

UNIVERSITÉ DE MONS
FACULTÉ DES SCIENCES
LABORATOIRE DE ZOOLOGIE

**Comparaison entre plantes herbacées et ligneuses
comme ressource de pollen pour les bourdons**

Promoteur

Prof. Denis Michez

Mémoire de fin d'études présenté par

Martin Vastrade

Master 2 en Biologie des Organismes et Écologie

Année académique 2016-2017

M. Vastrade, 2017. *Comparaison entre plantes herbacées et ligneuses comme ressource de pollen pour les bourdons.* Mémoire en Biologie des Organismes et Écologie. Université de Mons.

Les bourdons (genre *Bombus* Latreille, 1802) sont des pollinisateurs majeurs des zones tempérées. Ce sont des abeilles généralistes, c'est-à-dire qu'ils exploitent les ressources florales – pollen, nectar, etc. – d'un grand nombre d'espèces de plantes à fleurs, appartenant à de familles variées. Si certaines de ces espèces produisent du pollen de haute qualité pour les bourdons, d'autres ne devraient pas représenter une trop grande fraction de leur diète, car elles soutiennent mal leur développement. La qualité de la diète est donc un facteur crucial pour le maintien des populations de bourdons.

De nombreuses espèces de bourdons sont en nette régression partout dans le Monde. Ce déclin est dû à de nombreux facteurs, dont la plupart sont liés aux activités humaines. En Europe, la fragmentation des habitats, la simplification du paysage et le manque de ressources florales de qualité semblent être les principales causes de déclin des abeilles sauvages. Cependant, des études expérimentales en conditions contrôlées sont encore nécessaires pour confirmer la qualité des différentes diètes disponibles pour les bourdons.

Une mesure répandue pour atténuer ce syndrome de déclin est de promouvoir des ressources florales de qualité dans ces écosystèmes modifiés par les activités humaines. Alors que les prairies fleuries sont couramment conseillées, la plantation d'arbres pourrait être une alternative plus efficace. L'objet de ce travail est d'établir si certaines espèces ligneuses ne constitueraient pas aussi des ressources de qualité, à privilégier dans certains cas pour soutenir les communautés d'abeilles. Nous avons réalisé des élevages de *Bombus terrestris* nourris avec 18 diètes différentes, certaines issues d'espèces végétales herbacées et d'autres d'espèces ligneuses. Différents paramètres de développement ont été mesurés et calculés afin de quantifier l'impact de ces diètes sur la croissance des bourdons. En parallèle, des analyses de la composition chimique en acides aminés des pollens de ces 18 mêmes diètes ont été effectuées, afin d'étudier la variabilité de la qualité chimique chez ces espèces. Notre hypothèse est que les espèces ligneuses pourraient globalement mieux soutenir le développement de *Bombus terrestris*, et être plus riches en acides aminés que les espèces herbacées.

Toutes les espèces ligneuses testées (sauf *Cistus* sp.) ont permis un développement important des micro-colonies de *Bombus terrestris*, de même qu'une minorité des espèces herbacées étudiées dans ce travail. Les bourdons nourris avec du pollen d'espèce ligneuse ont produit significativement plus de descendance, en particulier au niveau des stades de croissance les plus avancés, révélant une dynamique de développement plus rapide. Pourtant, ces espèces ligneuses ne sont pas significativement plus riches en acides aminés que les espèces herbacées auxquelles elles ont été comparées, suggérant l'influence d'autres critères de qualité du pollen, tels que la composition en stérols, la présence de métabolites secondaires, ou la digestibilité du grain de pollen.

Ce travail indique que des espèces ligneuses devraient également être incluses dans les programmes de restauration des habitats, puisqu'elles représentent des ressources de qualité, et souvent produites en grande quantité. Leur complémentarité avec les espèces herbacées - souvent promues sous forme de prairies fleuries dans ce contexte de conservation des pollinisateurs - en termes d'exploitation des ressources par les bourdons est discutée, ainsi que les éventuelles restrictions les concernant en termes de gestion des espaces naturels.

Remerciements

J'aimerais en quelques mots exprimer ma gratitude à tous ceux et celles qui m'ont soutenu dans l'achèvement du présent travail de fin d'études.

Je remercie tout d'abord le Professeur Pierre Rasmont pour m'avoir intégré, durant cette année, à l'équipe du laboratoire de Zoologie. Je le remercie également pour m'avoir transmis de nombreuses notions à travers ses cours de Bachelier, qui n'ont fait que confirmer mon intérêt marqué pour la biologie, l'écologie et la zoologie. Sur ce dernier point, je voudrais également remercier tous les professeurs et assistants m'ayant donné cours ou encadré lors de ces cinq années d'étude à l'Université de Mons, quelles que soient leurs spécialités et les notions qu'ils m'ont apportées.

Je voudrais ensuite remercier le Professeur Denis Michez. Sa disponibilité, ses conseils théoriques et pratiques, son aide en toutes circonstances et ses relectures, son organisation et son expérience ont fait de lui un promoteur remarquable, autant pour le présent mémoire que pour les divers stages pour lesquels il fut mon encadrant. Je lui suis reconnaissant pour m'avoir fait découvrir d'autres laboratoires universitaires, en Wallonie, en Flandre et à l'étranger, ainsi que d'autres thématiques de recherche que celle du présent travail. Je le remercie également de m'avoir accordé sa confiance dans le cadre des travaux pratiques de botanique et d'écologie végétale, pour lesquels je fus élève-assistant durant ces deux années de Master.

Je remercie Romain Moerman pour ses conseils pratiques dans le cadre des élevages de bourdons. Un tout grand merci également au Docteur Maryse Vanderplanck pour son aide précieuse concernant le traitement de données, la mise en forme des résultats, et pour ses nombreux conseils et sa disponibilité. Merci à Dimitri Evrard pour son assistance technique. Remerciement amical aussi à tous les autres membres du laboratoire de Zoologie, à Maxence, Manu, Pilou, Baptiste, Nicolas, Morgane, Maxime, Sarah, Nathalie, et aussi à Aurélie. Vos amitiés les uns pour les autres et complicité de longue date contribuaient à mettre à bon escient une ambiance agréable dans le laboratoire. Les journées de travail au chaville puis au pentagone n'auraient pas été les mêmes sans vous.

Je ne peux parler d'amitié et de complicité sans évoquer mes chers camarades de promotion. Ces cinq années études m'ont permises de rencontrer des personnes extraordinaires, auxquelles je dois tant de délires et de rires entrecoupés aussi de conversations sérieuses non moins enrichissantes. Je remercie spécialement les autres mémorants du laboratoire de Zoologie, Justine, Ella, Adeline, Hélène et Julian, pour leur complicité sans faille notamment lors de l'élaboration de ce mémoire et lors du stage d'écologie montagnarde. Mais je n'oublie certainement pas les autres étudiants en biologie de mon année, et je les remercie bien fort. À Dorian, Amélie et Marina ; à Laurie-Anne, Coralie et Morgane ; à Guyliann, Yann et Laurence ; à Alice, Assena, Florian et bien d'autres. Je remercie également Florent, Amine et Johann. Si mes études à Mons se sont si bien déroulées, c'est en grande partie grâce à vous tous.

Je ne saurais clôturer cette section sans remercier mes parents, qui m'ont toujours poussé vers l'avant, encouragé à suivre et à vivre ma passion jusqu'au bout, et sans lesquels rien de tout ceci n'aurait été possible. Je remercie aussi mes sœurs et leurs conjoints respectifs. Si avoir une diète de qualité est important, avoir une famille de qualité l'est encore bien plus, et ce que vous m'apportez chaque jour dépasse de loin le contexte de ce mémoire. Un immense merci à vous.

Je remercie enfin mes rapporteurs et les membres du jury pour leur lecture de ce travail.

Table des matières

1. Introduction	5
1.1. Introduction générale.....	5
1.2. Les abeilles	5
1.2.1. Généralités.....	5
1.2.2. Cycle de vie et reproduction des bourdons.....	7
1.2.3. Services rendus par les abeilles	9
1.2.4. Le déclin des abeilles.....	11
1.2.4.1. Causes principales	11
1.2.4.2. Stratégies d'atténuation	18
1.3. Variabilité des ressources florales	21
1.3.1. Généralités sur l'interaction plantes-abeilles.....	21
1.3.2. Influence de l'origine des ressources.....	22
2. Objectifs	24
3. Matériel et méthodes	24
3.1. Modèles biologiques.....	24
3.1.1. Abeille généraliste	24
3.1.2. Ressources en pollen	25
3.2. Développement des micro-colonies	27
3.2.1. Dispositif expérimental	27
3.2.2. Paramètres d'étude	28
3.3. Composition chimique des pollens.....	28
3.4. Analyses statistiques.....	29
3.3.1. Développement des micro-colonies	29
3.3.2. Composition chimique des pollens.....	30
4. Résultats	31
4.1. Développement des micro-colonies	31
4.2. Composition chimique des pollens.....	37
5. Discussion	41
5.1. Développement des micro-colonies	41
5.2. Composition chimique des pollens.....	44
5.3. Implications en conservation des espèces	46
Conclusion.....	49
Perspectives	50
Références	51

1. Introduction

1.1. Introduction générale

La biodiversité caractérise la variabilité existant au sein des organismes vivants (Mayer 2006). Cette diversité biologique s'étend de la diversité génétique des espèces à la diversité des écosystèmes présents sur le Globe, et est à la base de nombreux services rendus par ces écosystèmes, desquels le bien-être humain dépend (Daily 1997; Costanza *et al.* 1997). La pollinisation est un de ces services, et les abeilles en constituent des agents majeurs ; c'est pourquoi leur déclin actuel soulève des questions cruciales de gestion environnementale (Roulston & Goodell 2011). Les bourdons sont couramment utilisés comme modèles pour l'étude des besoins alimentaires des abeilles. Ces espèces sociales sont dans pollinisateurs les plus efficaces, de par leur morphologie (Velthuis & Van Doorn 2006), leur comportement (Sapir *et al.* 2017) et leur habilité à exploiter les ressources dispensées par une très large gamme de plantes de familles différentes (Michener 2007; Kleijn *et al.* 2008; Somme *et al.* 2015). Les bourdons sont néanmoins sensibles à la qualité chimique de la diète utilisée pour leur développement, les ouvrières n'en modifiant pas la composition pour nourrir le couvain, comme c'est par exemple le cas de l'abeille mellifère (Pereboom 2000). Le présent travail explore les mesures de conservation à prendre pour préserver les bourdons, et tente de déterminer si promouvoir des rangées d'arbres comme ressource de pollen pour les abeilles ne serait pas encore plus profitable que les prairies fleuries.

1.2. Les abeilles

1.2.1. Généralités

Les abeilles appartiennent à la superfamille des Apoidea, de l'ordre des Hyménoptères. Celui-ci est un ordre majeur parmi les Hexapodes, avec plus de 150 000 espèces décrites dans le monde, et de nombreuses autres sans doute encore à découvrir (Michener 2007). La superfamille des Apoidea compte environ 25 000 espèces décrites (Danforth *et al.* 2013). On y distingue les Sphéciformes ou Sphégiens, appelés couramment guêpes fouisseuses, et les Apiformes ou Anthophila, les abeilles au sens large (Michener 2007). Ces dernières se distinguent de la plupart des autres Hyménoptères par leur régime strictement phytophage depuis l'éclosion jusqu'à la mort (Winfree *et al.* 2011). Les abeilles dépendent pour cela des ressources florales, le nectar comme source de sucres, et le pollen ayant remplacé les proies, insectes et araignées chassés par les espèces carnivores, comme source de protéines et de lipides

(O'Toole & Raw 1999 ; Michener 2007). Les Anthophiles sont réparties en 7 familles et 25 sous-familles (Danforth *et al.* 2013) (voir Figure 1).

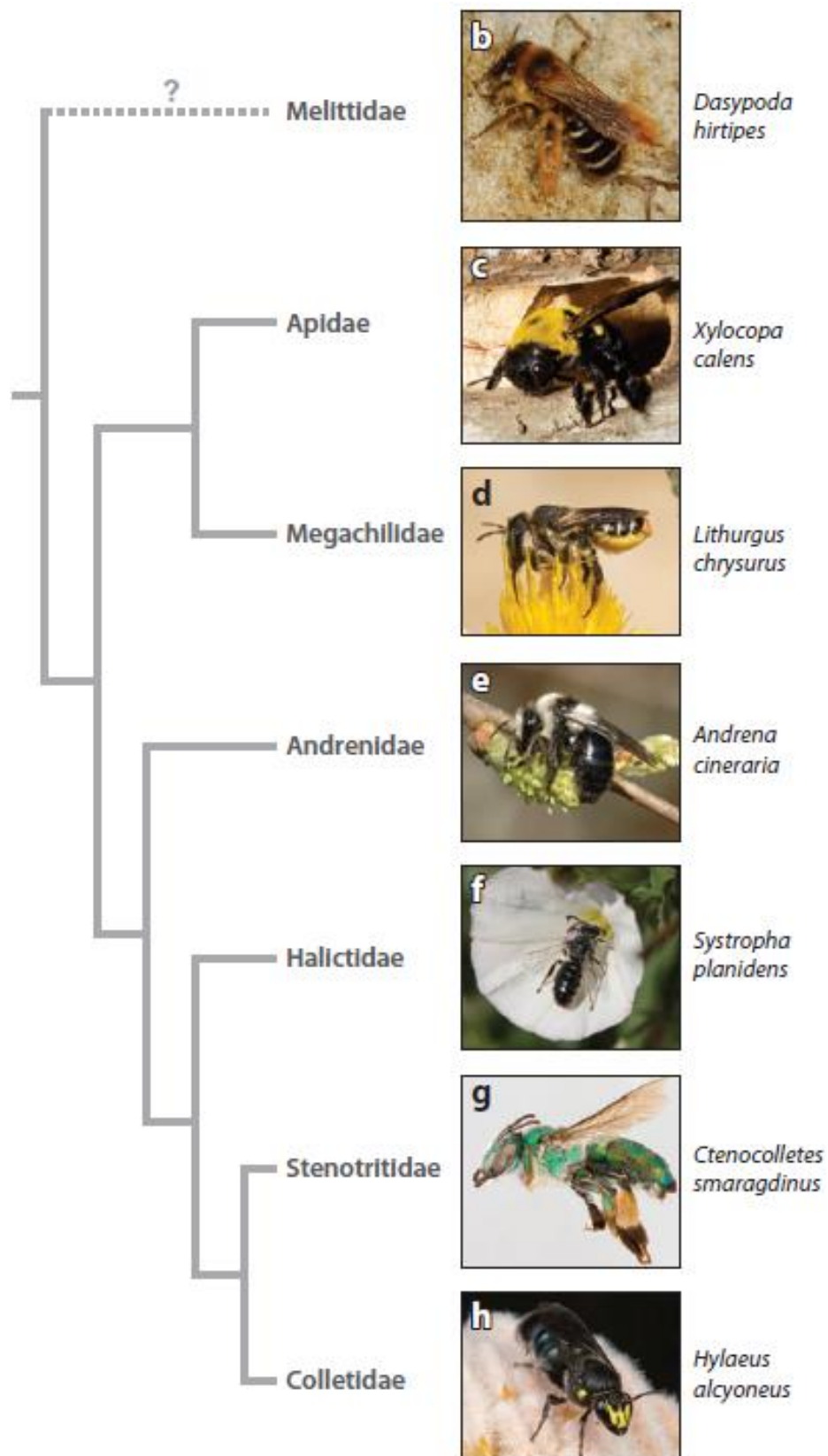


Figure 1 : phylogénie des Apiformes (d'après Danforth *et al.* 2013)

Les premières observations entomologiques concernant les Hyménoptères ont été faites sur *Apis mellifera*, l'abeille domestique (Michez 2007). Ses relations privilégiées avec l'Homme expliquent ce biais d'étude (Michez 2007), et cette espèce unique occulte encore aujourd'hui à elle seule l'idée que le grand public se fait des abeilles. Contrairement au genre *Apis*, la plupart des abeilles de nos régions n'établissent pas de colonies survivant aux rigueurs de l'hiver. La grande majorité des abeilles sont solitaires (Goulson 2010). Chaque femelle s'occupe donc de sa propre progéniture sans se soucier de celle des autres, et leurs comportements de nidification sont très proches de ceux des guêpes, à partir desquelles les abeilles auraient évolué (Goulson 2010). Souvent, ces abeilles meurent ou quittent le nid bien avant la fin de la croissance de leur descendance, ayant accumulé préalablement les réserves alimentaires nécessaires à leur développement (Michener 2007). Néanmoins, une minorité d'espèces – dites eusociales – s'organisent en colonies distinguant des véritables castes de générations différentes. Ces castes sont alors morphologiquement distinctes, et on en compte généralement trois : la reine, seule femelle en charge de la reproduction ; les ouvrières, femelles stériles en charge de la pollinisation, des soins du couvain, de la défense et de l'entretien du nid ; et les mâles, au rôle reproducteur éphémère (Michener 2007).

Sur le plan alimentaire, il existe deux stratégies extrêmes chez les pollinisateurs : le polylectisme et l'oligolectisme. Les espèces oligolectiques – dites « spécialistes » – n'exploitent que peu de taxa végétaux pour combler leurs besoins alimentaires (Biesmeijer *et al.* 2006) tandis que les espèces polylectiques – dites « généralistes » – tirent leurs ressources de plantes appartenant à plusieurs familles différentes (Müller & Kuhlmann 2008). Au sein de ces deux grandes tendances, des sous-catégories peuvent être décrites – par exemples, le monolectisme, l'oligolectisme stricte ou large, le polylectisme avec préférence, le mésolectisme et le polylectisme *s.l.* ou *s.s.* (Müller & Kuhlmann 2008) – mais ces séparations sont des vues de l'esprit, discutables et variables selon l'auteur et visant seulement à approcher, de manière synthétique et la plus fidèle possible, une réalité continue. L'oligolectisme était sans doute la stratégie de pollinisation initialement développée par les abeilles (Danforth *et al.* 2006).

1.2.2. Cycle de vie et reproduction des bourdons

Les bourdons sont des espèces eusociales primitives, ce qui signifie que les colonies ne survivent pas à la mauvaise saison, mais sont fondées chaque printemps à partir d'un individu solitaire (Ponchau *et al.* 2006).



Figure 2 : cycle de vie d'une colonie de bourdons (d'après Prys-Jones & Corbet, 1991)

La rencontre entre les reines vierges et les jeunes mâles est médiée par des phéromones (Djegham *et al.* 1994; Coppée *et al.* 2008). Les reines ainsi fécondées stockent les spermatozoïdes dans une spermathèque (Hamilton 1964), leur permettant de produire des œufs fécondés pendant toute la bonne saison. Chacune d'elles cherche un refuge, souvent un ancien terrier de rongeur, pour y passer l'hiver puis y élever sa progéniture au début du printemps. Dans un premier temps, la reine assure elle-même l'approvisionnement en ressources florales, nectar et pollen, pour élever ses premières larves jusqu'au stade adulte. Ces ouvrières prendront ensuite le relais des collectes et autres tâches du nid, la reine se contentant alors de produire des œufs de manière régulière. En fin de saison, les dernières larves étant nourries par un nombre maximal d'ouvrières reçoivent le plus de nourriture, et donneront des reines vierges. Lorsque la spermathèque de la reine est vide, celle-ci continue alors à pondre des œufs non-fécondés, haploïdes, qui se développent individus mâles par parthénogenèse (dite « arrhénotoque », car ne produisant que des mâles). Ici s'installe alors une phase de compétition : les ouvrières tentent leur ultime chance de se reproduire et d'élever leurs fils plutôt que leurs frères, avec qui leur parenté est moins élevée (Estoup *et al.* 1995; Beekman & van Stratum 1998). La reine va activement s'opposer à ce phénomène, notamment par oophagie et destruction précoce de cellules à œufs construites par les ouvrières. Mais lorsque le nombre d'ouvrières entrant en

reproduction devient trop élevé, la reine est alors incapable de toutes les contrôler. A ce stade-ci, le nid dégénère et la reine peut parfois être tuée. Les ouvrières arrivent en fin de vie, et seules les nouvelles reines fécondées accumuleront des ressources pour survivre à l'hiver (Prys-Jones & Corbet, 1991) (voir Figure 2).

1.2.3. Services rendus par les abeilles

Les relations existant entre l'espèce humaine et les abeilles peuvent être variées, mais sont souvent au bénéfice de l'Homme. Bien sûr, les abeilles sont connues pour pouvoir infliger une piqûre défensive douloureuse, avec injection de venin. Ce venin agit comme anticoagulant et peut provoquer une inflammation locale (Zolfagharian *et al.* 2015) ainsi que, chez certaines personnes, une réaction allergique (Hirata *et al.* 2016). Néanmoins, les apports des abeilles à l'Homme et aux écosystèmes sont souvent sous-évalués ou peu considérés par le grand public. Les écosystèmes eux-mêmes remplissent des fonctions qui assurent en partie le bien-être de l'Homme (Weiner 2016) (voir Figure 3).

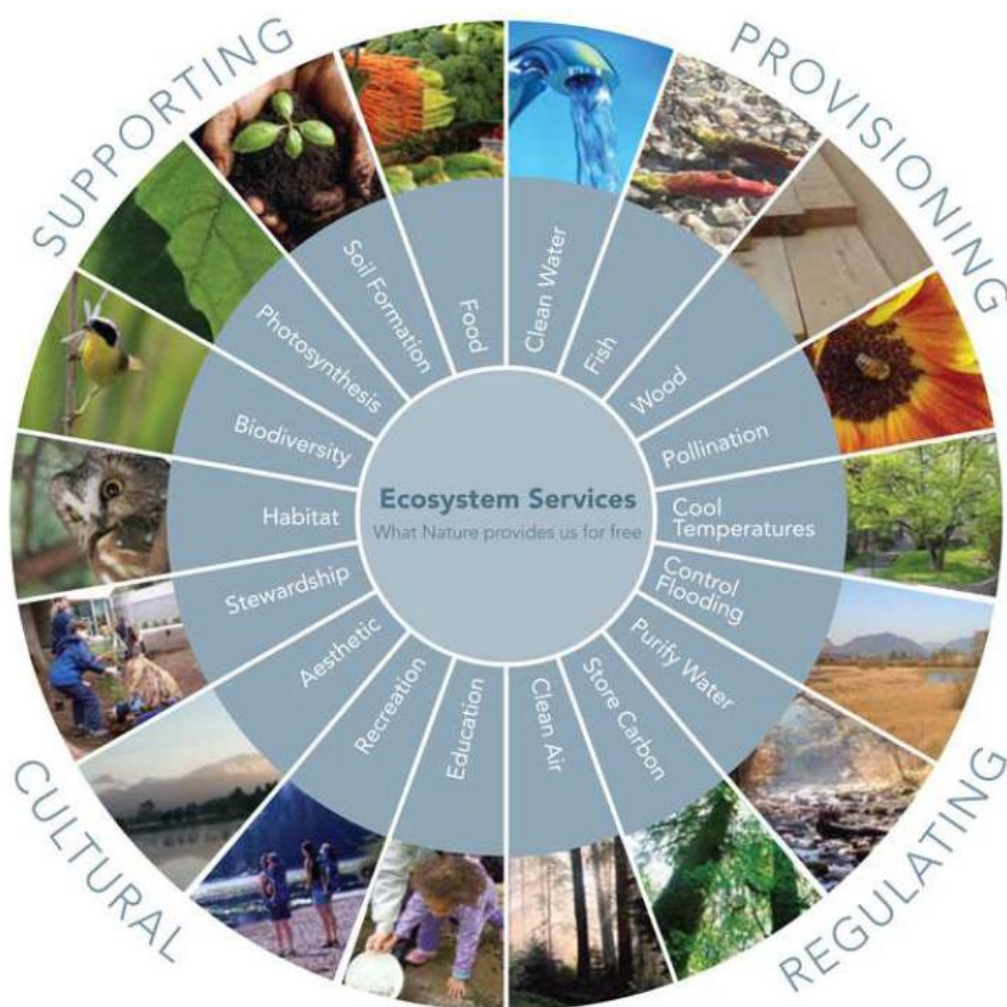


Figure 3 : vue d'ensemble des services rendus par les écosystèmes (d'après Weiner 2016).

