

Interaction paysage, nutrition et phénotype chez l'osmie rousse en milieu agricole

Mémoire de fin d'étude présenté par

Thomas Debont

En vue de l'obtention du diplôme de

**Master en Biologie des Organismes et Ecologie à Finalité Spécialisée dans les métiers de
l'éco-conseil**

Directeur de mémoire

Prof. Denis Michez

Superviseur adjoint

Antoine Gekière

Université de Mons

Faculté des Sciences

Laboratoire de Zoologie

Année académique 2021-2022

Résumé

Nous utilisons de plus en plus d'espèces différentes d'abeilles pour aider à la pollinisation de nos champs. Placer ces pollinisateurs dans des milieux agricoles parfois intensifs les expose à des sources de stress importants (pesticides, manque de ressources, compétition). Il est donc important d'étudier les effets de ces agroenvironnements sur les abeilles.

Dans cette étude, des *Osmia bicornis* ont été relâchées dans des champs de colza ou des vergers de pommiers et cela dans six pays répartis à travers l'Europe. Ces spécimens ont pu nidifier sur les différents sites dont le paysage environnant a été caractérisé en fonction de l'utilisation des sols. Du pollen stocké pour leur descendance a été collecté sur chaque site. Les abeilles relâchées ont ensuite été recapturées et une fois leur développement terminé, la descendance a été collectée.

La composition chimique du pollen a été caractérisée pour chaque site. Nous connaissons dès lors leur concentration en protéines, en lipides, en glucides, en stérols et en acides aminés. Les ailes des osmies des deux générations ont été découpées afin de déterminer les traits phénotypiques de ces abeilles. Nous avons pu déterminer la taille centroïde, la forme, l'asymétrie fluctuante de la taille et l'asymétrie fluctuante de la forme des ailes pour chaque spécimen collecté.

Nous avons ensuite analysé la différence de composition chimique du pollen en fonction des pays et des types de culture ainsi qu'en fonction de la composition du paysage. Comme nous le pensions, la composition chimique du pollen varie fortement entre les différents pays, notamment en fonction de la latitude où se trouve le site d'origine. Cependant, la composition du paysage n'a pas pu expliquer la composition du pollen. Finalement, nous avons analysé les effets de la diète de pollen et de la composition du paysage sur les quatre variables caractérisant le phénotype des abeilles ainsi que la variation du phénotype en fonction de la génération et du pays d'origine. La nouvelle génération est plus petite que la précédente, montrant que le développement dans un environnement stressant induit une modification du phénotype. De plus les spécimens qui proviennent des hautes latitudes sont les plus grands que les autres. Cependant, la composition du pollen et le paysage peinent à expliquer le phénotype.

Mots-clés : *Osmia bicornis* - paysage - pollen - protéines - lipides - stérols - taille de l'aile - asymétrie fluctuante

Abstract

We are using more and more different bee species to help pollinate our fields. Placing these pollinators in sometimes intensive agricultural environments exposes them to significant sources of stress (pesticides, lack of resources, competition). It is therefore important to study the effects of these agro-environments on bees.

In this study, *Osmia bicornis* were released in oilseed rape fields or apple orchards in six countries across Europe. These specimens were able to nest on the different sites whose surrounding landscapes were characterized according to the land use. Stored pollen for their offspring was collected at each site. The released bees were then recaptured and once their development was complete, the offspring were collected.

The pollen chemical composition was characterized for each site. We now know their concentration in proteins, lipids, carbohydrates, sterols, and amino acids. Bee wings of both generations were cut off in order to determine the phenotypic traits of these bees. We were able to determine centroid size, shape, size fluctuating asymmetry, and shape fluctuating asymmetry for each specimen collected.

We then analyzed the difference in chemical composition of pollen by country and crop type as well as by landscape composition. As we expected, the chemical composition of pollen varies greatly between different countries, especially depending on the latitude where the origin sites were located. However, landscape composition could not explain pollen composition.

Finally, we analyzed the effects of pollen diet and landscape composition on the four variables characterizing the bee phenotype as well as the variation in phenotype by generation and country. The new generation is smaller than the previous one, showing that development in a stressful environment induces a change in phenotype. Moreover, the specimens coming from high latitudes are the largest than the others. However, the composition of the pollen and the landscape can hardly explain the phenotype.

Key-words: *Osmia bicornis* - landscape - pollen - proteins - lipids - sterols - wing size - fluctuating asymmetry

Remerciements

J'aimerais remercier les Professeurs Pierre Rasmont et Denis Michez pour m'avoir accueilli au sein du laboratoire de Zoologie pour la réalisation de ce mémoire de fin d'études. C'est grâce à eux que j'ai développé ma passion pour l'entomologie et l'écologie. Je remercie aussi les membres du laboratoire de Zoologie pour leur aide et leur gentillesse.

