: 1770-1774.
- Showler, K.** (1989). The Himalayan balsam in Britain- an undervalued source of nectar. *Bee World*, 70: 130-131.
- Simberloff, D., Von Holle, B.** (1999). Positive interactions of non-indigenous species: invasional meltdown? *Biological Invasions*, 1: 21-32.
- Simberloff, D.** (2006). Invasional meltdown six years later? Important phenomenon, unfortunate metaphor, or both? *Ecology Letters*, 9: 912-919.
- Somme, L., Vanderplanck, M., Michez, D., Lombaerde, I., Moerman, R., Wathelet, B., Lognay, G., Jacquemart, A.L.** (2014). Pollen and nectar quality drive major and minor floral choices of bumble bees. *Apidologie*, submitted.
- Spaethe, J., Tautz, J., Chittka, L.** (2001). Visual constraints in foraging bumble bees: flower size and color affect search time and flight behavior. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98: 3898-3903.
- Spaethe, J., Chittka, L.** (2003). Interindividual variation of eye optics and single object resolution in bumblebees. *Journal of Experimental Biology*, 206: 3447-3453.
- Standifer, L.N., McCaughey, W.F., Dixon, S.E., Gilliam, M., Loper, G.M.** (1980). Biochemistry and microbiology of pollen collected by honey bees (*Apis mellifera* L.) from almond, *Prunus dulcis*. II. Protein, Amino acids and enzymes. *Apidologie*, 11: 163-171.

- Stanley, R.G., Linskens, H.F.** (1974). Pollen: biology, biochemistry, management. Berlin: Springer-Verlag, 307pp.
- Starr, F., Starr, K., Loope, L.** (2003). *Buddleia davidii*. United States Geological Survey-- Biological Resources Division Haleakala Field Station, Maui, Hawai'i.
- Stephens, D.W., Krebs, J.R.** (1986). Foraging theory. Monographs in behavior and ecology. Princeton University Press, Princeton.
- Stout, J.C., Goulson, D.** (2001). The use of conspecific and interspecific scent marks by foraging bumblebees and honeybees. *Animal behavior*, 62(1): 183-189.
- Stout, J.C.** (2007). Reproductive biology of the invasive exotic shrub, *Rhododendron ponticum* L. (Ericaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 155(3): 373-381.
- Stout, J.C., Morales, C.L.** (2009). Ecological impacts of invasive alien species on bees. *Apidologie*, 40: 388-409.
- Tasei, J.N., Aupinel, P.** (2008). Nutritive value of 15 single pollens and pollen mixes tested on larvae produced by bumblebee workers (*Bombus terrestris*, Hymenoptera: Apidae). *Apidologie*, 39(4): 397-409.
- Teper, D.** (2005). Comparison of food plants of *Bombus terrestris* L. and *Bombus lapidarius* L. based on pollen analysis of their pollen loads. *Journal of Apicultural Science*, 49(2): 43-50.
- Thompson, D.Q., Stuckey, R.L., Thompson, E.B.** (1987). Spread, impact, and control of purple loosestrife (*Lythrum salicaria*) in North American wetlands. *Fish and Wildlife Research 2*, 55pp.
- Thorp, R.W.** (2000). The collection of pollen by bees. *Plant Systematics and Evolution*, 222: 211-223.
- Traveset, A., Richardson, D.M.** (2006). Biological invasions as disruptors of plant reproductive mutualisms. *Trends in Ecology & Evolution*, 21: 208-216.
- Vanderplanck, M.** (2013). How does physiology interface with ecology? Dietetic constraint in host-plant choices of bees. Thèse de doctorat, UMONS, Zoologie.
- Vanderplanck, M., Moerman, R., Rasmont, P., Lognay, G., Wathelet, B., Wattiez, R., Michez, D.** (2014a). How does pollen chemistry impact development and feeding behaviour of polylectic bees? *PLoS ONE*, 9(1): e86209.
- Vanderplanck, M., Leroy, B., Wathelet, B., Wattiez, R., Michez, D.** (2014b). Standardized protocol to evaluate pollen polypeptides as bee food source. *Apidologie*, 45(2): 192-204.
- Vanderplanck, M., Vereecken, N.J., Lognay, G., Wathelet, B., Wattiez, R., Michez, D.** (*in prep.*). Evolution of host-plant choices in bees: the constraint hypothesis of chemical filters.