La pollinisation fait partie de ces services rendus par la nature, et est basée sur des agents mobiles – en anglais *MABES*, *mobile agent-based ecosystem services* (Kremen *et al.* 2007). Les abeilles sont de ces agents. Parmi celles-ci, l'abeille mellifère *Apis mellifera* est la première à avoir été domestiquée par l'Homme. Les produits de la ruche sont maintenant répandus, et leurs bienfaits sont bien documentés (Habryka *et al.* 2016). Même le venin d'abeille peut servir à des fins médicales (Öztürk & Selçuk 2016). Mais ces denrées et matériaux n'ont qu'une valeur insignifiante comparée aux services de pollinisation rendus par les abeilles (Michener 2007), et pas seulement *Apis mellifera*. Au contraire, celle-ci est parfois considérée comme un pollinisateur de faible efficacité comparée aux espèces sauvages (Cane 1997; Garibaldi *et al.* 2013; Hausmann *et al.* 2016; Osman *et al.* 2016). De nombreuses espèces végétales dépendent des abeilles pour leur assurer une reproduction efficace (Biesmeijer *et al.* 2006; Potts *et al.* 2010). Et puisque de nombreuses espèces des autres règnes du vivant dépendent de ces espèces végétales pour subsister, ceci implique finalement une dépendance vis-à-vis des abeilles de la part de beaucoup d'organismes vivants, dont l'Homme fait assurément partie. Les plantes sont à la base des réseaux alimentaires de tous les écosystèmes terrestres, d'elles dépendent les espèces herbivores et certains décomposeurs, mais aussi les espèces carnivores et nécrophages se nourrissant de ces consommateurs primaires. De nombreux végétaux sont également des sources de matériaux, pour se cacher, se protéger, nidifier, etc. Certaines plantes jouent en outre un rôle dans la qualité du sol, en fixant de l'azote par exemple (Brünjes *et al.* 2016). L'importance de cette fraction d'espèces végétales dépendant partiellement ou totalement des pollinisateurs est donc énorme. En plus d'influencer considérablement l'allure du paysage et la structure de la plupart des écosystèmes terrestres, les abeilles représentent des pollinisateurs importants pour les cultures (Michener 2007; Klein *et al.* 2007; Potts *et al.* 2010; Ricketts *et al.* 2008; Calderone 2012). De ce point de vue, le sort des abeilles sauvages devrait nous préoccuper au moins autant que celui de l'abeille domestique (Cane 1997; Klein *et al.* 2007; Bosch *et al.* 2002; Breeze *et al.* 2011). Certains cas de baisses des récoltes peuvent être notamment associés à des diminutions de l'abondance des pollinisateurs (Allen-Wardell *et al.* 1998). De plus, le besoin en pollinisateurs des cultures se fait de plus en plus ressentir, du fait de l'augmentation rapide des surfaces cultivées (Aizen & Harder 2009). La valeur économique des pollinisateurs est également considérable (Lebuhn *et al.* 2012), les denrées en dépendant étant en moyenne plus coûteuses que les denrées pollinisées par le vent (Gallai *et al.* 2009), ces denrées constituant plus d'un tiers de l'alimentation humaine globale (Klein *et al.* 2007).

Puisque tous les pollinisateurs ne sont pas équivalents et peuvent être complémentaires à de nombreux niveaux, une plus grande richesse spécifique en pollinisateurs est susceptible d'augmenter l'efficacité de la pollinisation apportée, et donc d'améliorer le succès reproducteur de la flore (Fontaine *et al.* 2006; Blüthgen & Klein 2011; Albrecht *et al.* 2012).

1.2.4. Le déclin des abeilles

1.2.4.1. Causes principales

Parmi les abeilles, les cas de déclin les mieux connus car les plus étudiés sont ceux de l'abeilles domestiques (van Engelsdorp *et al.* 2008; Williams *et al.* 2010; Goulson *et al.* 2015) et des bourdons (Williams 1986; Rasmont & Mersch 1988; Goulson *et al.* 2005; Carvell *et al.* 2006; Kosior *et al.* 2007; Fitzpatrick *et al.* 2007; Hanley *et al.* 2008; Williams & Osborne 2009; Cameron *et al.* 2011; Kämper *et al.* 2016). Mais le cas des autres abeilles sauvages n'est pas plus enviable, comme le démontre un nombre croissant d'études à ce sujet (Foley *et al.* 2005; Steffan-Dewenter *et al.* 2005; Biesmeijer *et al.* 2006; Patiny *et al.* 2009; Potts *et al.* 2010; Jauker *et al.* 2013; Carvalheiro *et al.* 2013; Ollerton *et al.* 2014; Nieto *et al.* 2014; Barbir *et al.* 2015; De Palma *et al.* 2016; Hausmann *et al.* 2016) (voir Figure 4). Cependant, toutes les espèces ne montrent pas les mêmes tendances dans l'évolution de leurs populations. Assez logiquement, les pollinisateurs spécialistes sont souvent les plus vulnérables en cas d'extinctions végétales (Winfree *et al.* 2011; Leonhardt & Blüthgen 2012). Puisque les études menées concernaient le plus souvent des espèces généralistes, il se pourrait même que l'ampleur du déclin des abeilles ne soit sous-estimée (De Palma *et al.* 2016). Plusieurs facteurs sont maintenant reconnus pour affecter de manière globale la biodiversité en abeilles :

Altération de l'habitat et des ressources

Les modifications anthropiques du paysage ont souvent un impact négatif pour la faune et la flore locale (Czech *et al.* 2000; Foley *et al.* 2005). Elles peuvent se faire selon trois processus principaux : (1) l'intensification des pratiques agricoles ; (2) la fragmentation des habitats ; (3) l'urbanisation des paysages.

L'homogénéisation du paysage peut être considérée comme l'un des principaux facteurs de déclin des abeilles sauvages (Jauker *et al.* 2013). Les parcelles de terre consacrées à l'agriculture et au bétail peuvent être considérées comme autant de pertes en biodiversité végétale et en ressources alimentaires pour les abeilles. Nos monocultures réduisent considérablement l'espace exploitable par la flore sauvage, et donc les sources de pollen et de nectar qu'elles représentent pour tous les pollinisateurs (Kearns & Inouye 1997; Carvell *et al.* 2006; Carvalheiro *et al.* 2013).

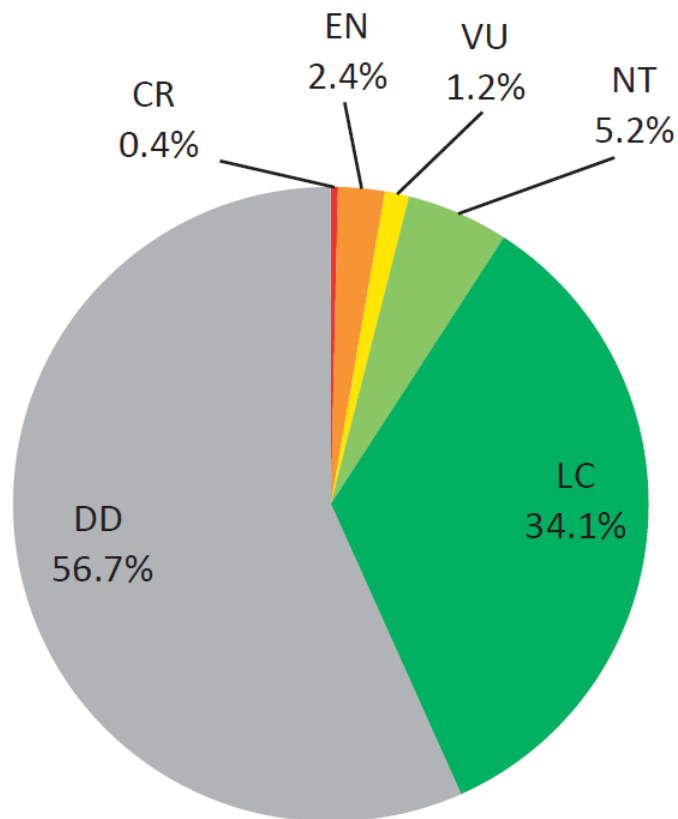


Figure 4 : statut IUCN des abeilles d'Europe (d'après Nieto *et al.* 2014)

Ces cultures elles-mêmes ne couvrent en aucun cas les besoins de tous les pollinisateurs sauvages, autant en terme de variabilité des ressources qu'en terme de qualité et de phénologie (Goulson *et al.* 2005; Nicolson & Human 2013; Williams *et al.* 2015). Dans certains cas, l'agriculture peut être favorable à l'expansion d'espèces liées aux denrées cultivées (López-Uribe *et al.* 2016) mais les exemples de ce type n'abondent pas. Dans d'autres cas, nos denrées sont profitables en apparence aux populations d'abeilles sauvages (Westphal *et al.* 2003), mais ont des effets secondaires néfastes pour les communautés sauvages de plantes et pollinisateurs (Diekötter *et al.* 2010). En outre, de nombreuses espèces d'abeilles nécessitent non pas un mais plusieurs types d'habitats précis pour survenir à leurs besoins vitaux (Jauker *et al.* 2013; Mallinger *et al.* 2016). Toute simplification de l'habitat représente donc une contrainte pour la biodiversité.

De l'agriculture intensive et de l'élevage résultent aussi une fragmentation de l'habitat. Cette isolation en petites populations de plus en plus difficilement liées entre elles réduit également le succès reproducteur des abeilles comme des plantes, dans ce qu'on appelle des « pièges écologiques ». Dans ces isolats, le risque d'extinction de chaque espèce augmente tandis que le taux d'immigration diminue (Jauker *et al.* 2013). Puisque le succès reproducteur des pollinisateurs dépend notamment du succès de leurs plantes associées et *vice-versa*, tout

phénomène défavorisant un seul des membres de cette symbiose réduit également l'aptitude des espèces lui étant liées, et ce phénomène délétère est ainsi auto-entretenu (Biesmeijer *et al.* 2006). En effet, les pollinisateurs évoluant dans un habitat fragmenté souffrent déjà d'une disparition de ressources alimentaires, et les plantes qui restent à leur disposition voient également leur succès reproducteur diminuer, pour la même cause d'une part, et de par cette conséquence d'autre part. Les plantes entomophiles présentes en habitats fragmentés bénéficient d'un taux de visite par des pollinisateurs trois fois moindre qu'en habitat continu, non seulement parce que les populations d'insectes anthophiles sont plus petites et moins diversifiées (Kearns & Inouye 1997), mais en plus parce que celles-ci se concentrent plus facilement sur les ressources florales les plus abondantes, et seraient susceptibles de négliger partiellement les petites populations de plantes (Mayer *et al.* 2012; Harrison & Winfree 2015).

Le troisième grand processus artificiel de modification des paysages est l'urbanisation. Ce processus est en expansion mondialement (Matteson & Langellotto 2010) et a un impact varié sur les communautés de pollinisateurs, dépendant principalement de l'intensité de l'urbanisation, de la stratégie alimentaire (généraliste ou spécialiste), des méthodes de nidification, et du groupe taxonomique considéré (Zanette *et al.* 2005; McKinney 2008; Somme *et al.* 2016). L'urbanisation est une des modifications humaines les plus durables et irréversibles (McKinney 2002) et est également une cause d'homogénéisation du paysage (McKinney 2006). De nombreuses études ont mis en évidence une diminution de la diversité et de l'abondance des pollinisateurs face à un gradient croissant d'urbanisation (McIntyre & Hostetler 2001; Eremeeva & Sushchev 2005; Zanette *et al.* 2005; Ahrné *et al.* 2009; Hernandez *et al.* 2009; Bates *et al.* 2011; Tonietto *et al.* 2011; Wojcik & McBride 2012; Hausmann *et al.* 2016). Cette régression est due dans beaucoup de cas à la réduction des ressources florales au profil des bâtiments, constructions et surfaces couvertes, telles les routes (McKinney 2002; Zanette *et al.* 2005; Matteson & Langellotto 2010; Wojcik & McBride 2012). Mais ce phénomène n'est pas absolu et ne concerne pas toutes les espèces. Si les conditions locales sont favorables, les villes peuvent dans certains cas soutenir des communautés de pollinisateurs (Bates *et al.* 2011). La richesse spécifique (*i.e.*, le nombre d'espèces) peut dans certains cas être supérieure en milieu urbain par rapport à un milieu agricole (Baldock *et al.* 2015) ou forestier (Winfree *et al.* 2007). Dans une ville en Angleterre, une diversité et abondance supérieure à ce que l'on retrouve dans une réserve naturelle à proximité a été répertoriée, avec la présence d'une espèce rare en ville (Sirohi *et al.* 2015). La présence de ces communautés en villes est souvent attribuée à la présence de ressources locales, dispensées notamment par les jardins et les parcs (Goulson *et*

al. 2002; Wojcik & McBride 2012; Baldock *et al.* 2015). Certains arbres d'ornements, souvent très nombreux en villes, représentent également d'abondantes ressources pour les abeilles (Hausmann *et al.* 2016; Somme *et al.* 2016). Le processus d'urbanisation, s'il impacte le développement de certaines espèces, est néanmoins compatible avec le mode de vie de plusieurs pollinisateurs, souvent les espèces généralistes (Hernandez *et al.* 2009; Baldock *et al.* 2015).

Utilisation de pesticides et de fertilisants

A la réduction des ressources florales en termes d'abondance, de diversité et de qualité, vient s'ajouter un problème de nature chimique : les pesticides. Même si des problèmes locaux suite à l'utilisation de pesticides avaient déjà été répertoriés auparavant, ce n'est un problème global que depuis l'après-guerre, où leur utilisation a augmenté considérablement (Kearns & Inouye 1997). Les substances chimiques toxiques utilisées pour enrayer la prolifération d'espèces animales ou végétales jugées nuisibles ou indésirables n'impactent pas seulement les espèces visées. Ils infligent aussi des dommages aux populations d'espèces neutres voire auxiliaires de l'Homme, tels que les pollinisateurs. L'utilisation croissante d'insecticides dans les cultures est aujourd'hui reconnue comme étant un des facteurs majeurs de déclin des abeilles sauvages et domestiques (Danner *et al.* 2014). Ces substances interviennent dès le début de la croissance des plantes, et se retrouvent finalement dans toutes les parties de la plante, y compris le nectar et le pollen que consomment les abeilles (Godfray *et al.* 2014). Au-delà de la consommation directe, les voies d'exposition aux pesticides sont multiples pour les abeilles (Krupke *et al.* 2012 ; Godfray *et al.* 2014). En plus de la mortalité directe, ces toxines impactent fortement le développement (Pettis *et al.* 2004), affaiblissent encore les défenses immunologiques des abeilles face aux pathogènes (Pettis *et al.* 2012; Pettis *et al.* 2013) et perturbent les voies de communication des espèces eusociales (Kearns & Inouye 1997) ainsi que les relations plantes-pollinisateurs (Gill & Raine 2014; Stanley *et al.* 2016). Ces substances délétères peuvent même interagir, l'une augmentant la toxicité de l'autre (Pilling & Jepson 1993; Goulson *et al.* 2015) (voir Figure 5). Les herbicides utilisés détruisent également les plantes sauvages dont dépendent les abeilles, contribuant là encore à leur déclin (Biesmeijer *et al.* 2006).

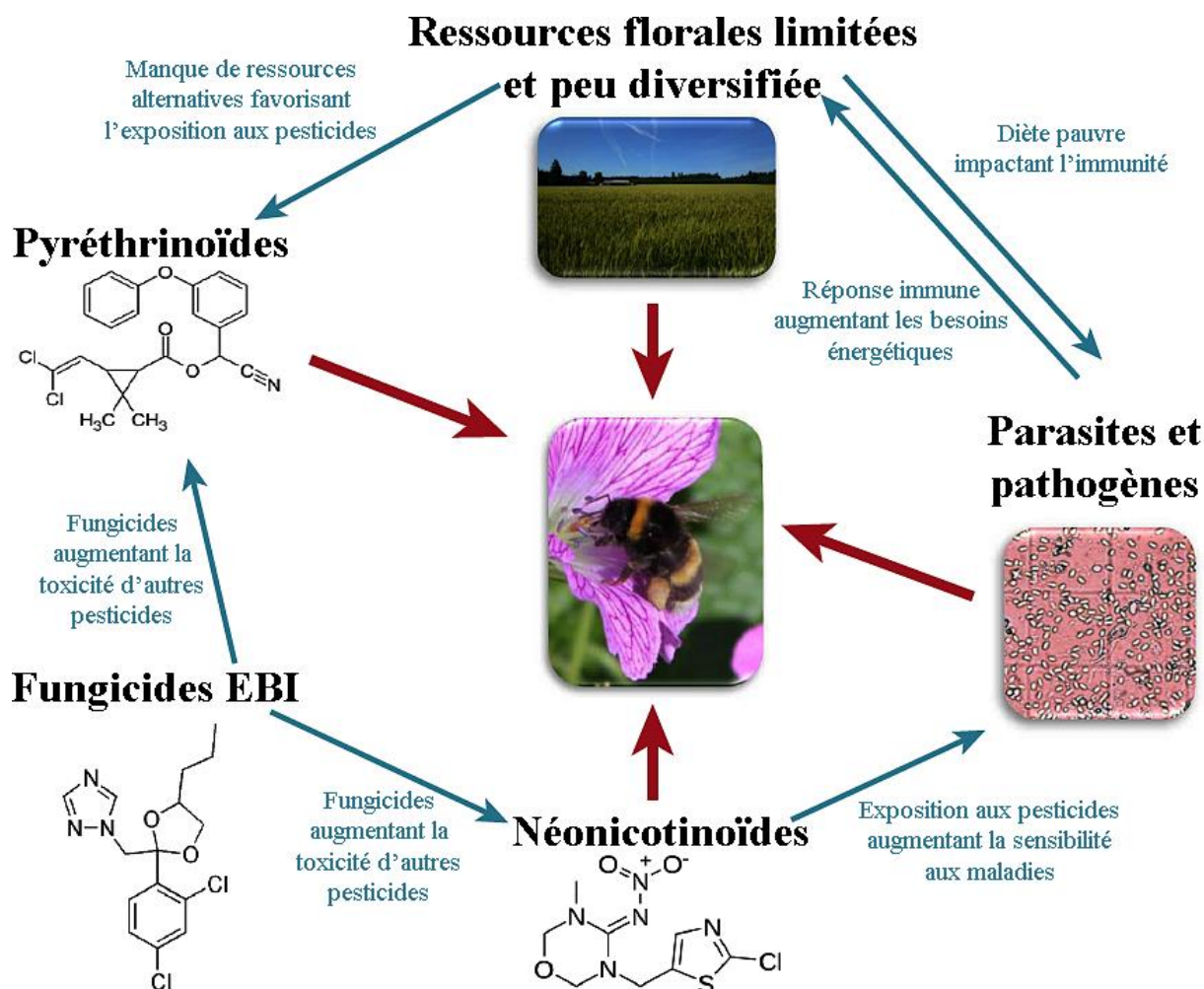


Figure 5 : impact des pesticides à plusieurs niveaux (d'après Goulson et al. 2015)

Par ailleurs, l'utilisation grandissante de fertilisants permet aux espèces végétales à croissance rapide de surpasser les espèces à croissance lente, réduisant la diversité botanique (Goulson 2010). Un enrichissement en azote du sol peut aussi favoriser des plantes anémophiles – telles les Poaceae ou les orties –, impactant négativement les interactions plantes-pollinisateurs (Harrison & Winfree 2015). Ces fertilisants ont en outre remplacé l'utilisation de rotation des cultures avec des Fabaceae bénéfiques aux bourdons (Goulson 2010). L'abandon de ces cultures de légumineuses et la perte en diversité florale sont les facteurs de déclin majeurs des espèces de bourdons de Belgique (Rasmont & Mersch 1988).

Introduction d'espèces invasives, parasites ou compétitives

Un autre aspect de l'influence de l'Homme sur l'environnement réside dans l'introduction, volontaires ou non, d'espèces non natives dans un écosystème donné. Dans de nombreux pays, la présence d'*Apis mellifera* – introduite dans le cadre de la pollinisation des cultures – représente une concurrence rude pour les espèces sauvages (O'Toole & Raw 1999; Michener 2007; Bosch et al. 2002; Barbir et al. 2015). Une seule colonie d'abeilles domestiques collecte

autant de pollen en trois mois qu'il n'en faudrait pour nourrir environ 110 000 fois la progéniture d'une abeille solitaire de taille moyenne (Cane & Tepedino 2016). Outre la concurrence directe pour les ressources florales, d'autres facteurs de déclin des abeilles sauvages sont favorisés par la présence d'abeilles mellifères (Cane & Tepedino 2016), telle que la transmission de pathogènes véhiculés par les espèces domestiques aux espèces sauvages. La propagation de ces pathogènes est hautement favorisée par les espèces d'élevage envoyées partout dans le monde pour la pollinisation des cultures (Fürst *et al.* 2014; Harrison & Winfree 2015), d'autant plus que les espèces de bourdons sont élevées avec du pollen collecté par *Apis mellifera*, augmentant encore les risques de transferts de parasites (Goulson *et al.* 2015). Une autre espèce invasive commence également à se faire connaître en Asie et en Amérique du Sud, parfois au même titre qu'*Apis mellifera* : il s'agit de *Bombus terrestris* (Esterio *et al.* 2013; Goulson & Hughes 2015; Harrison & Winfree 2015). L'impact de cette espèce sur la faune sauvage est augmenté du fait qu'elle passe plus de temps sur les plantes sauvages aux alentours que sur les cultures pour lesquelles elle est importée (Foulis & Goulson 2014). Il est néanmoins intéressant de noter qu'en dépit de leur mauvaise influence sur les communautés d'abeilles natives, ces pollinisateurs introduits peuvent aussi être bénéfiques : en tant que pollinisateurs très généralistes, ils apportent des services de pollinisation non-négligeables aux écosystèmes, et peuvent contribuer à la reproduction de plantes natives dont les pollinisateurs habituels sont en déclin (Harrison et Winfree 2015). Toutefois, cet apport peut être limité dans certains cas, où l'espèce introduite n'a pas les adaptations morphologiques ou éthologiques requises pour une pollinisation efficace, et où l'envahisseur est peu utile comparé aux espèces natives (Cane 1997; Michener 2007; Esterio *et al.* 2013; Garibaldi *et al.* 2013; Osman *et al.* 2016).