Je tiens à remercier tout particulièrement Antoine Gekière qui était toujours présent pour répondre à mes bien trop nombreuses questions. Bien que n'ayant aucune obligation envers moi, il a grandement contribué à l'élaboration de ce mémoire, plus précisément pour la réalisation des analyses statistiques. Je ne pourrai jamais le remercier assez pour ce qu'il m'a apporté durant ce travail.

Je remercie Victor Lefebvre qui m'a initié aux différentes techniques de laboratoire réalisées, sans lui ce mémoire n'existerait pas. Je remercie également Dimitri Evrard et Laetitia Verdy pour le support technique qu'ils m'ont apporté à tout moment. Je les remercie encore pour la bonne humeur qu'ils apportent tous les jours au laboratoire.

Je remercie Maxence Gérard pour son aide et pour m'avoir initié aux techniques de morphométrie géométrique. Je remercie aussi Maryse Vanderplanck pour m'avoir apporté son expertise concernant les analyses de stéroïdes et d'acides aminés.

Je remercie le Professeur Giorgia Purcaro pour m'avoir accueilli au sein du laboratoire de chimie analytique de l'Agro-Bio Tech de Gembloux, Université de Liège, pour la réalisation d'extractions de stéroïdes en août et septembre 2021.

Un grand merci à mes camarades et amis mémorants du laboratoire de Zoologie, Jordan, Lucie, Apolline et Elisa pour cette année incroyable ainsi que tous les bons moments passés ensemble. Je remercie plus particulièrement Clément et Rémi qui m'ont chacun beaucoup aidé lors de ce mémoire. Je remercie mes amis Vincent et Lisa avec qui j'ai vécu des moments incroyables et riches en émotions. Merci à eux d'avoir été là pendant ces cinq années d'études.

Je remercie mon plus grand ami, Elyas, qui au fil des années est devenu un frère pour moi. C'est la personne avec qui j'ai partagé le plus et il a toujours été présent pour me supporter.

Je voudrais remercier ma famille pour toujours m'avoir soutenu. Merci à ma cousine Julie pour avoir relu ce mémoire. Et merci particulièrement ma maman qui a toujours eu foi en moi et de m'avoir toujours supporté.

Table des matières

1	Introduction.....	1
1.1	Généralités sur les abeilles	1
1.1.1	Ecologie.....	1
1.1.2	Type et choix des ressources alimentaires	2
1.1.3	Facteurs de déclin.....	2
1.1.4	Agroécosystèmes.....	4
1.2	Composition chimique de la diète en pollen	6
1.2.1	Protéines	6
1.2.2	Acides aminés	7
1.2.3	Stérols.....	7
1.2.4	Lipides.....	8
1.2.5	Glucides.....	8
1.3	Modifications de la nutrition et du phénotype.....	9
1.3.1	Facteurs induisant une variation de la nutrition	9
1.3.2	Facteurs induisant une variation phénotypique	10
1.4	Modèle biologique.....	11
2	Objectifs du mémoire.....	13
3	Matériel et méthode	15
3.1	Origine du matériel utilisé	15
3.2	Analyse des protéines	17
3.3	Analyse des acides aminées.....	18
3.4	Analyse de stérols.....	18
3.5	Analyse des lipides et sucres	19
3.6	Analyse de la morphométrie alaire	20
3.7	Analyses statistiques.....	22
3.7.1	Variation de la diète	23
3.7.2	Variation du phénotype	24
4	Résultats.....	27
4.1	Variation de la diète et facteurs explicatifs.....	27
4.2	Variation du phénotype	33
4.2.1	Chez les femelles.....	33
4.2.2	Chez les mâles	37
4.3	Facteurs induisant une variation du phénotype	39

4.3.1	Chez les femelles.....	39
4.3.2	Chez les mâles	41
5	Discussion	43
5.1	Variation de la diète.....	43
5.2	Variation du phénotype	44
6	Conclusion	47
7	Références.....	49
8	Annexes.....	59
8.1	Annexe 1 : Matrices de corrélations	59
8.2	Annexe 2 : Résultats des régressions linéaires entre paysage et pollen	60
8.3	Annexe 3 : Résultats des régressions linéaires entre le pollen et le phénotype.....	61

1 Introduction

1.1 Généralités sur les abeilles

1.1.1 Ecologie

Groupe d'hyménoptère monophylétique, les abeilles (*Anthophila* (Latreille, 1804)) comptent environ 20 000 espèces qui sont distribuées sur tous les continents à l'exception de l'Antarctique (Ascher & Pickering, 2018; Michener, 2007). Les abeilles, en permettant le transport de pollen entre plantes à fleurs en échange de collecte de ressources alimentaires, sont des pollinisateurs cruciaux, en ce sens que la valeur production agricole mondiale en dépendant représente plus de 200 milliards de dollars par an (Hristov et al., 2020).