- Velthuis, H.H.W., Alves, D.A., Imperatriz-Fonseca, V., Duchateau, M.J.** (2002). Worker bees and the fate of their eggs. *Proceedings of the Section on Experimental and Applied Entomology of the Netherlands Entomological Society*, 13: 97-102.
- Vervoort, A., Cawoy, V., Jacquemart, A.L.** (2011). Comparative reproductive biology in co-occurring invasive and native Impatiens species. *International Journal of Plant Sciences*, 172(3): 366-377.
- Vilà, M., Bartomeus, I., Dietzsch, A.C., Petanidou, T., Steffan- Dewenter, I., Stout, J.C., Tscheulin, T.** (2009). Invasive plant integration into native plant-pollinator networks across Europe. *Proceedings of the Royal Society of London series B*, 276: 3887-3893.
- Wajnberg, E.** (2011). Introduction au Modèle Linéaire Généralisé (Generalized Linear Model ; GLM). UE7, Université de Nice-Sophia-Antipolis, Nice.
- Wang, W., Vignani, R., Scali, M., Cresti, M.** (2006). A universal and rapid protocol for protein extraction from recalcitrant plant tissues for proteomic analysis. *Electrophoresis*, 27: 2782-2786.
- Wagner, W.L., Herbst, D.R., Sohmer S.H.** (1999). Manual of the Flowering Plants of Hawai'i. University of Hawai'i Press and Bishop Museum Press, Honolulu, Hawai'i.
- Walther-Hellwig, K., Frankl, R.** (2000). Foraging habitats and foraging distances of bumblebees, *Bombus* spp. (Hymenoptera., Apidae), in an agricultural landscape. *Journal of Applied Entomology*, 124(7-8): 299-306.
- Waser, N.M.** (1983). The adaptive nature of flower traits: ideas and evidence. *Pollination Biology*, pp. 241-285.
- Waters, J.O.E., Darvill, B.E.N., Lye, G.C., Goulson, D.** (2011). Niche differentiation of a cryptic bumblebee complex in the Western Isles of Scotland. *Insect Conservation and Diversity*, 4(1): 46-52.
- Weiner, C.N., Hilpert, A., Werner, M., Linsenmair, K.E., Blüthgen, N.** (2010). Pollen amino acids and flower specialisation in solitary bees. *Apidologie*, 41(4): 476-487.
- Westerkamp, C.** (1996). Pollen in bee- flower relations: some considerations on melittophily. *Botanica Acta*, 109: 325-332.
- Westerkamp, C.** (1997). Flowers and bees are competitors-not partners. Towards a new understanding of complexity in specialised bee flowers. *Acta Horticulturae*, 437: 71-74.
- Westphal, C., Steffan-Dewenter, I., Tschardtke, T.** (2003). Mass flowering crops enhance pollinator densities at a landscape scale. *Ecology Letters*, 6(11): 961-965.

- Westphal, C., Steffan-Dewenter, I., Tschardt, T.** (2006). Bumblebees experience landscapes at different spatial scales: possible implications for coexistence. *Oecologia*, 149: 289-300.
- Williams, P.H.**, (1988). Habitat use by bumble bees (*Bombus* spp.). *Ecological Entomology*, 13: 223-237.
- Williams, P.H., Colla, S., Xie, Z.** (2009). Bumblebee vulnerability: common correlates of winners and losers across three continents. *Conservation Biology*, 23(4): 931-940.
- Williams, P.H., Osborne, J.L.** (2009). Bumblebee vulnerability and conservation world-wide. *Apidologie*, 40: 367-387.
- Wolf, S., Moritz, R.F.** (2008). Foraging distance in *Bombus terrestris* L. (Hymenoptera: Apidae). *Apidologie*, 39(4): 419-427.

## 8. Annexes

### 8.1. Annexe I : Liste des stations de prélèvement des espèces végétales étudiées.

Tableau 7 : Liste et détails des stations de prélèvement des espèces végétales.