Au niveau végétal, les plantes d'ornement et les plantes cultivées peuvent également être considérées comme des espèces compétitives dans le cadre des relations plantes-abeilles. Ces espèces peuvent favoriser certaines abeilles sauvages (principalement les espèces généralistes), en leur fournissant des ressources alimentaires profitables (Kleijn *et al.* 2008) ; mais c'est sans compter l'impact négatif qu'elles peuvent avoir sur le succès reproducteur des plantes entomophiles natives, dont les abeilles sauvages dépendent toujours (Harrison & Winfree 2015). Typiquement, les espèces ornementales sont sélectionnées par l'Homme pour avoir de belles fleurs, grandes et bien visibles, et avec une longue période de floraison ; ces traits les rendent très attractives pour les pollinisateurs, qui risquent alors de s'affranchir des fleurs natives, précipitant leur déclin (Potts *et al.* 2010). De plus, on note que la présence de fleurs particulièrement attractives, comme le sont certaines plantes d'ornement, n'augmente pas

forcément la biodiversité, mais a seulement une influence sur le taux de visite du pollinisateur (Ebeling *et al.* 2008).

Changements climatiques

Alors que les preuves d'un réchauffement climatique global sont avérées et renseignées auprès du grand public, d'autres changements sont observables, telle qu'une augmentation des événements climatiques extrêmes : canicules et températures inhabituelles, précipitations intenses, tempêtes, etc. (Easterling *et al.* 2000). Ces modifications du climat peuvent agir de différentes manières sur les communautés d'abeilles. Que ce soit une mortalité directe des abeilles, une mortalité de certaines espèces de plantes, un décalage de phénologie entre plantes et pollinisateurs, les impacts envisageables sont nombreux (Memmott *et al.* 2010 ; Harrison & Winfree 2015). Ces contraintes sont susceptibles d'agir à tous les niveaux, de l'individu à la communauté d'espèces (Potts *et al.* 2010). Le cas des bourdons a été étudié en profondeur : ceux-ci étant généralement adaptés au froid, un réchauffement global les impacte particulièrement (Rasmont *et al.* 2015). Les aires de répartition de nombreuses espèces risquent de se trouver modifiées suite à un réchauffement global, que ce soit en latitude ou en altitude, et ce indépendamment des autres facteurs de déclin agissant sur les bourdons (Kerr *et al.* 2015).

Synergies entre stress

Pour conclure, il est évident qu'aucun de ces facteurs de déclin n'agit seul. Des interactions existent bel et bien entre ces différents stress, les espèces pouvant être affaiblies par l'un et achevées par un autre (Vanbergen *et al.* 2013) (voir Figure 6). Les exemples dans ce sens ne manquent pas, notamment sur les actions conjuguée d'un parasite avec un pathogène (van Engelsdorp & Meixner 2010; Nazzi *et al.* 2012), d'un pathogène avec une exposition à des doses sub-létales d'un insecticide (Cédric Alaux *et al.* 2010; Pettis *et al.* 2012; Pettis *et al.* 2013; Goulson & Hughes 2015), combinés avec un manque de ressources florales (Goulson *et al.* 2015). Sur le plan alimentaire, une infection parasitaire augmente certains besoins spécifiques, tandis qu'une pauvre alimentation augmente la sensibilité des abeilles aux parasites (Mayack & Naug 2009; Alaux *et al.* 2010; Vanbergen *et al.* 2013). De plus, ces stress peuvent aussi agir avec des stress naturels du milieu, comme l'hivernage par exemple (Amdam *et al.* 2004). Les facteurs de déclin peuvent même interagir entre eux ; par exemple l'urbanisation et les pratiques agricoles modernes peuvent localement influencer les changements climatiques (Karl & Trenberth 2003). De même, des changements climatiques peuvent modifier la zone de répartition de certains compétiteurs ou parasites, et les mener à rencontrer des espèces qui ne souffraient pas cette compétition ou maladie auparavant (Le Conte & Navajas 2008). La

fragmentation de l'habitat serait également susceptible d'aggraver les conséquences du changement climatique, si les espèces ne savent pas migrer correctement vers des zones plus propices (Vanbergen *et al.* 2013). Le déclin des abeilles ne peut donc pas être attribué à un unique facteur. Mais si les études sur la régression des populations peuvent – et doivent – considérer plusieurs facteurs de déclin en même temps, les mesures environnementales à prendre pour atténuer cette régression ne s'adressent généralement qu'à un seul facteur spécifique à la fois.

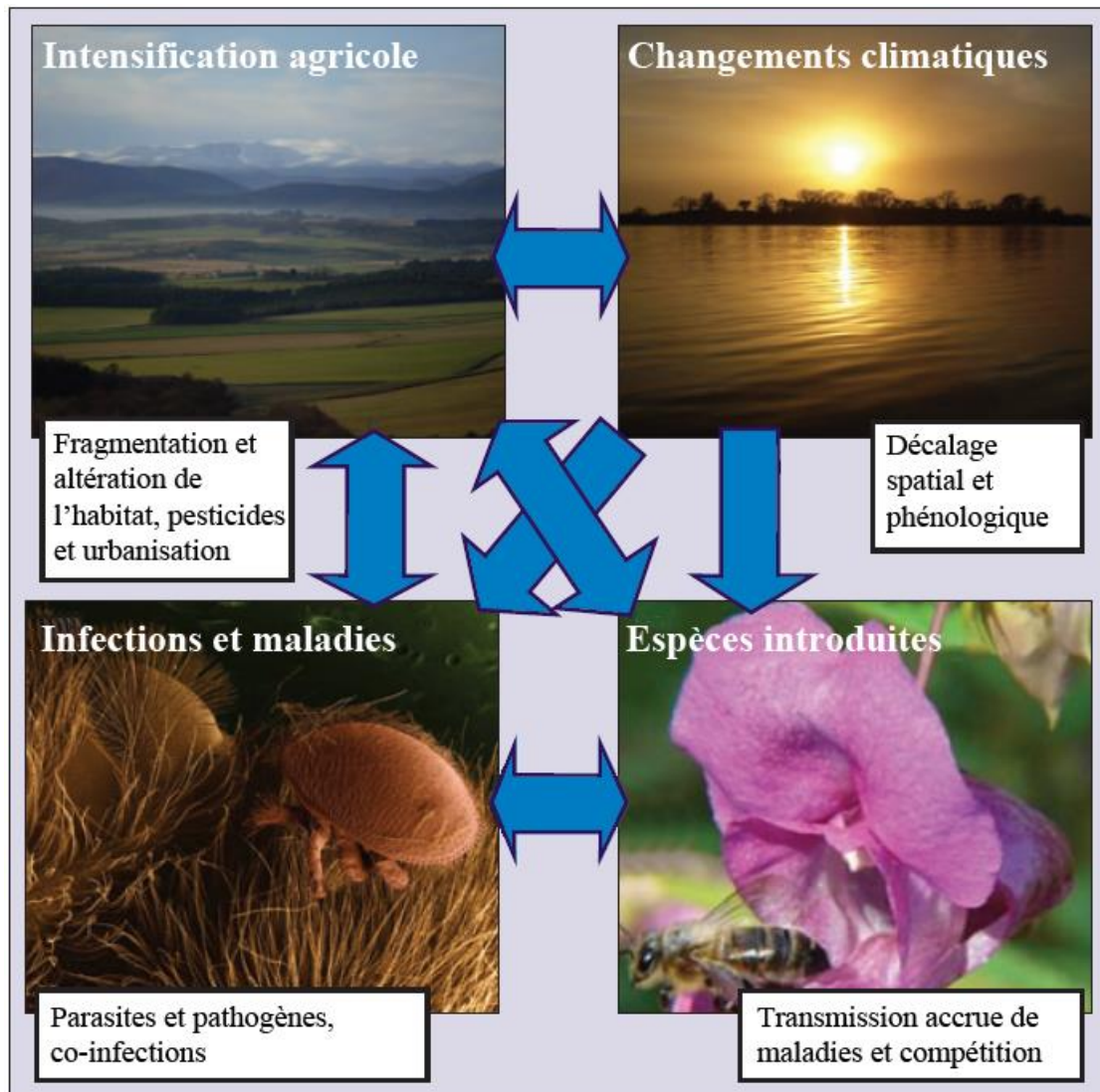


Figure 6 : interactions entre les principaux facteurs de déclin des bourdons (d'après Vanbergen *et al.* 2013)

1.2.4.2. Stratégies d'atténuation

Diverses mesures peuvent être prises pour promouvoir la diversité et l'abondance des abeilles, notamment en privilégiant les ressources alimentaires et les sites de nidifications. Certains résultats évaluant l'efficacité globale des mesures de conservation prises durant ces dernières décennies sont encourageants, et incitent à continuer dans ce sens (Kleijn & Sutherland 2003;

Carvalho *et al.* 2013). Du point de vue agronomique, de nombreuses mesures dans les champs ou en bordure de ceux-ci seraient susceptibles d'améliorer et de stabiliser les rendements des cultures en privilégiant les pollinisateurs sauvages (Garibaldi *et al.* 2014), générant un retour sur l'investissement (voir Figure 7). Il faut toutefois souligner que dans la plupart des cas, ces mesures permettent surtout de privilégier des espèces généralistes et communes, qui subsistent de toute façon en milieux perturbés (Kleijn *et al.* 2015). Dans certains cas, l'aménagement de haies à proximité des champs peut favoriser la présence d'espèces d'abeilles rares en milieux agricoles (Hannon & Sisk 2009; Morandin & Kremen 2013) mais ceci ne fait pas une généralité. Les mesures à prendre pour préserver les espèces en déclin devraient donc être plus ciblées et spécifiques que les mesures prises pour favoriser la présence d'espèces généralistes servant à restaurer les services écosystémiques (Kleijn *et al.* 2015; Senapathi *et al.* 2015).

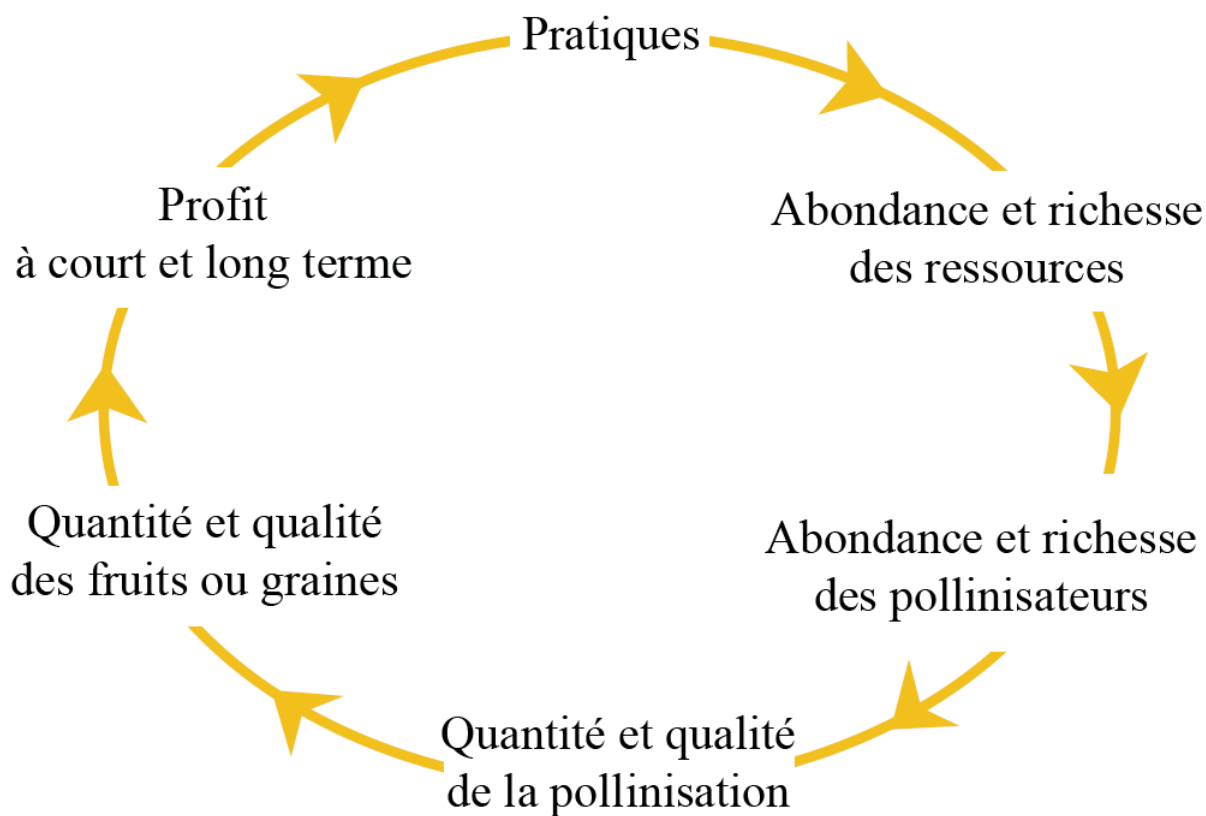


Figure 7 : cycle de génération de profit suite aux pratiques environnementales (d'après Garibaldi *et al.* 2014)

Les communautés d'abeilles nécessitent souvent une matrice paysagère hétérogène pour subsister ; leurs divers besoins alimentaires et reproducteurs sont souvent comblés par divers éléments de leur écosystème, présent dans des types d'habitats distincts (Jauker *et al.* 2013). Cette matrice complexe peut être construite à partir d'habitats semi-naturels aux alentours des

habitats naturels abritant des populations d'abeilles, et certaines installations humaines telles que les parcs, les jardins, les plantes d'ornements et certaines cultures fleuries pourraient soutenir ces communautés (Westphal *et al.* 2003; Winfree *et al.* 2007; Jauker *et al.* 2013; Hülsmann *et al.* 2015). Une des stratégies d'atténuation les plus efficaces dans l'immédiat est sans doute de privilégier la présence de ressources florales adaptées à un maximum d'espèces (Isaacs *et al.* 2009). L'aménagement de ces ressources à proximité de cultures à pollinisation entomophile permet également d'améliorer la reproduction des espèces concernées, et donc d'augmenter le rendement agricole (Blaauw & Isaacs 2014; Garibaldi *et al.* 2014). Idéalement, ces ressources doivent être adaptées aux besoins des pollinisateurs, elles doivent être attractives et facile à aménager (Barbir *et al.* 2015). De nombreux auteurs (Fitzpatrick *et al.* 2007 et références citées) soutiendraient la mise en place de prairies riches en Fabaceae à proximité des populations subsistantes d'abeilles sauvages, avec des aménagements particuliers pour subvenir aux besoins des espèces tardives. Mais le rôle d'autres familles végétales au sein d'une prairie fleurie n'est pas à négliger, les légumineuses n'étant pas les seules visitées (Foulis & Goulson 2014; Kriesell *et al.* 2016; Liolios *et al.* 2015). L'hétérogénéité spatiale et la richesse spécifique des plantes à fleurs sont des facteurs influençant positivement la biodiversité en pollinisateurs et la stabilité de leurs communautés (Ebeling *et al.* 2008). Certaines études plus récentes montrent aussi l'importance des arbres comme ressources pour les abeilles sauvages, notamment les bourdons (Dubois 2015; Hausmann *et al.* 2016; Kämper *et al.* 2016; Somme *et al.* 2016). Des plantations d'arbres en milieux urbains soutiendraient les populations d'abeilles sauvages qui y sont présentes (Hausmann *et al.* 2016). Ces plantations permettraient aussi d'aménager des zones de sol nu, sans construction ni tarmac, fournissant des zones de nidifications aux espèces fouisseuses, un facteur limitant pour ces espèces en ville (Hausmann *et al.* 2016 et références citées). Mais il serait également possible d'envisager des plantations d'arbres en campagnes, aux abords des champs et autres, et des semis de prairies fleuries en ville, en fonction des besoins spécifiques des espèces présentes dans chaque site. Une autre difficulté serait de fournir des ressources profitables pour les espèces oligolectiques, qui composent environ 30% des espèces d'abeilles (Hausmann *et al.* 2016). Cette mesure consistant à multiplier les ressources alimentaires disponibles semble donc simple en apparence, mais elle nécessiterait assurément une meilleure compréhension des besoins des abeilles sauvages pour une efficacité optimale de leur conservation (Isaacs *et al.* 2009). L'acquisition de données expérimentales supplémentaires est indispensable pour cerner au mieux ces besoins, tant en termes de qualité que de quantité des ressources.



Figure 8 : exemple de bande fleurie en bordure de champ, utile en conservation des pollinisateurs (Goulson et al. 2015).

1.3. Variabilité des ressources florales

1.3.1. Généralités sur l'interaction plantes-abeilles

L'étroite relation existant entre les abeilles et leurs plantes hôtes a un rôle capital pour la survie et le succès reproducteur des deux parties. L'incroyable abondance spécifique de chacun des deux clades, les Angiospermes d'une part et les Insectes d'autre part, est souvent vue comme une conséquence des interactions plantes-insectes (Anderson 2012). Pour les plantes, la pollinisation par les insectes (entomophilie) est nettement moins hasardeuse que la pollinisation par le vent (anémophilie), puisque le vecteur cible les fleurs. La pollinisation entomophile pourrait bien être un caractère ancestral : les adaptations qui en découlent ne seraient pas forcément toutes des caractères ancestraux, ou plésiomorphies, mais elles seraient apparues assez tôt dans l'expansion des Angiospermes, alors que la pollinisation anémophile se serait développée plus tardivement, au Crétacé Moyen (Taylor & Hu 2010). Pour les insectes, les ressources florales représentent une alimentation complète, facilement accessible et potentiellement abondante. Chaque partie a développé les adaptations nécessaires pour profiter des services offerts par l'autre, même cela doit se faire au détriment de l'autre.

De toute évidence, les pollinisateurs n'assurent pas intentionnellement la pollinisation des fleurs qu'ils visitent (Darwin 1876 ; Chittka & Thomson 2004). Ces visites ont lieu dans leur intérêt, en quête de nourriture ou d'un partenaire, et la pollinisation n'est qu'une simple

conséquence de ces comportements, qui n'est bien sûr pas due au hasard mais bien favorisée au maximum par la plante. Outre la morphologie florale, la composition du pollen peut elle-même représenter un facteur de sélection des pollinisateurs les plus efficaces.

1.3.2. Influence de l'origine des ressources

Les deux ressources florales principales dont dépendent les abeilles sont le pollen (Figure 9), pour les protéines et les lipides ; et le nectar, pour les glucides et en tant que source d'énergie principale (Beekman *et al.* 2015). Le développement des abeilles est sérieusement influencé par la qualité du pollen qu'elles consomment (Ribeiro *et al.* 1996; Génissel *et al.* 2002; Di Pasquale 2014) et plus particulièrement par la composition chimique de leur diète (Vanderplanck, Moerman, *et al.* 2014; Loper & Cohen 1987). Celle-ci varie grandement selon l'espèce considérée (Roulston *et al.* 2000; Roulston & Cane 2000; Rasmont *et al.* 2005; Somerville & Nicol 2006; Hanley *et al.* 2008; Vanderplanck, Moerman, *et al.* 2014) et même si des espèces apparentées ont des pollens à profils chimiques similaires, la composition n'est pas forcément déterminée par la phylogénie, ni par les interactions plantes-insectes (Roulston *et al.* 2000).



Figure 9 : pollen sous forme de pelotes, comme il est collecté par les abeilles (d'après Di Pasquale 2014 ; échelle=1mm)

Alors que les abeilles domestiques semblent incapables d'associer un indice de qualité du pollen aux espèces florales (Beekman *et al.* 2015), d'autres espèces polylectiques telles les bourdons semblent ajuster leurs choix floraux en fonction du contenu en protéines (Hanley *et al.* 2008; Leonhardt & Blüthgen 2012; Vanderplanck, Moerman, *et al.* 2014; Vaudo *et al.* 2016). Le

contenu du pollen en lipides est également un facteur déterminant et plus exactement le ratio protéines/lipides semble être un bon indicateur de l'attractivité d'un pollen (Vaudo *et al.* 2016).

Le pollen peut contenir plus de 60% de protéines (Roulston *et al.* 2000; Tasei & Aupinel 2008a) et jusqu'à 20% de lipides (Di Pasquale 2014), mais il représente également une source d'amidons, de sucres, de phosphates (James & Pitts-Singer 2008) et de hydrophiles (Roulston & Cane 2000). L'abondance de protéines contenue dans le pollen est donc un facteur important pour la croissance et reproduction des abeilles, et la disponibilité en protéines issues d'un pollen riche semble être un des facteurs limitants principaux (Duchateau & Velthuis 1989; Roulston & Goodell 2011; Cane & Tepedino 2016). Le profil en acides aminés est également déterminant, les abeilles ayant 10 acides aminés essentiels, ceux-ci doivent être présents dans le pollen qu'elles consomment (De Groot 1953).

Le nectar peut contenir jusqu'à 75% de sucre, mais d'autres éléments entrent souvent dans sa composition, tels que certaines protéines, des acides organiques, des enzymes, des vitamines et du phosphate (James & Pitts-Singer 2008). Le nectar est utilisé comme source d'énergie (Heinrich 1979). Une plus grande consommation en nectar peut également servir à compenser une diète à base de pollen de pauvre qualité (Vanderplanck, Moerman, *et al.* 2014). Le nectar est consommé immédiatement lors de sa collecte, permettant au butineur d'ajuster son choix sur place. À noter que certains acides aminés telle la proline peuvent également servir de source d'énergie lors du vol (Micheu *et al.* 2000).

Les plantes n'ont pas toujours un intérêt écologique à produire un pollen attractif pour tous pollinisateurs. C'est pourquoi certains pollens peuvent être chimiquement protégés contre certains visiteurs. Puisque les pollinisateurs généralistes font souvent preuve d'une efficacité moindre comparés aux pollinisateurs spécialistes, ces protections chimiques permettent aux plantes de diminuer la quantité de pollen perdue pour la fécondation (Sedivy *et al.* 2011). Seuls les pollinisateurs spécialistes auront acquis, par sélection naturelle, l'habilité à se développer uniquement à partir de pollen toxique pour les autres espèces (Haider *et al.* 2013). Ceci permet une fidélisation du pollinisateur, celui-ci devenant entièrement dépendant des ressources qu'il est adapté à exploiter (Praz *et al.* 2008).

Cette contrainte alimentaire a des implications écologiques. Même les espèces généralistes ne sont pas capables de se développer à partir de n'importe quel pollen de plante entomophile (Vanderplanck *et al.* 2016). Le maintien de ces espèces implique donc une restauration des habitats en y incluant des ressources florales étudiées, et non aléatoires.

2. Objectifs

L'objectif central de ce mémoire est de déterminer si les pratiques de restauration des ressources végétales dans le cadre de la conservation des bourdons devraient se concentrer idéalement sur des espèces ligneuses, organisées par exemple en rangées d'arbres, ou sur des espèces herbacées, organisées en prairies fleuries. La question sera traitée selon deux grands axes complémentaires :

La comparaison du développement de micro-colonies nourries de pollen de plantes herbacées et de plantes ligneuses

Des élevages de *Bombus terrestris* sur différentes diètes ont été réalisés en conditions d'élevage standardisé. Le nombre et la masse des descendants ont été mesurés à partir des couvains produits afin de quantifier l'impact des diètes proposées sur le développement d'abeilles généralistes. Ces résultats ont été comparés entre plantes herbacées et ligneuses, afin d'en dégager une éventuelle tendance.

La comparaison des compositions chimiques des pollens de plantes herbacées et de plantes ligneuses

Pour définir la variabilité de la qualité chimique des pollens, les compositions en acides aminés essentiels et totaux ont été analysées pour 18 plantes herbacées et ligneuses. Les profils chimiques des pollens des espèces étudiées pour ces composés ont été comparés, et les résultats discutés en termes d'avantage de conservation des espèces.