Les abeilles arborent différents modes de vie selon les espèces. Dans un premier temps, on retrouve un gradient de sociabilité allant des espèces eusociales jusqu'aux espèces solitaires. Parmi les abeilles eusociales se trouvent, entre autres, les abeilles mellifères (Hymenoptera : Apidae) et les bourdons (Hymenoptera : Apidae), qui sont caractérisés par leur structure en castes avec une reine, des mâles et des ouvrières (Michez et al., 2019a). Ce mode de socialité n'est présent que chez un faible nombre d'espèces. À l'opposé, les abeilles solitaires sont les plus diversifiées, représentant 85% des espèces (Michener, 2007). Le phénomène de socialité est apparu quatre fois séparément chez les abeilles (Santos et al., 2019). Dans un second temps, chez les espèces solitaires, les modes de nidification sont très diversifiés. Une grande partie plante leur nid dans le sol, tandis que d'autres utilisent du bois mort, des troncs, des tiges creuses de plantes, avec des feuilles et des branches ou alors des cavités préexistantes (Linsley, 1958). Dans ces nids, les femelles pondent les œufs dans des cellules individuelles qui sont disposées soit dans des "tunnels" isolés, soit les unes à la suite des autres dans un « tunnel » commun (Linsley, 1958). Dans son ouvrage, Linsley (1958) explique que les cellules peuvent être fermées de plusieurs façons, à savoir qu'elles peuvent être entourées avec une matière semblable à du cellophane ou une espèce de cire imperméable, des morceaux de feuilles, de la boue ou encore des sécrétions labiales. Dans chaque cellule, une réserve de pollen avec plus ou moins de nectar est disposée avec l'œuf afin de nourrir le futur individu (Maddocks & Paulus, 1987). Le futur individu passera la mauvaise saison en hibernation et émergera l'année suivante au moment de la saison favorable (H. K. Gill et al., 2017).

1.1.2 Type et choix des ressources alimentaires

Les abeilles sont des animaux herbivores très spécialisées, se nourrissant presque exclusivement de pollen et de nectar, et donc plus communément appelées « pollinivores ». Ce sont les angiospermes, aussi appelés plantes à fleur, qui fournissent ces ressources alimentaires aux abeilles. Les abeilles vont butiner les fleurs dans un rayon restreint autour du lieu de nidification, ce rayon pouvant varier selon les espèces (Gathmann & Tschardt, 2002; Linsley, 1958; Ricketts et al., 2008). En augmentant la diversité de plante sur un terrain, la diversité des pollinisateurs augmente également (Blaauw & Isaacs, 2014), ce qui démontre le lien important qu'il y a entre les communautés de plantes à fleur et leurs pollinisateurs.

Toutes les abeilles ne visitent pas toutes les plantes. Certaines espèces sont dites monolectiques, celles-ci visitent généralement une seule espèce de plante à fleurs. D'autres sont oligolectiques et vont avoir un panel assez restreint de plantes qu'elles visitent, se limitant à un taxon de plante. Ou alors polylectiques et dans leur cas elles pollinisent une grande variété de plante (Ritchie et al., 2016). Il est important de se rendre compte que ces trois catégories ne sont pas absolues et que chaque espèce visitera un nombre d'espèces de plantes à fleurs qui lui est propre.

Le choix floral est un mécanisme complexe qui dépend d'un grand nombre de facteurs. Un pollinisateur peut être attiré par olfaction, dû à l'émission de molécules par la fleur similaires à celles utilisées dans la communication chimique de l'abeille (Schiestl & Johnson, 2013), mais encore par la forme ou la couleur de la fleur. Des facteurs morphologiques peuvent également entrer en jeu, tels que la longueur des pièces buccales de l'abeille par rapport à la longueur de la corolle de la fleur (Inouye, 1980; Shimizu et al., 2014). Il faut aussi que les abeilles soient présentes au même moment que la floraison des fleurs qu'elles pollinisent (Ogilvie & Forrest, 2017).

1.1.3 Facteurs de déclin

L'anthropocène est associé à un bouleversement généralisé touchant un grand nombre de branches du vivant (Dirzo et al., 2014). Les actions de l'être humain causent la sixième extinction de masse que la terre ait connue. En regardant plus précisément les abeilles sauvages, on remarque que ces dernières sont en proie à divers facteurs dû à l'activité humaine, menant à un déclin général de ces animaux (Dicks et al., 2021).