Espèce végétale	Localité	Lieu-dit	Coordonnées	Altitude	Date
<i>Impatiens glandulifera</i>	B., Hainaut, Mons	Village des abeilles, UMons	50°27'50.20"N 3°57'20.68"E	34m	4/09/2013
<i>Trifolium pratense</i>	B., Hainaut, Ghlin	Zoning industriel Ghlin- Baudour	50°28'52.97"N 3°54'12.34"E	40m	5/09/2013
	B., Hainaut, Nimy	Grand large, Avenue de la Sapinette	50°28'01.46"N 3°56'43.34"E	30m	5/09/2013
<i>Lythrum salicaria</i>	B., Hainaut, Havré	Rond-point de la chaussée du Roeulx	50°27'41.97"N 4°00'58.76"E	72m	9/09/2013
	B., Hainaut, Jurbise, Erbisoeul	La Brûlotte	50°30'28.51"N 3°52'55.50"E	71m	9/09/2013
	B., Hainaut, Mons	Village des abeilles, UMons	50°27'55.24"N 3°57'26.17"E	35m	9/09/2013
<i>Calluna vulgaris</i>	B., Hainaut, Blaton	Grande Bruyère de Blaton	50°29'30.68"N 3°40'4.63"E	49m	11/09/2013
<i>Buddleja davidii</i>	B., Hainaut, Mons	Avenue des Bassins	50°27'32.11"N 3°56'32.62"E	30m	13/09/2013
	B., Hainaut, Quaregnon	Terril remanié le long de l'axiale boraine	50°25'38.08"N 3°52'14.61"E	64m	13/09/2013

### 8.2. Annexe II : Tableaux de données nutritives des pollens floraux et de pelotes.

Tableau 8 : Tableau résumant les teneurs en polypeptides et acides aminés des pollens floraux et des pelotes (<sup>1</sup>Vanderplanck *et al.* (2014c) ; <sup>2</sup>Vanderplanck *et al.* (*in prep.*)). Grâce aux coefficients de dilution (i.e. proportion nutritive florale -> proportion nutritive pelote), la proportion polypeptidique du pollen floral de *B. davidii* peut être corrigée. En outre, la proportion en acides aminés dans les pelotes provenant de *C. vulgaris* a été inférée via le même principe.

Espèce végétale	Pollen floral- teneur en:		Pollen de pelotes- teneur en:	
	acides aminés totaux (%)	polypeptides (%)	acides aminés totaux (%)	polypeptides (%)
<i>Trifolium pratense</i>	N.A	N.A	18,45 ± 2,66	3,98 ± 0,15
<i>Impatiens glandulifera</i>	25,3 ± 5,3	17,2 ± 0.73 <sup>1</sup>	14,93 ± 0,67	3,85 ± 0,39
<i>Buddleja davidii</i>	27,4 ± 1.98	2,04 ± 0.22*	15,17 ± 1,64	3,06 ± 0,4
<i>Calluna vulgaris</i>	29 ± 0.25 <sup>1</sup>	13,37 ± 0.93 <sup>2</sup>	5,21**	2,4 ± 0,18
<i>Lythrum salicaria</i>	31,52 ± 1.05 <sup>2</sup>	3,22 ± 0.13 <sup>2</sup>	14,4 ± 0,54	1,49 ± 0,14

\* Après correction du biais expérimental, taux revu à 5,53% de polypeptides

\*\* Inférée de la valeur florale par le coefficient de dilution

Tableau 9: Tableau résumant les teneurs en acides aminés dans les pollens floraux des espèces végétales considérées. Pour chacun des acides aminés sont reprises les concentrations en mg par gramme de pollen et les proportions totales (%). Les acides aminés essentiels ont été mis en évidence en rouge alors que l'aspartate, le glutamate et la proline (acides aminés non essentiels mais intéressants) sont suivis d'une « \* ».

Acides aminés	<i>L. salicaria</i>		<i>C. vulgaris</i>		<i>B. davidii</i>		<i>I. glandulifera</i>	
	mg/g	% AAT	mg/g	% AAT	mg/g	% AAT	mg/g	% AAT
Asp*	33,28	10,56	28,41	9,80	28,97	10,58	24,46	9,71
<b>Thr</b>	16,48	5,23	14,18	4,89	14,59	5,33	14,21	5,62
Ser	17,02	5,40	16,22	5,59	16,39	5,98	14,68	5,82
Glu*	43,01	13,64	33,63	11,60	35,80	13,08	29,65	11,76
Pro*	27,65	8,77	22,89	7,89	16,25	5,93	11,18	4,39
Gly	13,48	4,27	12,63	4,36	12,41	4,53	11,11	4,39
Ala	16,80	5,33	14,70	5,07	15,48	5,65	15,77	6,23
Cys	0,37	0,12	3,34	1,15	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>Val</b>	18,55	5,89	17,59	6,07	16,00	5,84	14,81	5,88
<b>Met</b>	1,57	0,50	8,57	2,95	0,00	0,00	7,81	3,07
<b>Ile</b>	15,19	4,82	13,85	4,78	14,79	5,40	13,49	5,33
<b>Leu</b>	24,90	7,90	22,40	7,73	22,31	8,15	20,38	8,07
Tyr	12,84	4,07	12,44	4,29	13,10	4,77	11,93	4,71
<b>Phe</b>	16,32	5,18	14,69	5,07	15,93	5,81	14,10	5,55
<b>His</b>	11,71	3,71	10,61	3,66	10,31	3,76	13,28	5,25
<b>Lys</b>	25,32	8,03	22,96	7,92	22,32	8,15	20,82	8,25
<b>Arg</b>	20,74	6,58	20,87	7,20	19,28	7,03	15,16	5,98
AA totaux	315,22		290,00		274,00		253,00	
AA essentiels	150,80	47,84	146,00	50,34	135,50	49,45	134,00	52,96