3. Matériel et méthodes

3.1. Modèles biologiques

3.1.1. Abeille généraliste

Le modèle de bourdon utilisé dans le présent travail est *Bombus terrestris*. Cette espèce est élevée avec succès depuis de nombreuses années, tant à des fins agronomiques qu'à des fins scientifiques (Velthuis & Van Doorn 2006). Il s'agit d'une des espèces de bourdons les plus généralistes, exploitant donc les ressources alimentaires dispensées par une très large gamme de plantes de familles différentes (Kleijn *et al.* 2008; Somme *et al.* 2015). De plus, l'impact de la qualité sur le développement des bourdons a été étudié sur cette espèce par de nombreux auteurs (Regali & Rasmont 1995; Ribeiro *et al.* 1996; Génissel *et al.* 2002; Tasei & Aupinel

2008a; Tasei & Aupinel 2008b; Řehoř *et al.* 2014; Vanderplanck, Moerman, *et al.* 2014; Moerman *et al.* 2015; Roger, Michez, *et al.* 2017).

Les bourdons utilisés dans cette étude sont des ouvrières issues de colonies achetées à la firme Biobest (Westerlo, Belgique).

3.1.2. Ressources en pollen

Nous avons considéré 18 diètes différentes dans ce travail (voir Table 1). Ces tests alimentaires ont été effectués sur 3 années consécutives, au moyen de tous les pollens disponibles en quantité suffisante pour des élevages de bourdons (*i.e.*, environ 300g). Ces espèces ont été classées en deux groupes en fonction de leur type biologique, une simplification de la classification de Raunkiaer. Cette classification distingue notamment les espèces géophytes (espèces herbacées où seules les racines modifiées en organes de stockage d'énergie survivent aux mauvaises conditions), thérophytes (espèces herbacées annuelles où seules les graines passent la mauvaise saison), hémicryptophytes (espèces herbacées vivaces où les bourgeons subsistent à la surface du sol), chaméphytes (espèces ligneuses à bourgeons persistants moins de 25 cm au-dessus de la surface du sol) et phanérophytes (espèces ligneuses à bourgeons persistants plus de 25 cm au-dessus de la surface du sol). Le présent travail distingue les espèces herbacées et les espèces ligneuses, incluant donc dans ces deux groupes plusieurs catégories de cette classification de Raunkiaer.

Les différentes espèces de pollen utilisés lors de cette expérience ont été collectées par des abeilles domestiques (*Apis mellifera*) et récupérés via des trappes à pollen posées à l'entrée des ruches. Trois espèces (*Trifolium repens*, *Salix fragilis* et *Cirsium* sp.) ont été collectées à Mons, à l'aide de ruches prêtées par un apiculteur belge, Albert Michez ; d'autres (*Helianthus annuus*, *Papaver rhoeas*, *Zea mays*, *Rhamnus frangula*, *Quercus* spp. ainsi que les trois mélanges) ont été achetées à un apiculteur français, François Dittlo ; d'autres enfin sont des pollens issus de mélanges commerciaux : *Crataegus monogyna*, *Castanea sativa*, *Prunus cerasus* et *Cistus* sp. viennent de Pollenergie (Saint-Hilaire-de-Lusignan, France) tandis que les pollens de *Taraxacum* sp. et *Salix caprea* viennent des Ruchers de Lorraine (Nancy, France). Un triage est souvent nécessaire pour obtenir un pollen le plus pur possible, puisque les abeilles mellifères exploitent diverses espèces végétales. Ce triage est basé sur la couleur des pelotes, puisqu'il n'est pas envisageable d'analyser chaque pelote individuellement. Une analyse plus approfondie réalisée au CARI asbl (Louvain-La-Neuve, Belgique) aura permis de déterminer la pureté réelle obtenue après tris (voir Table 1). Les pelotes de pollen ainsi sélectionnées sont d'abord broyées et mélangées à 30% de leurs masses de sirop commercial (Biogluc® également

produit par Biobest) pour obtenir une pâte plus maniable avant d'être utilisées comme diète pour les bourdons expérimentaux. Tous les élevages ont été réalisés suivant le même protocole (voir section suivante) par Sylvain Declèves (Declèves 2014), Aurore Dubois (Dubois 2015), et moi-même en juillet 2016 (voir Table 1).

Table 1 : récapitulatif des diètes étudiées

Type biologique	Organisation simplifiée	Espèces dominantes	Dominance (%)	Origine du pollen	Année d'élevage
Hémicryptophyte	Herbacée	<i>Cirsium sp.</i>	92	Belgique	2014
Thérophyte	Herbacée	<i>Helianthus annuus</i>	80	France	2016
Thérophyte	Herbacée	<i>Papaver rhoeas</i>	99	France	2016
Hémicryptophyte	Herbacée	<i>Taraxacum sp.</i>	94	France	2016
Hémicryptophyte	Herbacée	<i>Trifolium repens</i>	94	Belgique	2014
Thérophyte	Herbacée	<i>Zea mays</i>	71	France	2016
Hémicryptophyte	Herbacées	<i>Aster sp.</i>	52	France	2016
Géophytes	(Mélange 1)	<i>Amaryllidaceae*</i>	42		
Hémicryptophyte	Herbacées	<i>Taraxacum sp.</i>	24	France	2016
Hémicryptophyte	(Mélange 2)	<i>Centaurea sp.</i>	21		
Hémicryptophyte		<i>Aster sp.</i>	16		
Chaméphyte	Ligneuse	<i>Cistus sp.</i>	94	France	2015
Phanérophyte	Ligneuse	<i>Crataegus monogyna</i>	91	France	2015
Phanérophyte	Ligneuse	<i>Castanea sativa</i>	95	France	2015
Phanérophyte	Ligneuse	<i>Prunus cerasus</i>	94	France	2015
Phanérophyte	Ligneuse	<i>Quercus sp. 1</i>	90	France	2015
Phanérophyte	Ligneuse	<i>Quercus sp. 2</i>	94	France	2016
Phanérophyte	Ligneuse	<i>Rhamnus frangula</i>	78	France	2015
Phanérophyte	Ligneuse	<i>Salix caprea</i>	72	France	2014
Phanérophyte	Ligneuse	<i>Salix fragilis</i>	98	Belgique	2015
Phanérophyte	Ligneuses	<i>Rosaceae s.l.**</i>	69	France	2015
Phanérophyte	(Mélange)	<i>Robina pseudoacacia</i>	25		

*Genre non-identifié **Pollen identifié comme un fruitier du genre *Prunus*, *Pyrus* ou *Malus*

3.2. Développement des micro-colonies

3.2.1. Dispositif expérimental

Les ouvrières ont été isolées par cinq pour un réplicat technique, appelé micro-colonie. Chaque groupe de 5 ouvrières a été placé dans une cage en plastique de 16x16x10cm (voir Figure 10), à fond grillagé donnant accès à une réserve *ad libidum* de Biogluc®, une solution de sucre inverti commercialisée par Biobest sprl dans le cadre de l'élevage de bourdons. Une fois séparée de sa reine, une ouvrière prend le dessus sur les autres et commence à pondre au bout de quelques jours. Pour chaque diète, dix micro-colonies ont été utilisées, sauf lorsque la quantité de pollen était limitante (cas du *Salix fragilis*, n=8). Les élevages ont été suivis durant 19 jours en conditions standardisées (température de 26-28°C et humidité relative de 65%). Le pollen a été fourni *ad libidum* (i.e., environ 1 à 2g tous les deux jours, en quantité croissante avec le développement du couvain), sous forme de pâte après mélange avec le sirop, et a été remplacé tous les deux jours pour éviter une perte d'attractivité et de valeur nutritive. La collecte de pollen par les ouvrières au bout de ces deux jours a été quantifiée tout le long de l'expérience à l'aide d'une balance de précision (au mg près).



Figure 10 : dispositif d'élevage de bourdons utilisé dans le cadre des tests alimentaires (photo : Vastrade M ; échelle=4cm)

3.2.2. Paramètres d'étude

Différents paramètres ont été mesurés ou calculés pour chaque micro-colonie afin de quantifier le fitness des bourdons en fonction de la diète reçue, et donc la qualité des pollens étudiés en tant que ressources alimentaires de *Bombus terrestris*.

Ces paramètres sont : (i) nombre et masse des œufs produits ; (ii) nombre et masse des larves non-isolées (*i.e.* larves aux premiers stades maintenues dans des cellules communes) ; (iii) nombre et masse des larves isolées *pre-defecating* (*i.e.* larves au stade plus avancé, maintenues par les ouvrières dans des cellules individuelles, avant évacuation du bolus alimentaire) ; (iv) nombre et masse des larves isolées *post-defecating* (*i.e.* larves au stade plus avancé, maintenues par les ouvrières dans des cellules individuelles, au tube digestif vidé en vue de la nymphose) ; (v) nombre et masse des pupes produites ; (vi) nombre et proportion de larves éjectées ; (vii) masse totale de couvain produit (œufs, larves et pupes confondus) ; (viii) collecte totale de pollen ; (ix) collecte totale de sirop ; (x) dilution pollinique (*i.e.* collecte de sirop divisée par la collecte totale de pollen) ; (xi) efficacité pollinique (*i.e.* masse du couvain divisée par la collecte totale en pollen).

La collecte en pollen a été mesurée durant l'expérimentation, de même que le nombre de larves éjectées et la collecte en sirop a été déterminé par pesée des bacs à sirop en début et en fin d'expérience. Quant aux paramètres de quantification du couvain, ils ont été mesurés par dénombrements et pesées de chaque stade à l'aide d'une balance analytique précise au dixième de mg, suite à une dissection des couvains au 19^e jour d'élevage. Ces paramètres ont été standardisés par la masse totale des cinq ouvrières pour chaque réplicat, afin de s'assurer que la variation interindividuelle des ouvrières n'impacte pas les résultats observés. En effet, la taille des individus semble influencer le développement et la résistance à un stress alimentaire chez les bourdons (Couvillon & Dornhaus 2010; Shpigler *et al.* 2013).

3.3. Composition chimique des pollens

Le contenu en acides aminés a été analysé pour les 18 diètes utilisées pour les tests alimentaires sur *Bombus terrestris* (voir la section 3.2 et la Table 1). Ces analyses ont été réalisées à la Faculté Universitaire des Sciences Agronomiques de Gembloux, dans le laboratoire de Chimie Biologique et Industrielle du Prof. Wathelet, sur base d'un protocole préétabli (Vanderplanck, Leroy, *et al.* 2014). Ce protocole permet d'extraire les 17 acides aminés généralement étudiés dans le cadre de l'évaluation des ressources alimentaires de abeilles. En effet, asparagine et glutamine ne sont souvent pas considérées, de même que le tryptophane, pourtant essentiel pour

les abeilles mais pratiquement jamais en quantité limitante dans leur alimentation (Standifer *et al.* 1980).

Ces extractions se font à partir de 3 à 5 mg de matière sèche de pollen. À cet échantillon est ajouté 1 mL d'une solution d'hydrolyse, à base d'HCl 6N, de 0.1% de phénol et de 500µM de norleucine. L'échantillon est placé sous azote pendant 1 minute, puis incubé à 110°C pendant 24h. La fraction résultante est ensuite évaporée jusqu'à séchage complet (sous vide, à 100°C) puis remise en solution dans 1 mL d'un tampon de citrate de sodium à pH 2.2. Cette solution homogénéisée est ensuite versée dans une fiole à HPLC après filtration à 0.2µm. Chaque acide aminé est quantifié séparément par chromatographie sur échangeurs d'ions (Biochrom 20 Plus Amino Acid analyzer). Une réaction à la ninhydrine prépare ensuite à la détection UV des dérivés produits. Lors de cette extraction, la norleucine sert de standard interne.

3.4. Analyses statistiques

Tous les tests statistiques ont été effectués avec le logiciel R, version 1.14.2.

3.3.1. Développement des micro-colonies

Les paramètres d'études des données d'élevages ont été analysés au moyen d'un modèle mixte linéaire généralisé (GLMM). Ce test permet de prendre en compte l'influence d'un facteur de blocage (facteur aléatoire, dont on ne maîtrise pas l'évolution mais dont on soupçonne qu'elle peut avoir un impact sur le résultat). Ce facteur aléatoire est l'année d'élevage (facteur à trois niveaux : 2014, 2015 ou 2016). Pour les paramètres non significativement impactés par ce facteur, des analyses de variances (ANOVA) ont été réalisées à la place du GLMM. Les données ont préalablement été testées pour la normalité des résidus (vérifiée par test de Shapiro-Wilk, H_0 = distribution normale) et pour l'homoscédasticité (vérifiée par test de Bartlett, H_0 = égalité des variances) et transformées (log ou rank) le cas échéant pour respecter les conditions d'application de ces tests. Des transformations arcsin ont également été appliquées aux données relatives (*e.g.*, le taux de larves éjectées) afin d'en faire aussi des variables continues non-limitées (*i.e.*, non strictement comprises entre 0 et 100). Lorsque ces tests d'hypothèses ont détecté des différences significatives au sein d'un paramètre donné, un test *post hoc* (effectuant des comparaisons multiples paire par paire) a permis de structurer les données en précisant où résidaient ces différences. Les résultats ont été visualisés au moyen de boîtes à dispersion (boxplots). Les résultats des comparaisons paire par paire y ont été compilés au moyen d'indices lettrés placés au-dessus des boîtes par ordre alphabétique, la lettre A ayant été associée par convention à la valeur la plus basse d'une variable donnée. Deux boîtes partageant un indice lettré en commun ne sont pas significativement différentes ($\alpha=0.05$).

La dynamique de croissance des micro-colonies a été comparée, entre les diètes d'une part et les types biologiques de l'autre, au moyen d'une analyse multivariée de la variance par permutations (perMANOVA) après vérification de l'homoscédasticité (fonction *betadisper*), les permutations rendant ce test plus robuste à la non-normalité des données. Cette analyse prend en compte les proportions, en termes d'individus produits, de chaque stade (*i.e.*, œufs, larves non-isolées, larves isolées et pupes). Des analyses de la variance (ANOVA) ont également été réalisées sur chacun de ces stades de croissance, suivi de tests *post hoc* en cas de rejet de l'hypothèse nulle. Les vérifications des conditions d'application et transformation de données (log, rank et arcsin) ont été faites suivant les modalités décrites précédemment. Les données ont été visualisées par la construction d'un graphique en barres empilées, avec les quatre stades ordonnés du bas vers haut dans le sens du développement des bourdons (*i.e.*, œufs -> larves non-isolées -> larves isolées -> pupes). Une fois encore, les résultats des tests *post hoc* y ont été compilés au moyen d'indices lettrés placés dans les barres correspondantes (ou au-dessus, si le stade concerné n'a pas été produit) par ordre alphabétique, la lettre A ayant été associée par convention à la valeur la plus basse d'une variable donnée. Deux boîtes partageant un indice lettré en commun ne sont pas significativement différentes ($\alpha=0.05$).

3.3.2. Composition chimique des pollens

Les contenus absolus en acides aminés totaux et essentiels (en mg/g) ainsi que les compositions relatives en acides aminés essentiels (en %) ont été comparés entre les différents pollens au moyen d'une analyse de variance (ANOVA), après transformation des données (log ou rank) pour les paramètres ne rencontrant pas les conditions d'application de ce test (normalité des résidus, vérifiée par test de Shapiro-Wilk et homoscédasticité, vérifiée par test de Bartlett). Lorsque des différences significatives ont été détectées, un test *post hoc* (test de Tukey) a permis, par comparaisons multiples, de déterminer plus précisément quelles diètes différaient entre elles. Un dendrogramme a été construit pour illustrer ces résultats, en utilisant la méthode UPGMA avec les liens moyens des distances de Bray-Curtis et 999 permutations. Les diètes ont ensuite été groupées en fonction de leur type biologique simplifié (*i.e.*, espèces herbacées ou ligneuses) et un test-t de Student a permis de déterminer si ces deux groupes différaient significativement l'un de l'autre. Une attention particulière a été accordée à la proline, cet acide aminé étant également utilisé par les abeilles comme source d'énergie durant le vol (Micheu *et al.* 2000).

L'entièrete des profils chimiques des pollens, en prenant en compte les contenus individuels de chaque acide aminé, ont été comparés au moyen d'une analyse multivariée de la variance par

permutations (perMANOVA) après vérification de l'homoscédasticité (fonction *betadisper*), les permutations rendant ce test plus robuste à la non-normalité des données. Une analyse des composés indicateurs a été effectuée sur l'ensemble des profils chimiques de chaque espèce. Cette analyse a été faite au moyen de la fonction *Indval* du package *labdsv* (Roberts 2016).

4. Résultats

4.1. Développement des micro-colonies

Les résultats de développement de *Bombus terrestris* ont été résumés dans la Table 2, et les descriptions de résultats ci-dessous y renvoient toutes, en dehors de ceux qui concernent les dynamiques de croissance. Les principaux paramètres de développement étudiés ont tous été significativement impactés par l'origine de la diète (GLMM ou ANOVA, $p < 0.001$). Une différence significative réside en outre entre l'ensemble des espèces ligneuses et l'ensemble des espèces herbacées étudiées pour tous ces paramètres excepté la collecte de sirop (GLMM ou ANOVA, $p < 0.05$) (voir Table 2).

Les micro-colonies nourries avec du pollen de *Trifolium repens* et de *Salix caprea* ont collecté significativement plus de cette ressource par rapport aux micro-colonies élevées sur toutes les autres pollens, à l'exception de *Quercus* sp.2 qui n'a pas été détecté significativement différent de *Trifolium repens* pour ce paramètre. En outre, les colonies nourries avec le Mélange Herbes1 ont aussi collecté significativement moins de pollen que celles nourries aux pollens des deux espèces de *Quercus*.

La collecte de sirop était significativement plus élevée pour les micro-colonies nourries avec *Castanea sativa* et *Prunus cerasus* comparés aux espèces herbacées (excepté le Mélange Herbes2) et à deux espèces ligneuses (i.e., *Quercus* sp.2 et *Salix caprea*).

Ces deux paramètres de collectes sont pris en considération dans le calcul de la dilution pollinique, qui était significativement plus faible pour les diètes *Trifolium repens* et *Salix caprea* comparés à la plupart des autres diètes (excepté *Cirsium* sp., *Papaver rhoeas* et *Quercus* sp.2 dans le cas de *T. repens*). En outre, la diète *Salix fragilis* montre une dilution particulièrement élevée et significativement différente de ces cinq espèces (i.e., *S. caprea*, *T. repens*, *Cirsium* sp., *P. rhoeas* et *Quercus* sp.2) (voir Table 2 et Figure 11).

La masse totale du couvain était significativement inférieure pour les micro-colonies nourries avec le Mélange Herbes1 et les pollens d'*Helianthus annuus* et *Taraxacum* sp. comparé à *Papaver rhoeas*, *Trifolium repens*, ainsi que toutes les espèces ligneuses (*Cistus* sp. excepté).

En outre, les micro-colonies nourries avec du pollen de *T. repens* ont produit significativement plus de couvain que toutes les autres espèces herbacées et que la plupart des espèces ligneuses, excepté pour les diètes à base du Mélange Arbres, de *Quercus* sp.1 et de *Salix caprea*. Par ailleurs, cette dernière diète a produit significativement plus de couvain que toutes les autres diètes en dehors de *Trifolium repens*.

Ce paramètre de développement majeur est pris en considération dans le calcul de l'efficacité pollinique, en même temps que le principal paramètre de collecte de ce travail (i.e., la collecte de pollen). Les pollens ayant montré l'efficacité la plus élevée sont les pollens de *Salix caprea* et de *Trifolium repens*, tous deux significativement différents de toutes les autres espèces herbacées en dehors de *Papaver rhoeas*. De nombreuses espèces ligneuses (i.e., *Castanea sativa*, *Crataegus monogyna*, *Prunus cerasus*, *Quercus* sp.1, ainsi que le Mélange Arbres) ont en outre montrés une efficacité pollinique significativement supérieure aux espèces herbacées les moins efficaces (i.e., *Helianthus annuus*, *Taraxacum* sp. et le Mélange Herbes 1). Pour les espèces à efficacité intermédiaire (*Papaver rhoeas* en espèces herbacées ; *Cistus* sp., *Rhamnus frangula*, *Quercus* sp.2 et *Salix fragilis* en espèces ligneuses), aucune différence significative avec les autres diètes n'a pu être mise en évidence (voir Table 2 et Figure 11).

Les micro-colonies nourries avec du pollen de *Cirsium* sp. et de *Taraxacum* sp. ont éjecté significativement plus de larves que les micro-colonies nourries avec les autres diètes, en dehors de *Salix caprea* et *Helianthus annuus* montrant des résultats intermédiaires (voir Figure 12).

Table 2 : résultats des principaux paramètres d'élevage de micro-colonies en fonction de la diète (n=10 sauf indication contraire). Les résultats sont présentés sous la forme minimum-maximum (médiane). Dans chaque colonne, les données partageant le même indice lettré ne sont pas significativement différentes (tests post hoc, $\alpha=0.05$).