Le facteur qui est probablement le plus important concernant le déclin des pollinisateurs est la modification du paysage par les pratiques agricoles ainsi que l'urbanisation (Dicks et al., 2021). L'expansion des zones de culture et l'homogénéisation du paysage induisent une baisse de la richesse spécifique et de la composition des espèces de pollinisateurs au cours du temps (Senapathi et al., 2015). Il en va de même pour la perte des habitats naturels et semi-naturels.

L'utilisation de pesticides amène son lot de problèmes pour les abeilles. Les herbicides empêchent les plantes à fleurs de pousser sur les cultures et les alentours proches, supprimant l'accès aux ressources alimentaires des abeilles sauvages (Carvell et al., 2006). Mais les insecticides sont les plus inquiétant étant donné que ceux-ci agissent directement sur les abeilles. Ces substances peuvent agir sur le système nerveux central et entraîner la mort chez certains insectes (Buszewski et al., 2019; Jeschke et al., 2011). Il a été montré que l'usage de ces substances ont pour effet de diminuer la densité de population des abeilles sauvages dans les cultures de colza (Rundlöf et al., 2015; Woodcock et al., 2016). De plus, une exposition chez les abeilles solitaires peut provoquer une mortalité importante de la descendance et modifier la proportion mâle : femelle (Sandrock et al., 2014). Un phénomène similaire se produit chez les bourdons, où la production de reines par les colonies et la croissance des colonies sont réduites (Whitehorn et al., 2012).

Un autre facteur important est le changement climatique, notamment pour certains groupes comme les bourdons. Ceci se traduit par une augmentation de la température moyenne globale ainsi qu'une augmentation de la fréquence des événements climatiques extrêmes (Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC), 2021). Les conséquences de cet accroissement de température peuvent s'observer sur les communautés d'abeilles sauvages. En utilisant les données de distribution de bourdons au cours du temps, on remarque qu'il y a une perte de diversité en Europe et en Amérique du Nord ainsi qu'un déplacement des populations vers de plus hautes latitudes (Kerr et al., 2015; Soroye et al., 2020, Cameron & Sadd 2020). De plus, les périodes d'émergence de certaines espèces d'abeilles ainsi que de la floraison des fleurs qu'elles butinent peuvent se retrouver modifiées par les changements climatiques, entraînant des « mismatches » phénologiques (Duchenne et al., 2020; Gérard et al., 2020).

Les maladies et parasites représentent des facteurs additionnels favorisant le déclin des pollinisateurs. Ces agents pathogènes véhiculés par les espèces commercialisées et les espèces invasives représentent donc un danger pour les faunes indigènes (Colla et al., 2006).

Le plus inquiétant est que ces différents facteurs de déclin sont déjà des menaces individuelles pour les abeilles sauvages, mais l'action de ces effets néfastes en synergie est une menace bien plus importante (Goulson et al., 2015). Il en résulte un constat assez négatif sur l'état de la santé générale future des abeilles sauvages (figure 1). En Europe, près de 9% des espèces d'abeilles sont considérées en danger mais étant donnée le manque important de données, cette statistique est probablement sous-estimée (Nieto et al., 2014).