Tableau 10: Tableau résumant les teneurs en acides aminés dans les pelotes de pollen collectées par *B. terrestris* provenant des espèces végétales considérées. Pour chacun des acides aminés sont reprises les concentrations en mg par gramme de pollen et les proportions totales (%). Les acides aminés essentiels ont été mis en évidence en rouge alors que l'aspartate, le glutamate et la proline (acides aminés non essentiels mais intéressants) sont suivis d'une « \* ».

	<i>T. pratense</i>		<i>B. davidii</i>		<i>I. glandulifera</i>		<i>L. salicaria</i>	
Acides aminés	Concentrations en acides aminés							
	mg/g	% AAT	mg/g	% AAT	mg/g	% AAT	mg/g	% AAT
Asp*	17,65	9,59	18,13	11,96	16,85	11,29	14,93	10,37
<b>Thr</b>	8,81	4,77	7,54	4,97	8,40	5,63	6,78	4,71
Ser	9,58	5,19	9,14	6,03	8,94	5,99	8,12	5,64
Glu*	20,13	10,93	19,68	12,97	18,96	12,71	18,85	13,09
Pro*	28,97	15,73	7,73	5,08	6,24	4,18	13,94	9,67
Gly	7,14	3,87	6,57	4,33	6,32	4,23	6,05	4,20
Ala	8,97	4,87	7,60	5,00	8,64	5,80	7,10	4,93
Cys	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>Val</b>	10,65	5,78	10,07	6,65	9,61	6,44	9,06	6,30
<b>Met</b>	3,41	1,80	3,03	2,00	3,92	2,62	2,39	1,65
<b>Ile</b>	8,79	4,76	7,67	5,05	8,09	5,42	6,52	4,53
<b>Leu</b>	13,90	7,53	12,57	8,29	12,50	8,38	11,48	7,98
Tyr	7,42	4,01	6,27	4,13	4,66	3,08	5,26	3,65
<b>Phe</b>	9,06	4,90	7,44	4,90	7,90	5,29	7,60	5,28
<b>His</b>	5,89	3,19	5,26	3,46	7,99	5,36	4,86	3,37
<b>Lys</b>	14,51	7,87	13,68	9,03	12,98	8,70	12,17	8,45
<b>Arg</b>	9,62	5,21	9,34	6,15	7,32	4,88	8,91	6,19
AA totaux	184,50		151,71		149,31		144,00	
AA essentiels	84,63	45,81	76,60	50,50	78,70	52,71	69,78	48,45

### 8.3. Annexe III: Tableau de données concernant le nombre de voyages effectués.

Tableau 11: Tableau résumant le nombre de trajets ramenant du pollen ou non en fonction de l'espèce végétale.

Plante	Nombre de trajets ramenant du pollen	Nombre de trajets ne ramenant pas de pollen
<i>Buddleja davidii</i>	42	17
<i>Calluna vulgaris</i>	22	28
<i>Lythrum salicaria</i>	12	34
<i>Trifolium pratense</i>	15	28
<i>Impatiens glandulifera</i>	19	17

**8.5. Annexe IV** : Tableau de données utilisé dans la détermination de l'apport pollinique et nutritif.

Tableau 12: Tableau résumant l'apport pollinique et nutritif (i.e. polypeptides, acides aminés) pendant les 16 heures d'observations et ce, selon chaque espèce végétale.

Espèce végétale	Apport total en pollen (mg/16h)	Apport polypeptidique (mg/16h)	Apport en AAT (mg/16h)	Apport en AAE (mg/16h)
<i>Trifolium pratense</i>	308	12,26	56,83	26,03
<i>Buddleja davidii</i>	310	9,49	47,03	23,75
<i>Impatiens glandulifera</i>	170	6,55	25,38	13,43
<i>Calluna vulgaris</i>	142	3,41	7,38	3,72
<i>Lythrum salicaria</i>	138	2,06	19,87	9,66