Type	Espèce	Collecte de pollen (g)	Collecte de sirop (g)	Dilution pollinique (g/g)	Masse totale du couvain (g)	Efficacité pollinique (g/g)	Taux de mortalité larvaire (%)
H	<i>Cirsium</i> sp.	2.81-9.29 (3.74) ab	31.39-38.92 (35.50) a	4.07-12.57 (9.26) bcd	0.07-5.63 (0.57) abcde	0.02-0.61 (0.17) ab	18.2-66.7 (26.3) b
H	<i>Helianthus annuus</i>	2.62-3.64 (3.01) ab	32.69-48.66 (38.21) ab	9.49-16.85 (12.10) cde	0.00-0.33 (0.04) ab	0.00-0.13 (0.01) a	0.0-33.3 (8.7) ab
H	<i>Papaver rhoeas</i>	2.86-7.47 (4.20) ab	27.46-47.05 (38.24) ab	5.36-18.26 (8.47) bcd	0.02-4.89 (2.26) efg	0.01-0.77 (0.53) abc	0.0-16.7 (1.9) a
H	<i>Taraxacum</i> sp.	2.56-3.90 (3.52) ab	32.15-39.57 (35.64) a	8.91-12.64 (9.97) cde	0.00-0.42 (0.07) ab	0.00-0.12 (0.02) a	0.0-100.0 (12.5) b
H	<i>Trifolium repens</i>	3.84-10.98 (7.08) cd	32.46-47.87 (39.00) ab	3.67-10.07 (5.52) ab	1.93-9.10 (5.82) hi	0.50-1.00 (0.74) c	0.0-28.0 (13.2) a
H	<i>Zea mays</i>	2.44-5.08 (3.97) ab	32.21-45.30 (36.17) ab	6.53-14.67 (9.50) cde	0.02-2.35 (0.27) abcd	0.01-0.48 (0.07) ab	0.0-37.5 (5.0) a
H	MélangeHerbes 1	2.38-3.71 (2.74) a	22.97-49.03 (37.03) a	9.65-17.47 (12.06) cde	0.00-0.10 (0.00) ab	0.00-0.03 (0.00) a	0.0-0.0 (0.0) a
H	MélangeHerbes 2	2.75-4.68 (3.04) ab	35.82-44.09 (39.75) abc	9.32-16.53 (12.86) cde	0.00-1.43 (0.13) abc	0.00-0.31 (0.04) ab	0.0-35.7 (0.0) a
L	<i>Castanea sativa</i>	3.04-6.67 (4.09) ab	41.35-56.52 (52.53) c	7.46-18.31 (12.47) cde	1.08-3.35 (2.08) efg	0.30-0.73 (0.48) bc	0.0-7.1 (0.0) a
L	<i>Cistus</i> sp.	2.27-4.15 (3.14) ab	33.48-61.54 (52.65) bc	10.54-26.03 (15.25) de	0.17-1.66 (0.96) bcdef	0.08-0.48 (0.31) abc	0.0-5.6 (0.0) a
L	<i>Crataegus monogyna</i>	2.91-5.07 (3.92) ab	42.97-62.99 (50.88) bc	8.48-17.95 (13.98) de	0.13-4.04 (2.24) cdef	0.05-0.80 (0.62) bc	0.0-8.7 (0.0) a
L	<i>Prunus cerasus</i>	2.73-4.42 (3.52) ab	34.99-64.79 (58.01) c	7.91-21.72 (15.76) de	0.29-3.27 (2.19) efg	0.11-0.79 (0.62) bc	0.0-8.9 (0.0) a
L	<i>Quercus</i> sp. 1	3.57-5.57 (4.71) b	38.22-70.30 (48.43) bc	6.69-19-66 (9.84) cde	0.94-4.84 (2.69) gh	0.26-0.90 (0.55) bc	0.0-0.0 (0.0) a
L	<i>Quercus</i> sp. 2	2.69-6.68 (5.44) bc	30.79-43.32 (37.67) a	4.61-15.83 (6.78) bc	0.00-4.36 (2.60) defg	0.00-0.65 (0.52) abc	0.0-12.5 (3.6) a
L	<i>Rhamnus frangula</i>	1.96-5.61 (4.30) ab	35.28-70.85 (43.61) abc	7.24-23.33 (9.90) cde	0.26-3.02 (2.04) defg	0.13-0.66 (0.50) abc	0.0-0.0 (0.0) a
L	<i>Salix caprea</i>	5.23-12.99 (9.73) d	32.84-42.89 (39.06) ab	3.07-7.32 (3.62) a	2.94-10.23 (7.00) i	0.52-1.03 (0.71) c	2.1-29.3 (7.7) ab
L	<i>Salix fragilis</i> (n=8)	1.46-4.50 (3.39) ab	31.07-69.20 (49.72) bc	8.44-30.96 (15.77) e	0.02-3.94 (1.81) cdefg	0.01-1.07 (0.41) abc	0.0-9.1 (0.0) a
L	MélangeArbres	2.39-5.70 (4.42) ab	32.41-60.24 (46.87) abc	6.17-17.27 (12.69) cde	0.53-4.46 (2.54) fgh	0.22-0.78 (0.62) bc	0.0-16.7 (7.2) a
Tests statistiques effectués		F _{17,160} =12.87 p<0.001	F _{17,160} =7.257 p<0.001	F _{17,160} =10.29 p<0.001	F _{17,160} =21.05 p<0.001	F _{17,160} =121.87 p<0.001	F _{17,143} =6.54 p<0.001
Comparaison espèces ligneuses et herbacées		F _{1,175.96} =35.1433 p<0.001	F _{1,168.23} =0.1676 p=0.6828	F _{1,175.99} =20.1961 p<0.001	F _{1,173.48} =33.285 p<0.001	F _{1,160.96} =21.7165 p<0.001	F _{1,112.49} =5.6909 p<0.05

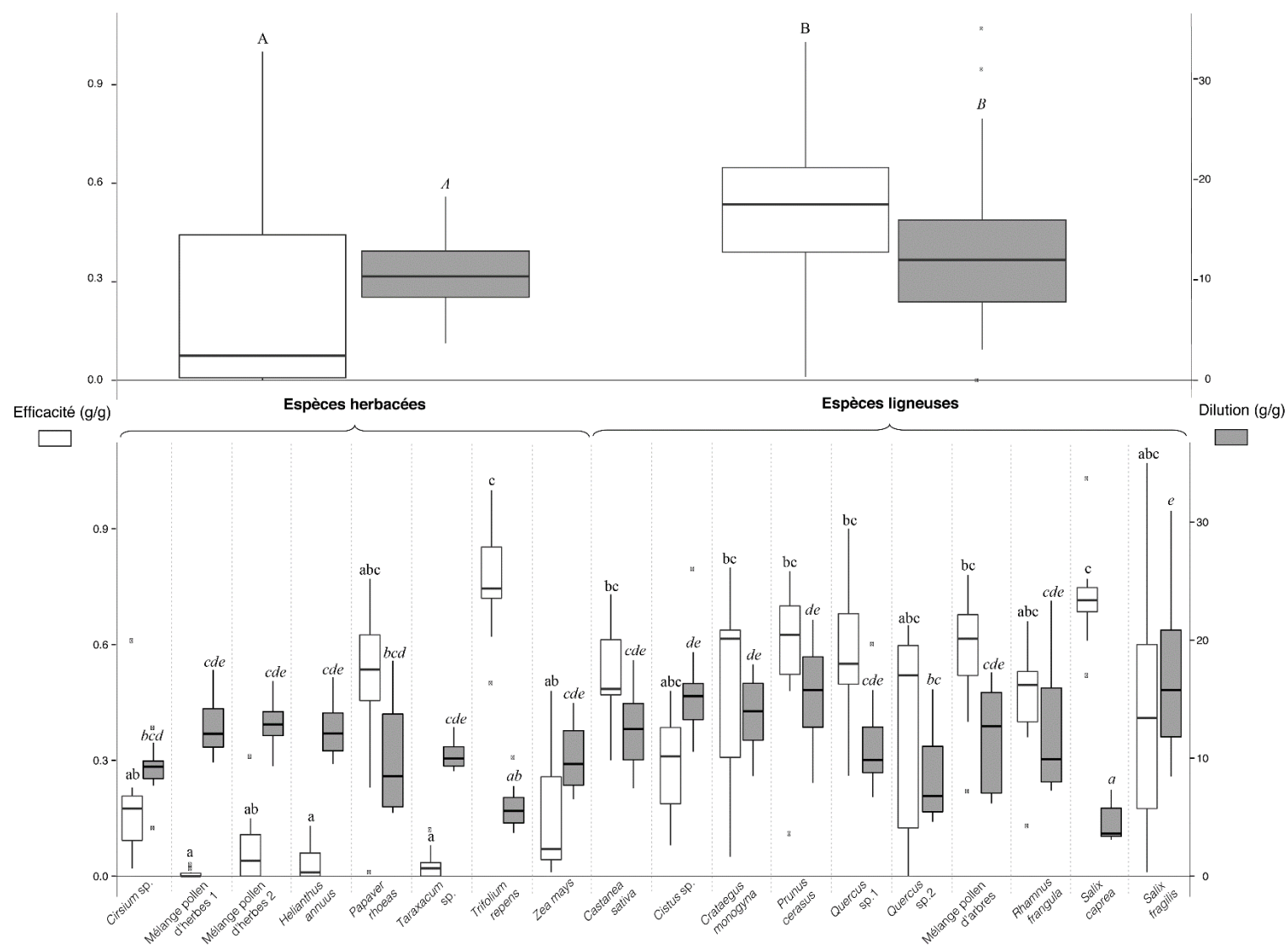


Figure 11 : efficacité et dilution pollinique en fonction de l'origine spécifique de la diète (partie inférieure, $n=10$ sauf pour *S. fragilis*, $n=8$) et en fonction du type biologique (partie supérieure). Les boîtes partageant un indice lettré commun (minuscule pour les espèces, majuscule pour les types biologiques, italique pour la dilution) ne diffèrent pas significativement.

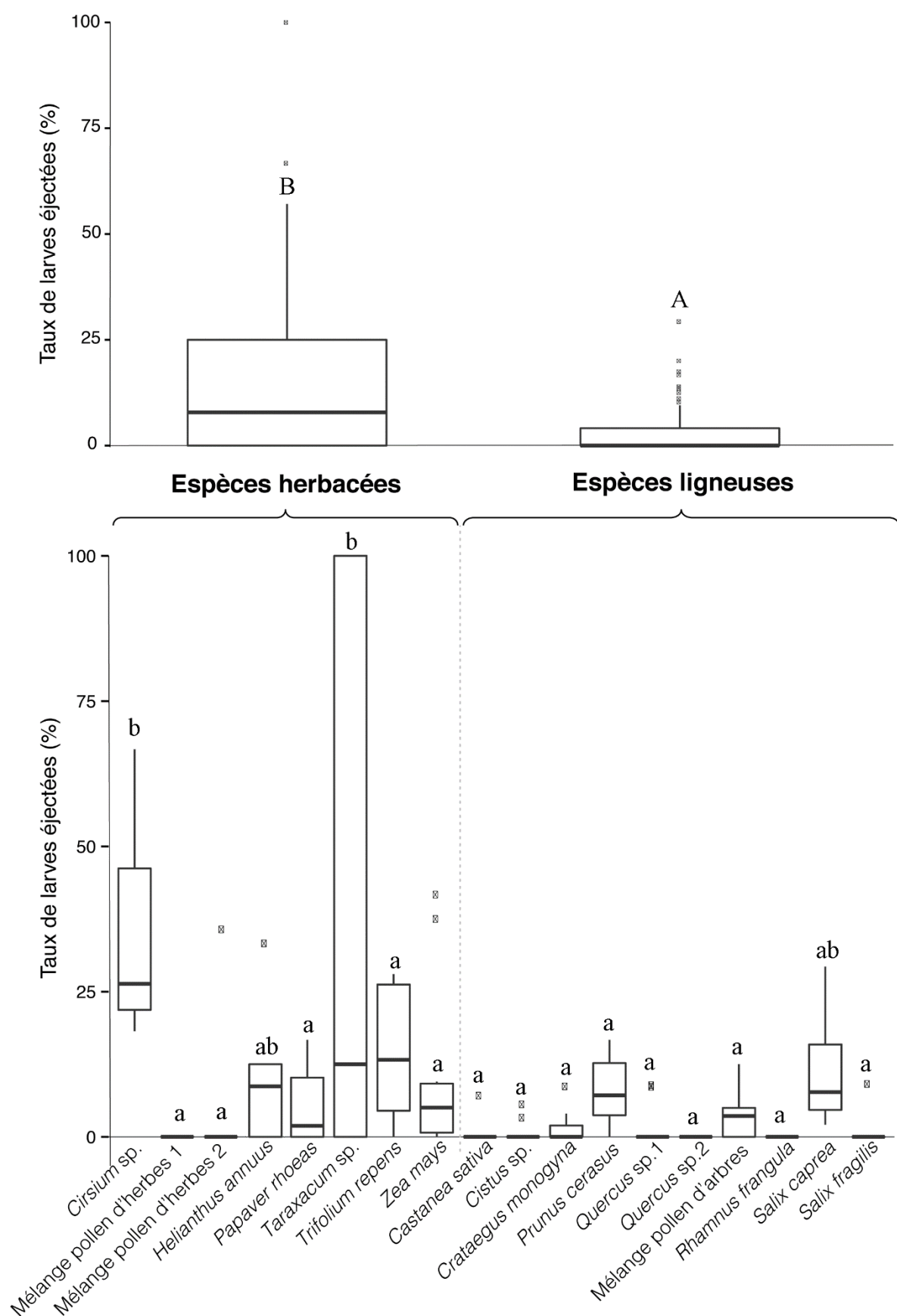


Figure 12 : taux de larves éjectées en fonction de l'origine spécifique de la diète (partie inférieure, n=10 sauf pour *S. fragilis*, n=8) et en fonction du type biologique (partie supérieure). Les boîtes partageant un indice lettré commun (minuscule pour les espèces, majuscule pour les types biologiques) ne diffèrent pas significativement.

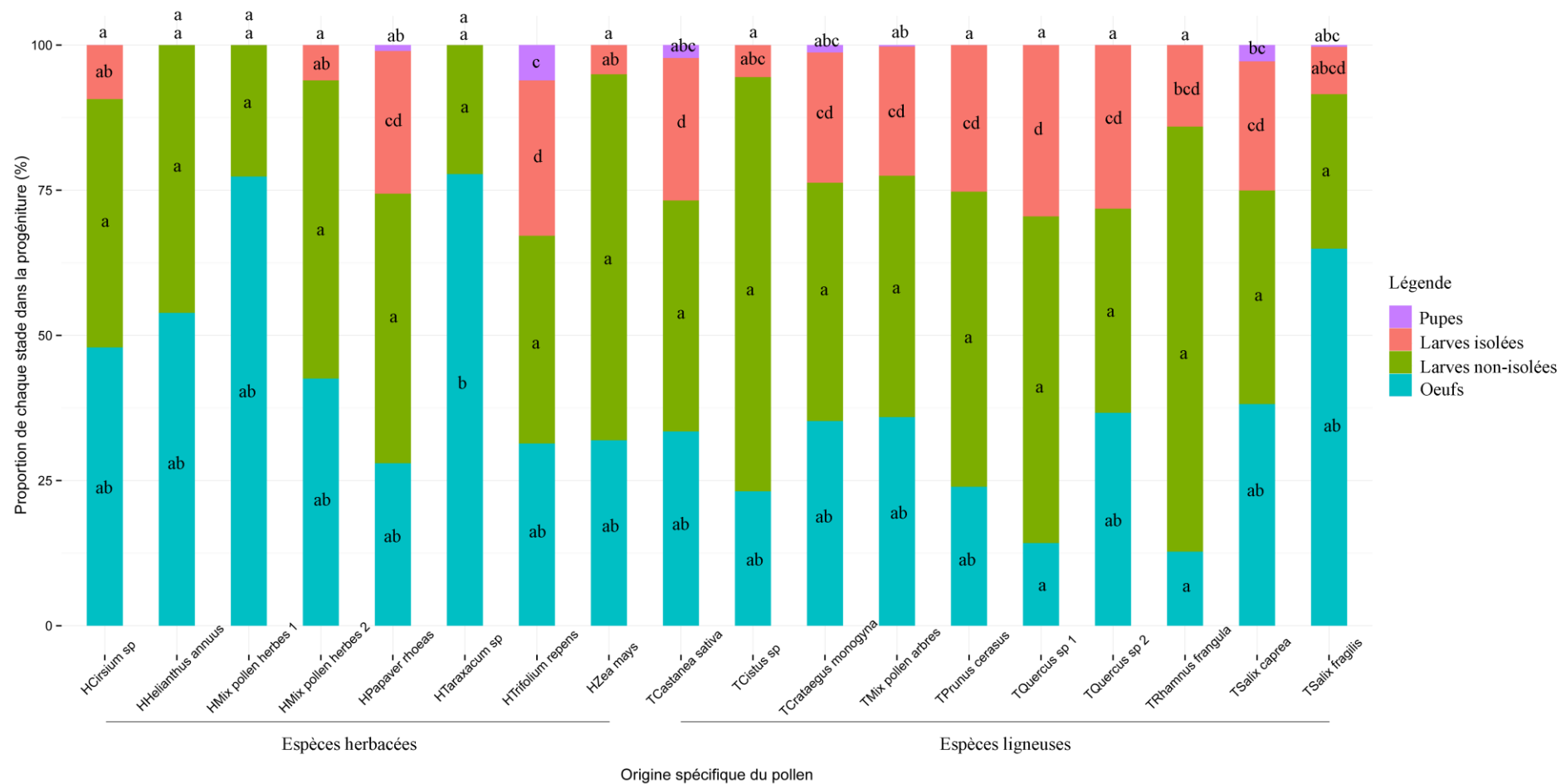


Figure 13 : dynamique de développement des micro-colonies en fonction de l'origine spécifique de la diète (n=10 sauf pour S.fragilis, n=8). Pour un stade donné, les bâtons partageant un indice lettré commun ne sont pas significativement différents, ces indices étant organisés de manière croissance par rapport au développement du bourdons pour toutes les diètes.

Les dynamiques globales de développement (représentées en Figure 13) ont été significativement influencées par l'origine de la diète fournie aux micro-colonies (perMANOVA, $F_{17,160}=0.2699$, $p<0.001$). Plus particulièrement, les proportions d'œufs produits varient significativement en fonction de la diète (ANOVA, $F_{17,160}=2.435$, $p<0.01$), de même que les proportions de larves non-isolées (ANOVA, $F_{17,160}=1.817$, $p<0.01$), celles de larves isolées (ANOVA, $F_{17,160}=10.63$, $p<0.001$) et celles de pupes (ANOVA, $F_{17,160}=3.473$, $p<0.001$). Les micro-colonies nourries au pollen de *Taraxacum* sp. ont significativement une plus grande proportion d'œufs dans leur couvain que les micro-colonies nourries avec *Quercus* sp.1 et *Rhamnus frangula*, les autres diètes montrant des résultats intermédiaires. De manière inattendue, les comparaisons multiples n'ont pas détecté de différence significative dans la production de larves non-isolées. Par ailleurs, les diètes à base de pollen d'*Helianthus annuus*, du Mélange Herbes1 et de *Taraxacum* sp. n'ont pas permis la production de larves isolées, et les diètes à base de *Cirsium* sp., Mélange Herbes2, *Zea mays*, *Cistus* sp. et *Salix fragilis* n'en diffèrent pas significativement. Toutes les autres diètes ont une plus grande proportion de larves isolées dans leur couvain. Les diètes à base de *Trifolium repens* et de *Salix caprea* ont en outre un plus grande proportion de pupes dans leur progéniture que la majorité des autres diètes, tandis que les micro-colonies nourries de pollen de *Papaver rhoeas*, *Castanea sativa*, *Crataegus monogyna*, Mélange Arbres et *Salix fragilis* ont des proportions intermédiaires (voir Figure 13).

La dynamique de croissance des micro-colonies a également été significativement impactée par le type biologique des espèces servant de sources de pollen (perMANOVA, $F_{1,176}=14.755$, $p<0.001$). Plus particulièrement, les proportions d'œufs produits varient significativement en fonction du type biologique ($p<0.01$), de même que les proportions de larves isolées ($p<0.001$). En revanche, les pourcentages de larves non-isolées ($p=0.1019$) et de pupes ($p=0.7408$) n'ont globalement pas montré de différence significativement entre l'ensemble des espèces herbacées et l'ensemble des espèces ligneuses considérées dans ce travail.

4.2. Composition chimique des pollens

Les résultats des analyses chimiques ont été résumés dans la Table 3.

Le contenu en acides aminés totaux varie significativement en fonction de l'espèce végétale ($F_{17,36}=139.7$, $p<0.001$). Les espèces aux pollens les moins riches en acides aminés sont *Helianthus annuus*, *Taraxacum* sp., *Zea mays*, Mélange Herbes1, Mélange Herbes2, *Castanea sativa*, *Cistus* sp., *Quercus* sp.1 et *Quercus* sp.2 dans une moindre mesure. L'espèce la plus

concentrée en acide aminés est *Crataegus monogyna*, dont le contenu en acides aminés totaux est significativement supérieur à celui de tous les autres pollens. Après viennent *Trifolium repens* et *Prunus cerasus*, aux contenus en acides aminés totaux significativement supérieurs aux autres diètes en dehors de *C. monogyna*. Les pollens de *Cirsium* sp., *Papaver rhoeas*, *Rhamnus frangula*, *Salix caprea*, *Salix fragilis* et le Mélange Arbres ont des contenus intermédiaires. Ces grandes tendances ont été confirmées par l'analyse de dissimilarité de Bray-Curtis (voir Figure 14). Aucune différence significative n'a été détectée en comparant le contenu total en acides aminés entre l'ensemble des espèces herbacées et l'ensemble des espèces ligneuses (test de Student, $t=-1.9175$, $df=43.186$, $p=0.06181$) (voir Table 3). En accord avec ceci, le dendrogramme (Figure 14) ne sépare aucunement les espèces ligneuses des espèces herbacées.

Le contenu en acides aminés essentiels est également dépendant de l'espèce ($F_{17,36}=99.66$, $p<0.001$). Les pollens les plus pauvres en acides aminés essentiels sont ceux d'*Helianthus annuus*, *Taraxacum* sp., *Zea mays*, Mélange Herbes1, Mélange Herbes2, *Cistus* sp., *Quercus* sp.1 et dans une moindre mesure *Castanea sativa*. L'espèce la plus concentrée en acide aminés essentiels est *Crataegus monogyna*, dont le contenu est significativement supérieur à celui de tous les autres pollens. Après viennent *Trifolium repens* et *Prunus cerasus*, ce dernier pollen ne différant cependant pas significativement de ceux de *Papaver rhoeas*, *Salix caprea* et du Mélange Arbres, aux contenus élevés également. Le contenu en acides aminés essentiels de ces deux derniers pollens n'est pas significativement différent de celui des pollens de *Cirsium* sp., *Rhamnus frangula*, *Quercus* sp.2 et *Salix fragilis*, aux contenus intermédiaires. Aucune différence significative n'a été détectée en comparant le contenu en acides aminés essentiels de l'ensemble des espèces herbacées avec celui de l'ensemble des espèces ligneuses (test de Student, $t=-1.9247$, $df=49.099$, $p=0.06007$) (voir Table 3).

Plus particulièrement, la composition en proline montre des différences significatives (Kruskal-Wallis, $\chi^2=51.494$, $df=17$, $p<0.001$) pour les comparaisons *Crataegus-Helianthus*, *Crataegus-S.fragilis* et *Trifolium-S.fragilis*. Le type biologique simplifié ne semble pas influencer significativement le contenu du pollen en proline (test de Student, $t=0.78303$, $df=51.635$, $p=0.4372$).

Le pourcentage d'acides aminés essentiels par rapport aux acides aminés totaux varie également en fonction de l'espèce ($F_{17,36}=12.38$, $p<0.001$) et aussi en fonction du type biologique (test de

Student, $t = -2.0759$, $df = 52$, $p < 0.05$) (voir Table 3), la proportion en acides aminés essentiels étant significativement plus élevée chez les espèces ligneuses.

Enfin, les profils chimiques en acides aminés sont significativement différents d'une espèce à l'autre (perMANOVA, $F_{17,53}=38.579$, $p<0.001$) mais sans tendance significative entre les espèces herbacées et les espèces ligneuses (perMANOVA, $F_{1,53}=3.2243$, $p=0.06$). En outre, aucun composé indicateur n'a pu être mis en évidence.

Table 3 : contenu en acides aminés des diètes d'élevages. Chaque espèce a été analysée en triplicat. Les résultats sont présentés sous la forme moyenne $\pm$ écart-type. Dans chaque colonne, les données partageant le même indice lettré ne sont pas significativement différentes (tests post hoc, $\alpha=0.05$).

Type	Espèce	Acides aminés totaux (mg/g)	Acides aminés essentiels (mg/g)	Acides aminés essentiels (%)
H	<i>Cirsium</i> sp.	141.96 $\pm$ 8.45 c	57.82 $\pm$ 4.71 c	40.70 $\pm$ 1.12 ab
H	<i>Helianthus annuus</i>	86.46 $\pm$ 15.62 a	38.75 $\pm$ 8.87 ab	44.52 $\pm$ 2.47 cd
H	<i>Papaver rhoeas</i>	150.82 $\pm$ 3.51 c	70.59 $\pm$ 2.37 d	46.80 $\pm$ 0.52 cd
H	<i>Taraxacum</i> sp.	87.90 $\pm$ 1.85 a	38.73 $\pm$ 0.41 ab	44.07 $\pm$ 0.65 cd
H	<i>Trifolium repens</i>	192.73 $\pm$ 11.43 d	84.01 $\pm$ 5.27 e	43.59 $\pm$ 0.80 bc
H	<i>Zea mays</i>	98.20 $\pm$ 5.02 ab	40.88 $\pm$ 1.52 ab	41.66 $\pm$ 1.01 ab
H	Mélange Herbes 1	82.52 $\pm$ 6.22 a	33.70 $\pm$ 3.60 a	40.77 $\pm$ 1.54 ab
H	Mélange Herbes 2	99.78 $\pm$ 9.96 ab	42.89 $\pm$ 4.78 ab	42.95 $\pm$ 0.52 ab
L	<i>Castanea sativa</i>	99.89 $\pm$ 1.75 ab	45.64 $\pm$ 1.56 b	45.69 $\pm$ 1.05 cd
L	<i>Cistus</i> sp.	87.68 $\pm$ 5.64 a	35.21 $\pm$ 1.48 ab	40.20 $\pm$ 1.08 a
L	<i>Crataegus monogyna</i>	271.28 $\pm$ 8.28 e	116.88 $\pm$ 4.13 f	43.08 $\pm$ 0.24 abc
L	<i>Prunus cerasus</i>	174.03 $\pm$ 7.30 d	75.56 $\pm$ 3.12 de	43.42 $\pm$ 0.09 abc
L	<i>Quercus</i> sp. 1	101.42 $\pm$ 1.63 ab	43.93 $\pm$ 0.98 ab	43.31 $\pm$ 0.27 abc
L	<i>Quercus</i> sp. 2	110.10 $\pm$ 5.07 b	48.64 $\pm$ 2.90 bc	44.18 $\pm$ 1.65 cd
L	<i>Rhamnus frangula</i>	122.33 $\pm$ 3.26 bc	57.05 $\pm$ 1.88 c	46.63 $\pm$ 0.30 cd
L	<i>Salix caprea</i>	137.09 $\pm$ 4.68 c	64.62 $\pm$ 2.44 cd	47.13 $\pm$ 0.37 d
L	<i>Salix fragilis</i>	116.67 $\pm$ 2.64 bc	55.19 $\pm$ 1.03 bc	47.31 $\pm$ 0.23 d
L	Mélange Arbres	144.63 $\pm$ 5.37 c	62.48 $\pm$ 3.64 cd	43.18 $\pm$ 1.04 abc
Tests statistiques effectués		$F_{17,36}=139.7$ $p<0.001$	$F_{17,36}=99.66$ $p<0.001$	$F_{17,36}=12.38$ $p<0.001$
Comparaison espèces ligneuses et herbacées		$t=-1.9175$, $df=43.186$, $p=0.06181$	$t=-1.9247$, $df=49.099$, $p=0.06007$	$t = -2.0759$, $df = 52$, $p < 0.05$

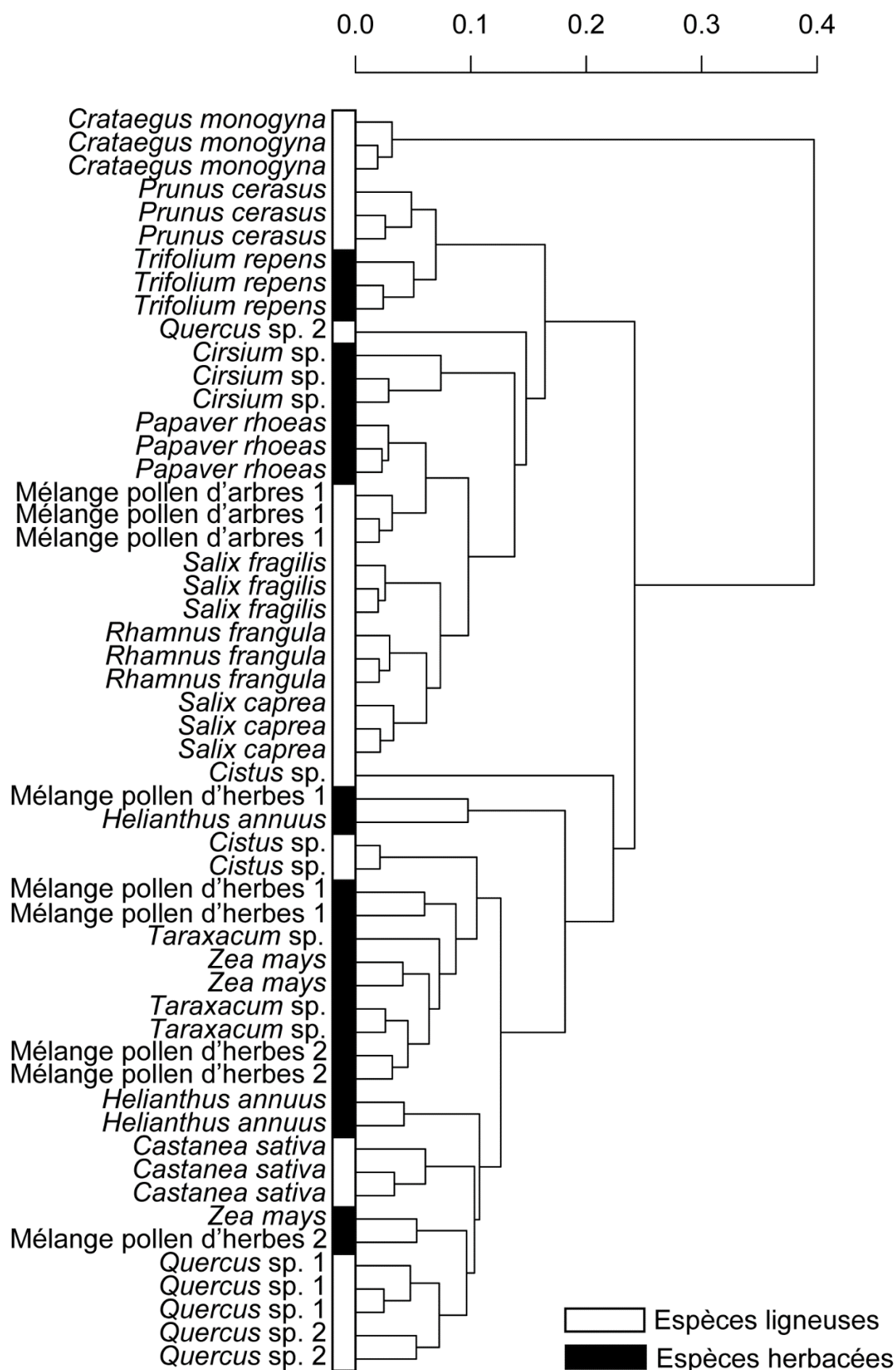


Figure 14 : dendrogramme représentant les dissimilarités de compositions en acides aminés totaux des diètes d'élevages (distances de Bray-Curtis, liens moyens)

5. Discussion

5.1. Développement des micro-colonies

Ce travail a montré que le développement de *Bombus terrestris* est impacté par l'origine végétale du pollen. Ceci concorde avec de nombreuses études.

En particulier, la plupart des espèces herbacées testées dans cette étude ont donné d'assez mauvais résultats en termes de développement de *Bombus terrestris*, avec une plus faible production de couvain, un taux d'éjection larvaire plus élevé et une dynamique de croissance plus lente. Le pollen de tournesol (*Helianthus annuus*) a déjà été reporté comme soutenant peu la croissance des bourdons (Regali & Rasmont 1995; Tasei & Aupinel 2008a). De même, les pollens de pissenlit (*Taraxacum* sp.) et de cirse (*Cirsium* sp.) sont bien renseignés comme étant des ressources de pollen de mauvaise qualité, et sont même utilisés comme contrôles négatifs dans certains tests alimentaires (Génissel *et al.* 2002; Vanderplanck *et al.* 2016; Roger, Michez, *et al.* 2017). Ces espèces, si elles représentent une fraction majeure de l'alimentation en pollen des bourdons, semblent diminuer leur capacité de développement, ayant pour conséquences la formation de colonies plus petites et une production non-optimale des individus sexués, autant en termes de nombre qu'en termes de taille de ceux-ci, les individus plus petits ayant une probabilité de survie et de reproduction moins élevée (Ribeiro *et al.* 1996; Tasei & Aupinel 2008a; Vanderplanck, Moerman, *et al.* 2014).

D'autre part, la plupart des espèces ligneuses étudiées se sont révélées comme étant des ressources de pollen profitables pour le développement de *Bombus terrestris*. Le pollen de saule marsault (*Salix caprea*) est reconnu pour être une ressource de très bonne qualité pour les bourdons (Génissel *et al.* 2002; Vanderplanck, Moerman, *et al.* 2014; Moerman *et al.* 2015; Vanderplanck *et al.* 2016; Moerman *et al.* 2016; Roger, Moerman, *et al.* 2017; Roger, Michez, *et al.* 2017). Il est fréquemment utilisé comme contrôle positif de développement lors de tests alimentaires et représenterait une des seules ressources disponibles en début de saison, lors de l'émergence des reines après la diapause hivernale (Moquet *et al.* 2015). Le pollen du genre *Prunus* a été reporté comme étant encore meilleur que le celui du saule (Génissel *et al.* 2002) et le pollen du genre *Castanea* est également renseigné comme un bon support alimentaire à la croissance des bourdons (Tasei & Aupinel 2008a). De même, le pollen de fruitiers (majoritaire dans le Mélange Arbres) est reporté comme une bonne ressource (Ribeiro *et al.* 1996). Les pollens d'aubépine (*Crataegus monogyna*), des deux espèces de chênes (genre *Quercus*), de

bourdaine (*Rhamnus frangula*) et de saule fragile (*Salix fragilis*) ont montré dans cette étude des efficacités similaires (bien que plus variable dans le cas de *Quercus* sp.2, *Rhamnus frangula* et *Salix fragilis*) et semblent donc soutenir le développement de *Bombus terrestris* aussi bien que les trois essences déjà renseignées dans la littérature (i.e., *Salix*, *Prunus* et *Castanea*). Une efficacité pollinique similaire signifie que les bourdons sont aptes à produire une progéniture équivalente à partir d'une quantité de pollen donnée. Ces ligneux devraient donc être considérés comme des ressources de pollen de qualité pour les bourdons. En outre, d'autres espèces ligneuses tels le genêt à balais (*Cytisus scoparius*, Fabaceae) ou le sorbier des oiseleurs (*Sorbus aucuparia*, Malaceae) produisent également du pollen de qualité pour les bourdons (Vanderplanck, Moerman, et al. 2014; Moerman et al. 2017).

Néanmoins, certaines espèces herbacées représentent aussi de bonnes ressources pour *Bombus terrestris*. Les pollens de trèfle rampant (*Trifolium repens*) et du grand coquelicot (*Papaver rhoeas*) se sont démarqués des autres espèces herbacées de ce travail, leurs efficacités polliniques respectives égalant celles des espèces ligneuses susmentionnées. Le trèfle peut être qualifié de ressource en pollen de haute qualité (Vanderplanck et al. 2016; Roger, Moerman, et al. 2017), les espèces de la famille des Fabaceae représentant souvent d'excellentes sources de pollen pour les bourdons (Rasmont & Mersch 1988; Goulson et al. 2005). De même, l'efficacité du genre *Papaver* a été confirmée par plusieurs études, et semble comparable à celle de *Castanea* par exemple (Tasei & Aupinel 2008a; Baloglu & Gurel 2015). Par ailleurs, toutes les espèces ligneuses ne sont pas des ressources idéales. C'est notamment le cas du ciste (*Cistus* sp.). Cette espèce est l'espèce ligneuse la moins efficace de ce travail, ce qui est cohérent avec les observations de nombreuses études (Tasei & Aupinel 2008a; Vanderplanck, Moerman, et al. 2014; Baloglu & Gurel 2015; Moerman et al. 2015; Moerman et al. 2016; Vanderplanck et al. 2016; Roger, Moerman, et al. 2017; Roger, Michez, et al. 2017).

En plus de la quantité de progéniture produite et de l'efficacité pollinique, les paramètres de collecte des ressources sont aussi de bons indicateurs de développement des micro-colonies. Au niveau du pollen, les micro-colonies nourries avec *Trifolium repens*, *Salix caprea* et *Quercus* spp. ont collecté significativement plus de ressources que les autres diètes. Ces micro-colonies sont aussi celles qui ont produit la progéniture la plus abondante, et sont donc susceptibles de devoir nourrir plus d'individus. Cette hypothèse serait confirmée par le fait que les bourdons n'augmentent pas individuellement leur consommation en pollen pour compenser sa qualité (Vanderplanck, Moerman, et al. 2014). En outre, une augmentation de la consommation en pollen à l'échelle de la micro-colonie pour une diète de bonne qualité par

rapport à une diète plus pauvre a déjà été observée entre le colza et le tournesol (Regali & Rasmont 1995). Au niveau du sirop en revanche, ces micro-colonies nourries avec *Trifolium repens*, *Salix caprea* et *Quercus* spp. n'ont pas effectué de collectes exceptionnelles, alors que les micro-colonies nourries au pollen de *Prunus cerasus* et de *Castanea sativa* ont collecté significativement plus de ressources.

En conséquence, la dilution pollinique est très faible pour les diètes à base de *Salix caprea*, *Trifolium repens*, et *Quercus* sp.2 dans une moindre mesure. Par ailleurs, la dilution pollinique des autres espèces ligneuses (*e.g.*, *Cistus* sp., *Crataegus monogyna*, *Prunus cerasus*, *Salix fragilis*...) est significativement plus élevée, pour une production de couvain équivalente voire inférieure. Or la dilution pollinique est souvent attribuée à un stress alimentaire, puisque les bourdons peuvent compenser une diète à base de pollen de pauvre qualité par une augmentation de la consommation en sirop (Vanderplanck, Moerman, *et al.* 2014). Tandis que les diètes à base de *Salix caprea*, de *Trifolium repens* et de *Quercus* sp. semblent donc optimales (production de couvain importante en regard de la consommation en pollen et consommation en pollen importante en regard de la consommation en sirop), plusieurs espèces ligneuses semblent sub-optimales (production de couvain importante mais collecte de sirop augmentée). Ici réside d'ailleurs une différence significative au sein d'un même genre, la dilution sous *Salix fragilis* et bien supérieure à celle calculée sous *Salix caprea*. Néanmoins, même si la dilution pollinique est globalement supérieure pour l'ensemble des espèces ligneuses comparées aux espèces herbacées étudiées, ceci pourrait, dans ce cas-ci, être attribué à la consommation des larves, puisque leur abondance est également significativement supérieure dans les micro-colonies nourries aux pollens d'espèces ligneuses. En effet, si le nectar est un carburant majeur des adultes lors du vol (Heinrich 1979), les larves en nécessitent également pour leur croissance (Řehoř *et al.* 2014).

Les dynamiques de croissance globales de *Bombus terrestris* ont été significativement impactées par l'origine de la diète fournie. Une étude sur le même modèle n'a pas pu mettre en évidence de différence de développement entre (notamment) 10 micro-colonies nourries au pollen de ciste et 10 micro-colonies nourries au pollen de saule (Moerman *et al.* 2016). Mais cette étude n'a pas distingué les larves isolées des larves non-isolées dans son analyse, or il apparaît dans le présent travail que, si les proportions d'œufs et de larves non-isolées diffèrent peu d'une diète à l'autre, les proportions de larves isolées et de pupes sont discriminatoires, les micro-colonies à dynamique lente ayant produit peu ou pas de ces stades au bout des 19 jours d'expérimentation. De surcroît, la proportion de larves isolées semble aussi être un facteur de

discrimination entre les espèces ligneuses et les espèces herbacées, puisqu'elle représente plus de 20% de la progéniture de la plupart des ligneux testés, tandis qu'elle ne dépasse pas 10% pour la majorité des espèces herbacées. L'atténuation de ce critère de variation par un stade relativement stable aurait pu masquer en partie le signal dans cette étude.

5.2. Composition chimique des pollens

Les résultats de cette étude montrent que les contenus en acides aminés totaux et essentiels présentent des variations interspécifiques significatives. Plusieurs hypothèses ont été avancées pour expliquer cette variabilité : le syndrome de pollinisation et l'impact de la relation plante-pollinisateur ; le rôle reproducteur du pollen et l'impact de la longueur du style ; et le lien de parenté entre les plantes, avec l'impact de la phylogénie (Roulston *et al.* 2000). Il apparaît que le pollen médié par un vecteur oligolectique (spécialiste) contient moins d'acides aminés essentiels que le pollen des plantes dont la reproduction sexuée n'est assurée que par des pollinisateurs polylectiques (généralistes) (Weiner *et al.* 2010). Ceci irait en faveur de la première hypothèse. Mais cette relation plantes-pollinisateurs n'explique pas tout. Par exemple, le pollen de maïs (*Zea mays*), espèce pollinisée par le vent, a une composition en acides aminés totaux et essentiels similaire à celle de plusieurs espèces entomophiles (*e.g.*, *Helianthus annuus*, *Taraxacum* sp., *Cistus* sp.) (voir Table 3). Comme discuté précédemment, ces essences sont des ressources de pauvre qualité pour les bourdons, et certains auteurs font un lien direct entre une faible abondance de protéines dans un pollen et un faible développement de bourdons nourris avec ce pollen (Regali & Rasmont 1995; Moerman *et al.* 2015). Uniquement sur base de leur contenu en protéines, le pollen de *Trifolium repens* est considéré comme une diète de bonne qualité alors que les pollens de *Cirsium vulgare*, *Salix fragilis*, *Zea mays* et *Helianthus annuus* sont vus comme des mauvaises ressources (Somerville & Nicol 2006). Ceci concorde avec le fait que la plupart des espèces du présent travail à contenus en acides aminés importants sont aussi les espèces ayant permis une importante production de couvain et une haute dynamique de croissance de *Bombus terrestris* (*e.g.*, *Crataegus monogyna*, *Trifolium repens*, *Papaver rhoeas*, *Prunus cerasus*, Mélange Arbres, *Salix caprea*...). Un pollen profitable pour les abeilles contient leurs acides aminés essentiels en quantité importante (Cook *et al.* 2003), or les espèces ligneuses de cette étude contiennent globalement une plus grande proportion d'acides aminés essentiels que les espèces herbacées, suggérant pour les espèces entomophiles un meilleur investissement de la plante pour son pollinisateur. Alors que le pollen brut de pissenlit soutient mal la croissance des abeilles, ce même pollen supplémenté avec des acides aminés

spécifiques permet le développement du couvain chez *Apis mellifera* (Herbert *et al.* 1970). Ceci démontre l'importance des acides aminés dans la caractérisation de la qualité d'un pollen donné.

Mais cette tendance est discutable sur plusieurs aspects. Tout d'abord, le pollen de *Crataegus monogyna* a été révélé dans cette étude comme un pollen exceptionnellement riche en acides aminés totaux et essentiels ; néanmoins, ce n'est pas une ressource exceptionnelle comparée à d'autres pollens moins riches en acides aminés. Ensuite, le pollen de *Cirsium* sp. apparaît plus riche en acides aminés totaux et essentiels que plusieurs pollens d'espèces ligneuses (*e.g.*, *Castanea sativa*, *Quercus* spp., *Rhamnus frangula*...) pourtant renseignés comme étant des diètes de meilleure qualité. Enfin, aucune tendance en termes de profil chimique et de contenu absolu en acides aminés n'a été détectée entre les espèces ligneuses et les espèces herbacées de cette étude, ce qui va à l'encontre de la plupart des paramètres de développement. Il apparaît donc d'une part, que la relation plante-insecte n'est pas le principal facteur influençant le contenu en protéines d'un pollen donné : les besoins physiologiques liés au rôle reproductif du pollen priment sur cette interaction (Roulston *et al.* 2000), conférant au règne végétal une certaine homogénéité dans la composition en acides aminés des pollens de chaque espèce. Et d'autre part, que le contenu en acides aminés n'est pas le seul facteur de qualité d'un pollen, permettant donc à un pollen plus pauvre en acides aminés de représenter une ressource plus profitable qu'un autre pollen, pourtant plus riches en acides aminés. En outre, la forme sous laquelle ces acides aminés se présentent est également importante, les acides aminés libres étant souvent associées à un moins bon développement des bourdons (Vanderplanck, Moerman, *et al.* 2014).

La qualité des stérols présents dans le pollen joue également un rôle sur sa qualité chimique. Certains, comme le β -sitostérol ou le 24-méthylènecholéstérol, sont positivement associés au développement des bourdons (Rasmont *et al.* 2005; Vanderplanck, Moerman, *et al.* 2014) alors que d'autres, comme les δ^7 -stérols, sont potentiellement toxiques pour les insectes (Behmer & Nes 2003). Les pollens de nombreuses espèces de la famille des Asteraceae contiennent de forte quantité de ces stérols délétères (Vanderplanck 2013), mais des analyses approfondies de la teneur en stérols des diètes étudiées dans le présent travail apporterait plus de précisions sur ce facteur crucial de qualité chimique.

Au-delà de la qualité nutritionnelle, certains pollens peuvent être protégés chimiquement ou mécaniquement ; ces traits permettent aux plantes de limiter la consommation de pollen par les pollinisateurs (Praz *et al.* 2008; Sedivy *et al.* 2011). Ces protections permettent aux espèces

végétales d'allouer moins d'énergie à la production de pollen sans compromettre leur propre reproduction sexuée. Ceci suggère que les espèces produisant de larges quantités de pollen, comme c'est le cas de plusieurs ligneux (Baude *et al.* 2016; Somme *et al.* 2016) devraient produire un pollen plus digeste.

Par ailleurs, la présence de composés secondaires dans un pollen peut représenter un facteur limitant la croissance des bourdons s'en nourrissant. Plusieurs familles d'Angiospermes sont reconnues pour en synthétiser, notamment les Asteraceae, Fabaceae et Ranunculaceae (Hartmann & Ober 2000; Anke *et al.* 2004) et certains ligneux (Ugale & Tidke 2017). Ces molécules peuvent être de natures très variables et mettre en œuvre des voies métaboliques complexes.

Un autre facteur de développement est la digestibilité du pollen : le contenu en nutriments peut être de bonne qualité, si les abeilles ne savent le récupérer, leur développement n'en profitera pas. Le pollen de pissenlit, par exemple, a été reporté comme partiellement indigeste pour l'abeille mellifère (Peng *et al.* 1985; Roulston & Cane 2000). Les nutriments d'un grain de pollen sont pour la plupart confinés dans le protoplasme, derrière deux couches protectrices, l'intine et l'exine (Suárez-Cervera *et al.* 1994). Pour extraire ces nutriments par les pores du grain, les abeilles doivent dégrader l'intine, alors l'exine reste souvent inchangée après digestion (Suárez-Cervera *et al.* 1994). Ce critère de digestibilité n'explique pas tous les résultats de cette étude. Par exemple, les pollens de *Quercus* et de *Prunus* sont reportés comme arborant une paroi épaisse, difficile à digérer comparé au pollen de *Cistus* et de *Sonchus* (Suárez-Cervera *et al.* 1994). Or ces deux ressources soutiennent mieux le développement de *Bombus terrestris* que le pollen de ciste ou d'Asteraceae.

Si des protections chimiques et physiques du pollen ont été soulignées chez de nombreuses espèces herbacées, notamment des Asteraceae (Müller & Kuhlmann 2008), ce genre de protections se retrouve donc également chez certaines espèces ligneuses. Des études supplémentaires sur les diètes testées dans ce travail sont nécessaires pour en qualifier la digestibilité et en déterminer les éventuelles compositions en alcaloïdes, saponines, lactones sesquiterpéniques, etc.

5.3. Implications en conservation des espèces

Les pollens testés étaient des essences végétales collectées en abondance par des abeilles mellifères en milieux naturels, ils reflètent donc partiellement les ressources disponibles dans l'environnement. Sur cet échantillonnage non aléatoire - puisque sélectionné par des

pollinisateurs - la majeure partie des espèces herbacées représentées produit un pollen de pauvre qualité nutritive pour *Bombus terrestris*. Dans ces milieux, l'obtention de pollen de qualité à partir d'espèces ligneuses semble donc plus probable.

L'aménagement de ressources en pollen disponibles pour les bourdons ne serait vraiment profitable que si le pollen fournit peut soutenir le développement des espèces ciblées (Sutter *et al.* 2017). Il apparaît que, si les espèces végétales sont judicieusement choisies, plusieurs objectifs distincts de la restauration des habitats - notamment, la restauration des services écosystémiques d'une part, et le soutien des populations d'espèces rares d'autre part - pourraient être remplis simultanément (Pywell *et al.* 2012; Scheper *et al.* 2015; Sutter *et al.* 2017). Jusqu'ici, la plupart des études sur le sujet se sont concentré sur des plantations d'espèces herbacées, les espèces ligneuses n'étant même pas abordées (Blaauw & Isaacs 2014; Barbir *et al.* 2015; Williams *et al.* 2015; Grass *et al.* 2016; Hicks *et al.* 2016; Pérez-Marcos *et al.* 2017). Cette étude, tout comme d'autres (Dubois 2015; Hausmann *et al.* 2016; Somme *et al.* 2016), tente de mettre en évidence l'intérêt de toute une série d'espèces ligneuses dans ce contexte de conservation des pollinisateurs.

Néanmoins, une composition chimique favorable du pollen et un bon soutien du développement de *Bombus terrestris* ne fait pas nécessairement d'une espèce un candidat idéal pour ce genre de mesure. D'autres paramètres sont à prendre en compte *in natura*, telle que l'attractivité, l'accessibilité, la phénologie et la quantité des ressources florales. D'autres ressources que le pollen seraient aussi à prendre en compte, tel que la production de nectar et l'apport de sites de nidification.

L'attractivité, dans le cadre de la collecte du pollen, est liée en partie à sa composition chimique : les abeilles peuvent détecter la qualité chimique des pollens, et ajustent leur butinage en fonction de leurs besoins en protéines et en lipides (Vaudo *et al.* 2016). Mais cette attractivité varie d'une espèce à l'autre, et certaines espèces peuvent porter préjudice aux abeilles sauvages en étant seulement attractives pour les abeilles domestiques (Sutter *et al.* 2017).

L'accessibilité des ressources dépend majoritairement de la morphologie florale, les espèces zygomorphes étant plus difficiles à manipuler. Même si les bourdons sont adaptés à l'extraction de ressources depuis des fleurs à morphologie complexe, cette manipulation peut s'avérer plus coûteuse en énergie que l'exploitation de fleurs simples (Heinrich 1979). La densité florale peut être mise en parallèle avec l'accessibilité des ressources, puisque la distance à franchir entre deux unités florales augmente également le coût énergétique de la collecte (Heinrich 1979). La

plupart des fleurs des espèces ligneuses étudiées ici sont des fleurs simples, et un seul individu en comporte souvent beaucoup (Somme *et al.* 2016), résultant en une concentration de ressources faciles à exploiter pour les abeilles.

Les questions de phénologie et de disponibilité en nectar requièrent une attention particulière. Les espèces considérées dans cette étude, même lorsqu'elles ne diffèrent pas en termes de qualité chimique ou de soutien au développement de *Bombus terrestris*, ne sont pas équivalentes, et sont potentiellement complémentaires en termes d'exploitation des ressources (*e.g.*, *Salix* et *Trifolium* ne fleurissent pas en même temps). De même, il ne serait pas toujours intéressant, au niveau de la gestion des espaces, de remplacer une espèce produisant un pollen de faible qualité par une autre espèce, produisant un pollen de haute qualité. La raison en est simple : si certaines espèces - et c'est le cas de nombreuses Asteraceae - ne représentent pas des sources en pollen viables, elles peuvent représenter des sources en nectar non négligeable, et leur exploitation par les pollinisateurs se fait donc en parallèle avec leur exploitation des espèces à pollen riches en acides aminés. Cette complémentarité fonctionnelle agit à plusieurs niveaux, de la communauté à l'individu, et concerne autant les plantes que les pollinisateurs (Blüthgen & Klein 2011). Par ailleurs, ces derniers ont tendance à mélanger dans leur alimentation les ressources disponibles en pollen, ce qui permet en outre d'atténuer l'effet délétère des pollens toxiques et de compléter les pollens les plus pauvres, tout en permettant néanmoins l'exploitation de ces ressources de moins bonne qualité (Eckhardt *et al.* 2014). Ceci illustre donc l'importance de la biodiversité végétale pour le maintien des pollinisateurs. De surcroît, les résultats d'élevage de micro-colonies sur diètes d'origine ligneuse a révélé que, dans beaucoup de cas, la consommation en sirop était importante en comparaison de la consommation en pollen de ces arbres. Puisque le sirop est un équivalent artificiel du nectar fourni par les plantes, l'occurrence de ces arbres, sources abondantes de pollen soutenant bien le développement des bourdons, devrait idéalement se faire en cooccurrence avec des sources abondantes de nectar, comme c'est le cas de nombreuses espèces herbacées.

Un autre aspect important à prendre en compte est la réalité du terrain : les zones pouvant être consacrées à des mesures de stratégie d'atténuation consistant à y agencer des ressources florales ne sont pas toujours appropriées pour des espèces ligneuses atteignant des tailles potentiellement importantes et nécessitant un espace non négligeable. De nombreuses marges de champs ou bordures de routes sont en fait assez étroites, parfois inclinées et/ou creusées par un ravin (observation personnelle). Ces zones ne peuvent donc accueillir n'importe quelle espèce végétale. La qualité du sol et les conditions d'ensoleillement devraient également être

prises en compte. De plus, les espèces choisies dans le cadre de la restauration des habitats devraient idéalement avoir bonnes capacités de dispersion et de colonisation, ainsi que de régénération végétative rapide et un caractère compétitif envers les autres espèces (Pywell *et al.* 2003). Certaines espèces étudiées dans ce travail (*e.g.*, *Quercus* spp.) sont loin d'être des espèces pionnières, nécessitent beaucoup d'espace et ont une croissance lente, impliquant qu'ils ne seront valorisables que plusieurs années après leur agencement. Ces traits n'en font pas forcément des espèces de choix en termes de restauration des habitats. Néanmoins, plusieurs espèces d'ornement - parfois de grandes tailles - abondent réellement en ville (Somme *et al.* 2016), suggérant donc que leur mise en place n'est pas du tout inconcevable.

Ce travail ne prétend pas vouloir faire remplacer toutes les bandes fleuries par des rangées d'arbres. Ces ressources jouent très probablement des rôles complémentaires, et la perte d'une espèce au profit d'une autre est sans doute moins profitable que l'ajout d'espèces à la matrice paysagère. Il serait donc intéressant d'aménager ces espèces ligneuses sur seulement une partie du territoire, et d'augmenter ainsi la biodiversité végétale et la variabilité des ressources disponibles pour les pollinisateurs. Les contraintes associées à l'espace requis pour l'aménagement de ces espèces ne posent donc pas de problème majeur : les zones adéquates pourraient accueillir des espèces ligneuses judicieusement choisies, alors que les zones plus restreintes pourraient supporter des espèces herbacées annuelles et/ou vivaces, qui requièrent moins d'espace pour leur développement.

Conclusion

Cette étude confirme, si cela était encore nécessaire, l'existence d'une variabilité interspécifique de la qualité des pollens, autant sur le plan du soutien au développement de *Bombus terrestris* que sur le plan chimique.

Toutes les espèces ligneuses testées (excepté *Cistus* sp.) représentent des ressources en pollen de bonne qualité, permettant une croissance normale d'un pollinisateur généraliste, au prix cependant d'une augmentation de la consommation en sirop pour certaines d'entre elles. Ces ressources ont permis une dynamique de croissance normale des micro-colonies de *Bombus terrestris*, avec une proportion élevée de larves en fin de croissance au bout des 19 jours d'élevage. En revanche, le pollen de la plupart des espèces herbacées étudiées dans ce travail n'a mené qu'à un faible développement du couvain, combiné à un taux de mortalité larvaire significativement supérieur pour les micro-colonies nourries aux pollens de *Cirsium* sp. et de *Taraxacum* sp. Même si certaines espèces herbacées (à savoir, *Trifolium repens* et *Papaver*

rhoeas) ont révélé des performances similaires à celles des ressources ligneuses, ces dernières ont globalement mieux soutenu la croissance de *Bombus terrestris*. En effet, les micro-colonies nourries avec du pollen d'origine ligneuse ont produit un couvain significativement plus important en regard de la consommation en pollen que les micro-colonies nourries avec du pollen produit par des herbacées.

En parallèle, les analyses des contenus en acides aminés totaux et essentiels n'ont pas révélé de tendance aussi claire entre les espèces ligneuses et les espèces herbacées. Le pollen de *Crataegus monogyna* a été détecté comme bien plus riche en acides aminés que celui de toutes les autres diètes testées. En outre, un contenu élevé en acides aminés a été relevé, dans une moindre mesure, pour la plupart des pollens ayant permis un bon développement de *Bombus terrestris*, c'est-à-dire deux espèces herbacées et cinq espèces ligneuses. Certains pollens font néanmoins exception à cette règle, notamment le pollen de *Cirsium* sp., au contenu en acides aminés élevé mais à l'efficacité pollinique faible. Ce résultat peut sans doute être attribué à d'autres composantes du pollen, telles la composition en stérols, la présence de métabolites secondaires, ou la digestibilité des grains de pollens. En conséquence, le type biologique des espèces étudiées n'a eu une influence significative que sur le contenu relatif en acides aminés essentiels, qui suggère une composition plus favorable du pollen des espèces ligneuses mais un profil en acides aminés assez stable dans le pollen des espèces testées, suggérant que la fonction reproductrice du pollen prime à ce niveau-ci sur le syndrome de pollinisation.

Ces résultats permettent sans doute d'affirmer que les pollens de plusieurs espèces ligneuses seraient susceptibles de représenter des ressources valorisables pour les espèces d'abeilles généralistes. Ceci devrait être pris en compte dans le contexte de la restauration des ressources en écosystèmes perturbés par les activités humaines. La présence d'arbres d'ornement judicieusement sélectionnés pourrait favoriser l'abondance et la richesse de certains pollinisateurs sauvages à proximité des champs, prairies, routes et villes.

Perspectives

De nombreux aspects de la question posée pourraient encore être explorés.

Les extractions des contenus en stérols des 18 diètes polliniques ont été réalisées, mais les résultats n'ont pas pu être présentés dans le présent travail. L'étude d'autres nutriments et de composés secondaires, en même temps qu'une analyse de digestibilité des pollens, augmenterait notre caractérisation de la qualité de ces pollens.

Il serait également intéressant de tester d'autres modèles de plantes et d'abeilles, en vue de représenter au mieux les conditions naturelles en termes de biodiversité.

Le pollen est une ressource majeure pour les abeilles, mais d'autres ressources mériteraient aussi d'être étudiées, séparément dans un premier temps, puis en relation avec les résultats présentés dans cette étude. La qualité des nectar, huiles, parfums, résines et autres matériaux de nidification pourrait être évaluée pour chaque espèce, puis comparée pour chaque type biologique. La phénologie des espèces et leurs exigences en termes d'ensoleillement et de qualité du sol pourraient également être explorés. Des études plus poussées sur la complémentarité des ressources pourrait alors être tracées. En ressortirait des combinaisons d'espèces complémentaires pour les visiteurs floraux et compatibles dans un même milieu.

La dernière étape serait l'inventoriage et la caractérisation à plusieurs niveaux des zones à aménager. Idéalement, la faune locale déjà présente devrait être considérée, avec une attention particulière allouée aux besoins de ces espèces. Tous ceci permettrait la mise en place concrète de ressources avisées, qui viendraient atténuer l'impact des activités anthropiques sur les populations d'abeilles.

Références

- Ahrné, K., Bengtsson, J. & Elmqvist, T., 2009.** Bumble Bees (*Bombus* spp) along a Gradient of Increasing Urbanization. *PLoS ONE*, 4(5), pp.1–9.
- Aizen, M.A. & Harder, L.D., 2009.** The Global Stock of Domesticated Honey Bees Is Growing Slower Than Agricultural Demand for Pollination. *Current Biology*, 19(11), pp.915–918.
- Alaux, C. et al., 2010.** Diet effects on honeybee immunocompetence. *Biology Letters*, 6(4), pp.562–565.
- Alaux, C. et al., 2010.** Interactions between *Nosema* microspores and a neonicotinoid weaken honeybees (*Apis mellifera*). *Environmental Microbiology*, 12(3), pp.774–782.
- Albrecht, M. et al., 2012.** Diverse pollinator communities enhance plant reproductive success. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 279(1748), pp.4845–4852.
- Allen-Wardell, G. et al., 1998.** The potential consequences of pollinator declines on the conservation of biodiversity and stability of fruit crop yields. *The Forgotten Pollinators Campaign*, 12(1), pp.8–17.

- Amdam, G.V. et al., 2004.** Altered Physiology in Worker Honey Bees (Hymenoptera: Apidae) Infested with the Mite *Varroa destructor* (Acari: Varroidae): A Factor in Colony Loss During Overwintering? *Journal of economic entomology*, 97(3), pp.1086–1095.
- Anderson, T.M., 2012.** Plant-Animal Interactions. , pp.298–301.
- Anke, S. et al., 2004.** Polyphyletic Origin of Pyrrolizidine Alkaloids within the Asteraceae. Evidence from Differential Tissue Expression of Homospermidine Synthase. *Plant Physiol.*, 136(4), pp.4037–4047.
- Baldock, K.C.R. et al., 2015.** Where is the UK's pollinator biodiversity? The importance of urban areas for flower-visiting insects. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 282(1803), pp.20142849–20142849.
- Baloglu, G.H. & Gurel, F., 2015.** The effects of pollen protein content on colony development of the bumblebee, *Bombus terrestris* l. *Journal of Apicultural Science*, 59(1), pp.83–88.
- Barbir, J. et al., 2015.** The attractiveness of flowering herbaceous plants to bees (Hymenoptera: Apoidea) and hoverflies (Diptera: Syrphidae) in agro-ecosystems of Central Spain. *Agricultural and Forest Entomology*, 17(1), pp.20–28.
- Bates, A.J. et al., 2011.** Changing bee and hoverfly pollinator assemblages along an urban-rural gradient. *PLoS ONE*, 6(8), pp.1–11.
- Baude, M. et al., 2016.** Historical nectar assessment reveals the fall and rise of floral resources in Britain. *Nature*, 530(7588), pp.85–88.
- Beekman, M. & van Stratum, P., 1998.** Bumblebee sex ratios: why do bumblebees produce so many males? *Proceedings of the Royal Society of London*, 265(1405), pp.1535–1543.
- Behmer, S.T. & Nes, D.W., 2003.** Insect Sterol Nutrition and Physiology: A Global Overview, *Advances in Insect Physiology*, 31(03), pp.1-72
- Biesmeijer, J.C. et al., 2006.** Parallel Declines in Pollinators and Insect-Pollinated Plants in Britain and the Netherlands. , 313(July), pp.351–354.
- Blaauw, B.R. & Isaacs, R., 2014.** Flower plantings increase wild bee abundance and the pollination services provided to a pollination-dependent crop. *Journal of Applied Ecology*, 51(4), pp.890–898.

- Blüthgen, N. & Klein, A.-M., 2011.** Functional complementarity and specialisation: The role of biodiversity in plant–pollinator interactions. *Basic and Applied Ecology*, 12, pp.282–291.
- Bosch, J. & Kemp, W.P., 2002.** Developing and establishing bee species as crop pollinators: the example of *Osmia* spp. (Hymenoptera: Megachilidae) and fruit trees. *Bulletin of entomological research*, 92(1), pp.3–16.
- Breeze, T. et al., 2011.** Pollination services in the UK: How important are honeybees?’ *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 142, pp.137–143.
- Brünjes, L. et al., 2016.** Bee pollinators of faba bean (*Vicia faba* L.) differ in their foraging behavior and pollination probability.
- Calderone, N.W., 2012.** Insect pollinated crops, insect pollinators and US agriculture: Trend analysis of aggregate data for the period 1992-2009. *PLoS ONE*, 7(5), pp.24–28.
- Cameron, S.A. et al., 2011.** Patterns of widespread decline in North American bumble bees. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(2), pp.662–667.
- Cane, J.H., 1997.** Ground-Nesting Bees: the Neglected Pollinator Resource for Agriculture. *Acta Horticulturae*, (437), pp.309–324.
- Cane, J.H. & Tepedino, V.J., 2016.** Gauging the Effect of Honey Bee Pollen Collection on Native Bee Communities. *Conservation Letters*, 0(May), pp.1–6.
- Carvalho, L.G. et al., 2013.** Species richness declines and biotic homogenisation have slowed down for NW-European pollinators and plants. *Ecology Letters*, 16(7), pp.870–878.
- Carvell, C. et al., 2006.** Declines in forage availability for bumblebees at a national scale. *Biological Conservation*, 132(4), pp.481–489.
- Cook, S.M. et al., 2003.** Are honey bees’ foraging preferences affected by pollen amino acid composition? *Ecological Entomology*, 28(5), pp.622–627.
- Coppée, A. et al., 2008.** Intraspecific variation of the cephalic labial gland secretions in *Bombus terrestris* (L.) (Hymenoptera: Apidae). *Chemistry & biodiversity*, 5(12), pp.2654–2661.

- Costanza, R. et al., 1997.** The value of the world's ecosystem services and natural capital. *Nature*, 387.
- Couvillon, M.J. & Dornhaus, A., 2010.** Small worker bumble bees (*Bombus impatiens*) are hardier against starvation than their larger sisters. *Insectes Sociaux*, 57(2), pp.193–197.
- Czech, B., Krausman, P.R. & Devers, P.K., 2000.** Economic associations among causes of species endangerment in the United States. *BioScience*, 50(7), pp.593–601.
- Daily, G.C., 1997.** Nature's services: societal dependence on natural ecosystems
- Danforth, B.N. et al., 2006.** The history of early bee diversification based on five genes plus morphology. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(41), pp.15118–23.
- Danforth, B.N. et al., 2013.** The Impact of Molecular Data on Our Understanding of Bee Phylogeny and Evolution. *Annual Review of Entomology*, 58(1), pp.57–78.
- Danner, N., Härtel, S. & Steffan-Dewenter, I., 2014.** Maize pollen foraging by honey bees in relation to crop area and landscape context. *Basic and Applied Ecology*, 15(8), pp.677–684.
- Declèves, S., 2014.** Qualité diététique du pollen : le paradoxe des Asteraceae. *Université de Mons, Laboratoire de Zoologie*.
- De Groot, A.P., 1953.** Protein and Amino Acids Requirements of the Honeybee (*Apis mellifera* L.). *Physiol. Comp. Oecol*, 3, pp.197–285.
- Diekötter, T. et al., 2010.** Oilseed rape crops distort plant-pollinator interactions. *Journal of Applied Ecology*, 47(1), pp.209–214.
- Djegham, Y., Verhaeghe, J.C. & Rasmont, P., 1994.** Copulation of *Bombus terrestris* L. (Hymenoptera: Apidae) in captivity. *Journal of Apicultural Research*, 33(1), pp.15–20.
- Dubois, A., 2015.** Etude de l'intérêt nutritionnel du pollen de certains arbres sur le développement d'abeilles sauvages.
- Duchateau, M.J. & Velthuis, H.H.W., 1989.** Ovarian Development and Egg-laying In Workers of *Bombus-terrestris*. *Entomol Exp Appl*, 51(3), pp.199–213.

- Easterling, D.R. et al., 2000.** Climate Extremes: Observations, Modeling, and Impacts. *Science*, 289(5487), pp.2068–2074.
- Ebeling, A. et al., 2008.** How does plant richness affect pollinator richness and temporal stability of flower visits? *Oikos*, 117(12), pp.1808–1815.
- Eckhardt, M. et al., 2014.** Pollen mixing in pollen generalist solitary bees: a possible strategy to complement or mitigate unfavourable pollen properties? *Journal of Animal Ecology*, 83(3), pp.588–597.
- Eremeeva, N.I. & Sushchev, D. V., 2005.** Structural changes in the fauna of pollinating insects in urban landscapes. *Russian Journal of Ecology*, 36(4), pp.259–265.
- Esterio, G. et al., 2013.** Assessing the impact of the invasive buff-tailed bumblebee (*Bombus terrestris*) on the pollination of the native Chilean herb *Mimulus luteus*. *Arthropod-Plant Interactions*, 7(4), pp.467–474.
- Estoup, A. et al., 1995.** Monoandry and polyandry in bumble bees (Hymenoptera; Bombinae) as evidenced by highly variable microsatellites. *Molecular Ecology*, 4, pp.89–93.
- Fitzpatrick, Ú. et al., 2007.** Rarity and decline in bumblebees - A test of causes and correlates in the Irish fauna. *Biological Conservation*, 136(2), pp.185–194.
- Foley, J.A. et al., 2005.** Global Consequences of Land Use. *Science*, 309(5734), pp.570–574.
- Fontaine, C. et al., 2006.** Functional diversity of plant-pollinator interaction webs enhances the persistence of plant communities. *PLoS Biology*, 4(1), pp.0129–0135.
- Foulis, E. & Goulson, D., 2014.** Commercial bumble bees on soft fruit farms collect pollen mainly from wildflowers rather than the target crops. *Journal of Apicultural Research*, 53(3), pp.404–407.
- Fürst, M. a. et al., 2014.** Disease associations between honeybees and bumblebees as a threat to wild pollinators. *Nature*, 506(7488), pp.364–366.
- Gallai, N. et al., 2009.** Economic valuation of the vulnerability of world agriculture confronted with pollinator decline. *Ecological Economics*, 68(3), pp.810–821.
- Garibaldi, L.A. et al., 2014.** From research to action: Enhancing crop yield through wild pollinators. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 12(8), pp.439–447.

- Garibaldi, L.A. et al., 2013.** Wild Pollinators Enhance Fruit Set of Crops Regardless of Honey Bee Abundance. *Science*, 339(6127), pp.1608–1611.
- Génissel, A. et al., 2002.** Influence of pollen origin on performance of *Bombus terrestris* micro-colonies. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 104, pp.329–336.
- Gill, R.J. & Raine, N.E., 2014.** Chronic impairment of bumblebee natural foraging behaviour induced by sublethal pesticide exposure. *Functional Ecology*, 28(6), pp.1459–1471.
- Godfray, H.C.J. et al., 2014.** A restatement of the natural science evidence base concerning neonicotinoid insecticides and insect pollinators. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 281(1786), p.20140558.
- Goulson, D. et al., 2015.** Bee declines driven by combined stress from parasites, pesticides, and lack of flowers. *ScienceExpress*, (February), pp.1–16.
- Goulson, D., 2010.** Bumblebees Behavior, Ecology, and Conservation, 2nd Edition
- Goulson, D. et al., 2005.** Causes of rarity in bumblebees. *Biological Conservation*, 122(1), pp.1–8.
- Goulson, D. et al., 2002.** Colony growth of the bumblebee, *Bombus terrestris*, in improved and conventional agricultural and suburban habitats. *Oecologia*, 130(2), pp.267–273.
- Goulson, D. & Hughes, W.O.H., 2015.** Mitigating the anthropogenic spread of bee parasites to protect wild pollinators. *Biological Conservation*, 191(November), pp.10–19.
- Grass, I. et al., 2016.** Much more than bees - Wildflower plantings support highly diverse flower-visitor communities from complex to structurally simple agricultural landscapes. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 225(September), pp.45–53.
- Habryka, C., Kruczek, M. & Drygas, B., 2016.** Bee products used in apitherapy. *World Scientific News*, 48, pp.254–258
- Haider, M., Dorn, S. & Müller, A., 2013.** Intra- and interpopulational variation in the ability of a solitary bee species to develop on non-host pollen: Implications for host range expansion. *Functional Ecology*, 27(1), pp.255–263.
- Hanley, M.E. et al., 2008.** Breeding system, pollinator choice and variation in pollen quality in British herbaceous plants. *Functional Ecology*, 22(4), pp.592–598.

- Hannon, L.E. & Sisk, T.D., 2009.** Hedgerows in an agri-natural landscape: Potential habitat value for native bees. *Biological Conservation*, 142(10), pp.2140–2154.
- Harrison, T. & Winfree, R., 2015.** Urban drivers of plant-pollinator interactions. *Functional Ecology*, 29(7), pp.879–888.
- Hartmann, T. & Ober, D., 2000.** Biosynthesis and metabolism of pyrrolizidine alkaloids in plants and specialized insect herbivores. *Topics in Current Chemistry*, 209, pp.208–243.
- Hausmann, S.L., Petermann, J.S. & Rolff, J., 2016.** Wild bees as pollinators of city trees. *Insect Conservation and Diversity*, 9(2), pp.97–107.
- Heinrich, B., 1979.** Bumblebee Economics, Cambridge, Massachusetts, and London: Harvard University Press.
- Herbert, E.W., Bickley, W.E. & Shimanuki, H., 1970.** The Brood-Rearing Capability of Caged Honey Bees Fed Dandelion and Mixed Pollen Diets. *Journal of Economic Entomology*, 63(1), pp.215–218.
- Hernandez, J.L., Frankie, G. & Thorp, R.W., 2009.** Ecology of Urban Bees: A Review of Current Knowledge and Directions for Future Study. *Cities and the Environment*, 2(1), pp.360–376.
- Hicks, D.M. et al., 2016.** Food for pollinators: Quantifying the nectar and pollen resources of urban flower meadows. *PLoS ONE*, 11(6), pp.1–37.
- Hirata, H. et al., 2016.** Specific IgE sensitization to honey bee venom and auto-injector adrenaline prescriptions for Japanese beekeepers. *Allergology International*, pp.1–3.
- Hülsmann, M. et al., 2015.** Plant diversity and composition compensate for negative effects of urbanization on foraging bumble bees. *Apidologie*, 46(6), pp.760–770.
- Isaacs, R. et al., 2009.** Maximizing arthropod-mediated ecosystem services in agricultural landscapes: The role of native plants. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 7(4), pp.196–203.
- James, R.R. & Pitts-Singer, T.L., 2008.** Bee Pollination in Agricultural Ecosystems, Oxford University Press, Inc.
- Jauker, B. et al., 2013.** Linking life history traits to pollinator loss in fragmented calcareous grasslands. *Landscape Ecology*, 28(1), pp.107–120.

- Kämper, W. et al., 2016.** How landscape, pollen intake and pollen quality affect colony growth in *Bombus terrestris*. *Landscape Ecology*, pp.1–14.
- Karl, T.R. & Trenberth, K.E., 2003.** Modern Global Climate Change. *Science*, 302(2003), pp.1719–1723.
- Kearns, C.A. & Inouye, D.W., 1997.** Pollinators, flowering plants, and conservation biology. *BioScience*, 47(5), pp.297–307.
- Kerr, J.T. et al., 2015.** Climate change impacts on bumblebees converge across continents. *Science*, 349(6244), pp.177–180.
- Kleijn, D. et al., 2008.** A retrospective analysis of pollen host plant use by stable and declining bumble bee species. *Ecology*, 89(7), pp.1811–23.
- Kleijn, D. et al., 2015.** Delivery of crop pollination services is an insufficient argument for wild pollinator conservation. *Nature Communications*, 6(May 2015), p.7414.
- Kleijn, D. & Sutherland, W.J., 2003.** How effective are European agri-environment schemes in conserving and promoting biodiversity? *Journal of Applied Ecology*, 40(6), pp.947–969.
- Klein, A.-M. et al., 2007.** Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. *Proceedings. Biological sciences / The Royal Society*, 274(1608), pp.66, 95–96, 191.
- Kosior, A. et al., 2007.** The decline of the bumble bees and cuckoo bees (Hymenoptera: Apidae: Bombini) of Western and Central Europe. *Oryx*, 41(1), p.79.
- Kremen, C. et al., 2007.** Pollination and other ecosystem services produced by mobile organisms: A conceptual framework for the effects of land-use change. *Ecology Letters*, 10(4), pp.299–314.
- Kriesell, L., Hilpert, A. & Leonhardt, S.D., 2016.** Different but the same: bumblebee species collect pollen of different plant sources but similar amino acid profiles. *Apidologie*, (Michener 2007).
- Le Conte, Y. & Navajas, M., 2008.** Climate change : impact on bee populations and their illnesses. *Revue Scientifique Et Technique-Office International Des Epizooties*, 27(2), pp.485–497.

- Lebuhn, G. et al., 2012.** Detecting Insect Pollinator Declines on Regional and Global Scales. *Conservation Biology*, pp.1–8.
- Leonhardt, S.D. & Blüthgen, N., 2012.** The same, but different: Pollen foraging in honeybee and bumblebee colonies. *Apidologie*, 43(4), pp.449–464.
- Liolios, V. et al., 2015.** Ranking pollen from bee plants according to their protein contribution to honey bees. *Journal of Apicultural Research*, 54(5), pp.582–592.
- 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, pp.14–17.
- López-Uribe, M.M. et al., 2016.** Crop domestication facilitated rapid geographical expansion of a specialist pollinator, the squash bee *Peponapis pruinosa*. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 283(October), pp.1–9.
- Mallinger, R.E., Gibbs, J. & Gratton, C., 2016.** Diverse landscapes have a higher abundance and species richness of spring wild bees by providing complementary floral resources over bees foraging periods. *Landscape Ecology*, 31(7), pp.1523–1535.
- Matteson, K.C. & Langelotto, G.A., 2010.** Determinates of inner city butterfly and bee species richness. *Urban Ecosystems*, 13(3), pp.333–347.
- Mayack, C. & Naug, D., 2009.** Energetic stress in the honeybee *Apis mellifera* from *Nosema ceranae* infection. *Journal of Invertebrate Pathology*, 100(3), pp.185–188.
- Mayer, C. et al., 2012.** The Abundance and Pollen Foraging Behaviour of Bumble Bees in Relation to Population Size of Whortleberry (*Vaccinium uliginosum*). *PLoS ONE*, 7(11).
- Mayer, P., 2006.** Biodiversity - The appreciation of different thought styles and values helps to clarify the term. *Restoration Ecology*, 14(1), pp.105–111.
- McIntyre, M.E. & Hostetler, N.E., 2001.** Effects of urban land use on pollinator (Hymenoptera: Apoidea) communities in a desert metropolis. *Basic and Applied Ecology*, 2(3), pp.209–218.
- McKinney, M.L., 2008.** Effects of urbanization on species richness: A review of plants and animals. *Urban Ecosystems*, 11(2), pp.161–176.

- McKinney, M.L., 2002.** Urbanization, Biodiversity, and Conservation. *Bioscience*, 52(10), pp.883–890.
- McKinney, M.L., 2006.** Urbanization as a major cause of biotic homogenization. *Biological Conservation*, 127(3), pp.247–260.
- Michener, C.D., 2007.** The Bees of the World 2nd ed.
- Micheu, S., Crailsheim, K. & Leonhard, B., 2000.** Importance of Proline and Other Amino-Acids during Honeybee flight (*Apis mellifera carnica* Pollmann). *Amino Acids*, 18(2), pp.157–175.
- Michez, D., 2007.** La nouvelle classification des abeilles (Hymenoptera , Apoidea , Apiformes) ou la chute de l’abeille mellifère (*Apis mellifera* L.) de son piédestal. *Osmia*, 1, pp.23–26.
- Moerman, R. et al., 2015.** Growth rate of bumblebee larvae is related to pollen amino acids. *Journal of Economic Entomology*, 109(1), pp.25–30.
- Moerman, R. et al., 2016.** Interspecific Variation in Bumblebee Performance on Pollen Diet : New Insights for Mitigation Strategies. *PLoS ONE*, 11(12).
- Moerman, R. et al., 2017.** Pollen nutrients better explain bumblebee colony development than pollen diversity. *Insect Conservation and Diversity*.
- Moquet, L. et al., 2015.** Early spring floral foraging resources for pollinators in wet heathlands in Belgium. *Journal of Insect Conservation*, 19(5), pp.837–848.
- Morandin, L.A. & Kremen, C., 2013.** Hedgerow restoration promotes pollinator populations and exports native bees to adjacent fields. *Ecological Applications*, 23(4), pp.829–839.
- Müller, A. & Kuhlmann, M., 2008.** Pollen hosts of western palaeartic bees of the genus *Colletes* (Hymenoptera: Colletidae): The Asteraceae paradox. *Biological Journal of the Linnean Society*, 95(4), pp.719–733.
- Nazzi, F. et al., 2012.** Synergistic parasite-pathogen interactions mediated by host immunity can drive the collapse of honeybee colonies. *PLoS Pathogens*, 8(6).
- Nicolson, S.W. & Human, H., 2013.** Chemical composition of the “low quality” pollen of sunflower (*Helianthus annuus*, Asteraceae). *Apidologie*, 44(2), pp.144–152.
- Nieto, A. et al., 2014.** European red list of bees

- O'Toole, C. & Raw, A., 1999.** Bees Of The World
- Ollerton, J. et al., 2014.** Pollinator declines. Extinctions of aculeate pollinators in Britain and the role of large-scale agricultural changes. *Science*, 346(6215), pp.1360–2.
- Osman, M.A.M. et al., 2016.** Foraging Activities of Bee Species and Pollination Efficiency on Seed Production of Mustard (*Brassica juncea* L.) at Ismailia Governorate.
- Öztürk, O. & Selçuk, M.Y., 2016.** Birinci Basamakta Apiterapi. *Turkish Journal of Family Medicine and Primary Care*, 10(3), pp.3–5.
- De Palma, A. et al., 2016.** Predicting bee community responses to land-use changes: Effects of geographic and taxonomic biases. *Scientific Reports*, 6(August), p.31153.
- Di Pasquale, G., 2014.** L ' Influence De L ' Alimentation Pollinique Sur La Sante De L ' Abeille Domestique L. , pp.1–155.
- Patiny, S., Rasmont, P. & Michez, D., 2009.** A survey and review of the status of wild bees in the West-Palaeartic region. *Apidiologie*, 40(3), pp.313–331.
- Peng, Y.-S. et al., 1985.** The digestion of dandelion pollen by adult worker honeybees. *Physiological Entomology*, 10(1), pp.75–82.
- 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), pp.11–20.
- Pérez-Marcos, M. et al., 2017.** The importance of the qualitative composition of floral margins to the maintenance of rich communities of bees. *Landscape management for functional biodiversity*, 122, pp.83–87.
- Pettis, J.S. et al., 2013.** Crop Pollination Exposes Honey Bees to Pesticides Which Alters Their Susceptibility to the Gut Pathogen *Nosema ceranae*. *PLoS ONE*, 8(7).
- Pettis, J.S. et al., 2012.** Pesticide exposure in honey bees results in increased levels of the gut pathogen *Nosema*. *Naturwissenschaften*, 99(2), pp.153–158.
- Pilling, E.D. & Jepson, P.C., 1993.** Synergism between EBI fungicides and a pyrethroid insecticide in the honeybee (*Apis mellifera*). *Pesticide Science*, 39(4), pp.293–297.
- Ponchau, O. et al., 2006.** Is the caste-ratio of the oligolectic bumblebee *Bombus gerstaeckeri* Morawitz (Hymenoptera: Apidae) biased to queens? *Annales de la Société Entomologique de France*, 42(2), pp.207–214.

- Potts, S.G. et al., 2010.** Global pollinator declines: Trends, impacts and drivers. *Trends in Ecology and Evolution*, 25(6), pp.345–353.
- Praz, C., Müller, A. & Dorn, S., 2008.** Specialized Bees Fail To Develop on Non-Host Pollen: Do Plants Chemically Protect Their Pollen? *Ecology*, 89(3), pp.795–804.
- Prys-Jones, O. E. & Corbet, S. A., 1991.** Bumblebees. Cambridge University Press. 68pp.
- Pywell, R.F. et al., 2003.** Plant traits as predictors of performance in ecological restoration. *Journal of Applied Ecology*, 40, pp.65–77.
- Pywell, R.F. et al., 2012.** Wildlife-friendly farming benefits rare birds, bees and plants. *Biology Letters*, 8(5), pp.772–775.
- Rasmont, P. & Mersch, P., 1988.** Première estimation de la dérive faunique chez les bourdons de la Belgique (Hymenoptera: Apidae). *Annls Soc. r. zool. Belg.*, 118(2), pp.141-147.
- Rasmont, P. et al., 2005.** Analysis of pollen and nectar of *Arbutus unedo* as a food source for *Bombus terrestris* (Hymenoptera: Apidae). *Journal of economic entomology*, 98(3), pp.656–663.
- Rasmont, P. et al., 2015.** Climatic risk and distribution atlas of European bumblebees, *BioRisk*, 10, pp.1-236.
- Regali, A. & Rasmont, P., 1995.** Nouvelles méthodes de test pour l'évaluation du régime alimentaire chez des colonies orphelines de *Bombus terrestris* (L) (Hymenoptera, Apidae). *Apidologie*, 26, pp.273–281.
- Řehoř, I. et al., 2014.** Measuring the sugar consumption of larvae in bumblebee micro-colonies: a promising new method for tracking food economics in bees. *Apidologie*, 45(1), pp.116–128.
- Ribeiro, M.F., Duchateau, M.J. & Velthuis, H., 1996.** Comparison of the effects of two kinds of commercially available pollen on colony development and queen production in the bumble bee *Bombus terrestris* L (Hymenoptera, Apidae). *Apidologie*, 27(3), pp.133–144.
- Ricketts, T.H. et al., 2008.** Landscape effects on crop pollination services: Are there general patterns? *Ecology Letters*, 11(5), pp.499–515.
- Roberts, D.W., 2016.** Package “labdsv”: Ordination and Multivariate Analysis for Ecology. *R package ver. 1.6–1*, pp.1–56.

- Roger, N., Michez, D., et al., 2017.** Diet effects on bumblebee health. *Journal of Insect Physiology*, 96(November), pp.128–133.
- Roger, N., Moerman, R., et al., 2017.** Impact of pollen resources drift on common bumblebees in NW Europe. *Global Change Biology*, 23, pp.68–76.
- Roulston, T.H. & Cane, J.H., 2000.** Pollen nutritional content and digestibility for animals. *Plant Systematics and Evolution*, 222(1–4), pp.187–209.
- Roulston, T.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), pp.617–643.
- Roulston, T.H. & Goodell, K., 2011.** The role of resources and risks in regulating wild bee populations. *Annual review of entomology*, 56(August), pp.293–312.
- Sapir, G. et al., 2017.** Synergistic effects between bumblebees and honey bees in apple orchards increase cross pollination, seed number and fruit size. *Scientia Horticulturae*, 219(March), pp.107–117.
- Scheper, J. et al., 2015.** Local and landscape-level floral resources explain effects of wildflower strips on wild bees across four European countries. *Journal of Applied Ecology*, 52(5), pp.1165–1175.
- Sedivy, C., Müller, A. & Dorn, S., 2011.** Closely related pollen generalist bees differ in their ability to develop on the same pollen diet: Evidence for physiological adaptations to digest pollen. *Functional Ecology*, 25(3), pp.718–725.
- Senapathi, D. et al., 2015.** Pollinator conservation - The difference between managing for pollination services and preserving pollinator diversity. *Current Opinion in Insect Science*, 12, pp.93–101.
- Shpigler, H. et al., 2013.** Social influences on body size and developmental time in the bumblebee *Bombus terrestris*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 67(10), pp.1601–1612.
- Sirohi, M.H. et al., 2015.** Diversity and abundance of solitary and primitively eusocial bees in an urban centre: a case study from Northampton (England). *Journal of Insect Conservation*, 19(3), pp.487–500.

- Somerville, D.C. & Nicol, H.I., 2006.** Crude protein and amino acid composition of honey bee-collected pollen pellets from south-east Australia and a note on laboratory disparity. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 46(1), pp.141–149.
- Somme, L. et al., 2015.** Pollen and nectar quality drive the major and minor floral choices of bumble bees. *Apidologie*, 46(1), pp.92–106.
- Somme, L. et al., 2016.** Food in a row: urban trees offer valuable floral resources to pollinating insects. *Urban Ecosystems*, pp.1–13.
- Standifer, L.N. et al., 1980.** Biochemistry and microbiology of pollen collected by honey bees (*Apis mellifera* L.) from almond, *Prunus dulcis*. II. Protein, amino acids and enzymes (1). *Apidologie*, Springer Verlag, 11(2), pp.163–171.
- Stanley, D.A., Raine, N.E. & Ayasse, M., 2016.** Chronic exposure to a neonicotinoid pesticide alters the interactions between bumblebees and wild plants. *Functional Ecology*, 30(7), pp.1132–1139.
- Steffan-Dewenter, I., Potts, S.G. & Packer, L., 2005.** Pollinator diversity and crop pollination services are at risk. *Trends in Ecology and Evolution*, 20(12), pp.651–653.
- Suárez-Cervera, M. et al., 1994.** An Ultrastructural Study of Pollen Grains Consumed by Larvae of *Osmia* Bees (Hymenoptera, Megachilidae). *Grana*, 33(4–5), pp.191–204.
- Sutter, L. et al., 2017.** Enhancing plant diversity in agricultural landscapes promotes both rare bees and dominant crop-pollinating bees through complementary increase in key floral resources. *Journal of Applied Ecology*, (March).
- Tasei, J.-N. & Aupinel, P., 2008a.** Nutritive value of 15 single pollens and pollen mixes tested on larvae produced by bumblebee workers (*Bombus terrestris*, Hymenoptera: Apidae). *Apidologie*, 39(4), pp.397–409.
- Tasei, J.-N. & Aupinel, P., 2008b.** Validation of a Method Using Queenless *Bombus terrestris* Micro-Colonies for Testing the Nutritive Value of Commercial Pollen Mixes by Comparison with Queenright Colonies. *Journal of Economic Entomology*, 101(6), pp.1737–1742.
- Taylor, D.W. & Hu, S., 2010.** Coevolution of early angiosperms and their pollinators: Evidence from pollen. *Palaeontographica Abteilung B-Palaophytologie*, 283(4–6), pp.103–135.

- Tonietto, R. et al., 2011.** A comparison of bee communities of Chicago green roofs, parks and prairies. *Landscape and Urban Planning*, 103(1), pp.102–108.
- Ugale, C. V. & Tidke, J.A., 2017.** Analysis of secondary metabolites in *T. argentea* pollen by GC-MS. *International Journal of Applied Research*, pp.172–174.
- Vanbergen, A.J. & the Insect Pollinators Initiative, 2013.** Threats to an ecosystem service: pressures on pollinators. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 11(5), pp.251–259.
- Vanderplanck, M. 2013.** How does physiology interface with ecology? Dietetic constraint in host-plant choices of bees. Thèse de doctorat. Université de Mons. 349pp.
- Vanderplanck, M., Leroy, B., et al., 2014.** Standardized protocol to evaluate pollen polypeptides as bee food source. *Apidologie*, 45(2), pp.192–204.
- Vanderplanck, M., Moerman, R., et al., 2014.** How does pollen chemistry impact development and feeding behaviour of polylectic bees? *PLoS ONE*, 9(1).
- Vanderplanck, M. et al., 2016.** Is non-host pollen suitable for generalist bumblebees? *Insect Science*, pp.1–14.
- van Engelsdorp, D. et al., 2008.** A survey of honey bee colony losses in the U.S., Fall 2007 to Spring 2008. *PLoS ONE*, 3(12), pp.1–7.
- vanEngelsdorp, D. & Meixner, M.D., 2010.** A historical review of managed honey bee populations in Europe and the United States and the factors that may affect them. *Journal of Invertebrate Pathology*, 103(SUPPL. 1).
- Vaudo, A.D. et al., 2016.** Macronutrient ratios in pollen shape bumble bee (*Bombus impatiens*) foraging strategies and floral preferences. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 113(28), pp.E4035--E4042.
- Velthuis, H.H.W. & Van Doorn, A., 2006.** A century of advances in bumblebee domestication and the economic and environmental aspects of its commercialization for pollination. *Apidologie*, Springer Verlag, 37(4), pp.421–451.
- Weiner, C.N. et al., 2010.** Pollen amino acids and flower specialisation in solitary bees. *Apidologie*, 41(4), pp.476–487.
- Weiner, C.N., 2016.** Diversity and resource choice of flower-visiting insects in relation to pollen nutritional quality and land use, pp.1–165.

- Westphal, C., Steffan-Dewenter, I. & Tscharntke, T., 2003.** Mass flowering crops enhance pollinator densities at a landscape scale. *Ecology Letters*, 6(11), pp.961–965.
- Williams, G.R. et al., 2010.** Colony collapse disorder in context. *BioEssays*, 32(10), pp.845–846.
- Williams, N.M. et al., 2015.** Native wildflower plantings support wild bee abundance and diversity in agricultural landscapes across the United States. *Ecological Applications*, 25(8), pp.2119–2131.
- Williams, P.H., 1986.** Environmental change and the distributions of british bumble bees (*Bombus* Latr.).
- Williams, P.H. & Osborne, J.L., 2009.** Bumblebee vulnerability and conservation world-wide. *Apidologie*, 40(3), pp.367–387.
- Winfree, R., Griswold, T. & Kremen, C., 2007.** Effect of human disturbance on bee communities in a forested ecosystem. *Conservation Biology*, 21(1), pp.213–223.
- Winfree, R., Bartomeus, I. & Cariveau, D.P., 2011.** Native pollinators in anthropogenic habitats. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 42, pp.1–22.
- Wojcik, V.A. & McBride, J.R., 2012.** Common factors influence bee foraging in urban and wildland landscapes. *Urban Ecosystems*, 15(3), pp.581–598.
- Zanette, L.R.S., Martins, R.P. & Ribeiro, S.P., 2005.** Effects of urbanization on Neotropical wasp and bee assemblages in a Brazilian metropolis. *Landscape and Urban Planning*, 71(2–4), pp.105–121.
- Zolfagharian, H., Mohajeri, M. & Babaie, M., 2015.** Honey Bee Venom (*Apis mellifera*) Contains Anticoagulation Factors and Increases the Blood-clotting Time. *Journal of pharmacopuncture*, 18(4), pp.7–11.