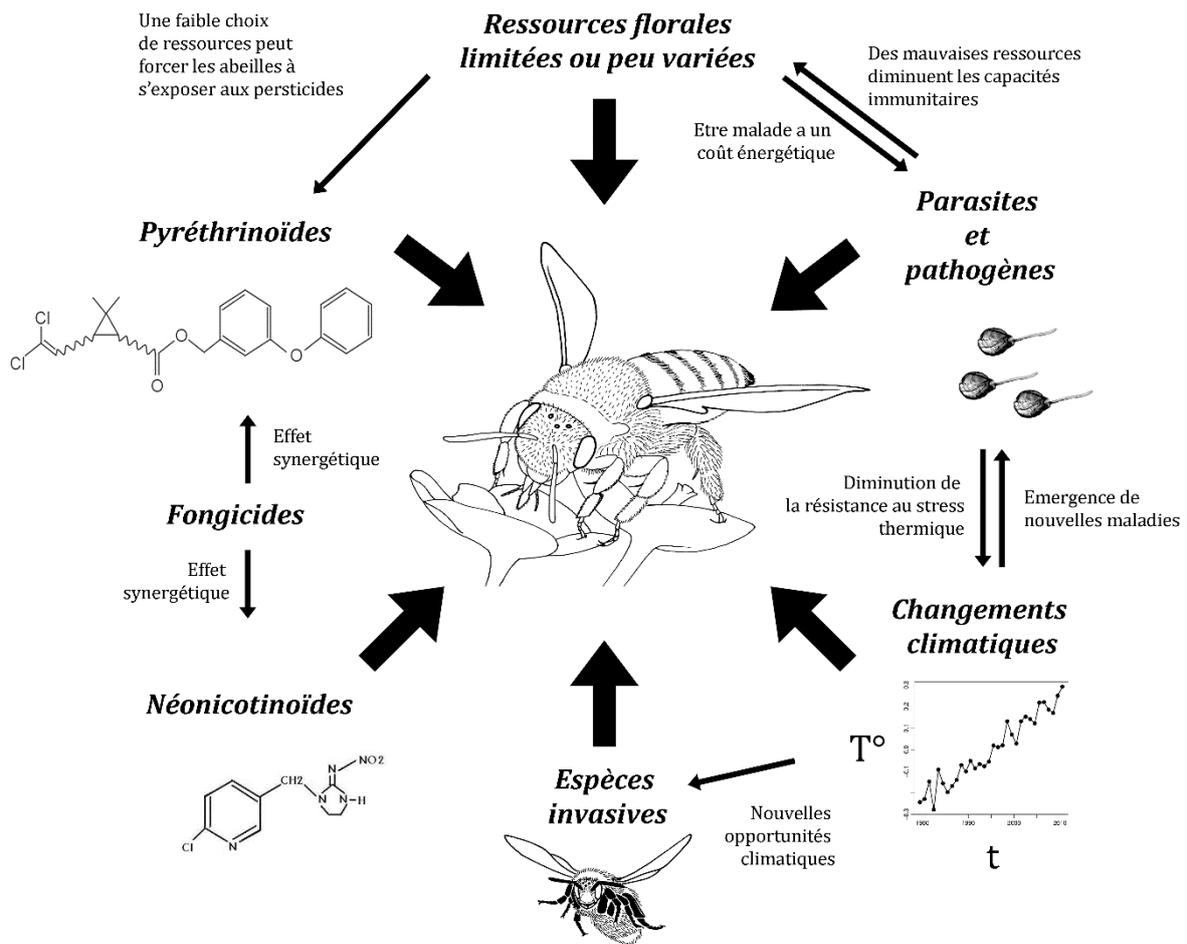


Figure 1 : Illustration des facteurs qui participent au déclin des abeilles (Michez et al., 2019b).

1.1.4 Agroécosystèmes

L'humanité a façonné les différents écosystèmes de son environnement pour produire des ressources utiles au développement de la société. En particulier, des paysages transformés pour l'agriculture forment des agroécosystèmes. Ils résultent d'écosystèmes ayant subi des modifications par l'être humain, afin d'y produire des ressources, comme de la nourriture (Conway, 1987). Les agroécosystèmes présentent encore une diversité de pollinisateurs

relativement important, surtout dans les milieux présentant une grande hétérogénéité du paysage (Russo et al., 2015; Senapathi et al., 2015). Comme mentionné ci-avant, il a été estimé que le service rendu par les différents pollinisateurs dans le monde entier s'élève à 200 milliards de dollars par an. Ceci s'explique par le fait que les pollinisateurs permettent la reproduction sexuée de 85% des plantes à fleurs sauvages (Ollerton et al., 2011), contenant 5 à 8% de la masse totale produite par les cultures du monde entier chaque année (Aizen et al., 2009). On reçoit un bénéfice considérable de la part des pollinisateurs qui affirment l'importance qu'ils ont dans nos vies. Avec une population mondiale qui devrait être de 9 milliards de personnes en 2050 (UN, 2004), la nécessité du service de pollinisation ne fait que se renforcer. Dans l'Union Européenne, la superficie dédiée à l'agriculture représentait 173 millions d'hectares en 2016, soit près de 47,1% du territoire (EC, 2021). Le réseau Natura 2000, qui regroupe des espaces naturels ou semi-naturels européens possédant un intérêt biologique, coexiste avec ces agroécosystèmes et représente 18% du territoire européen (EC, 2022) (figure 2).



Figure 2 : Carte de la répartition des zones Natura 2000 (en bleu) à travers l'Europe (EEA, 2015).

L'intensification des pratiques agricoles a un effet direct sur les populations d'abeilles. Cependant, toutes les abeilles ne sont pas impactées de la même manière : les abeilles solitaires pâtissent grandement des modifications dans la composition du paysage. Cela se manifeste par une baisse de diversité et de densité au sein des populations dû à une diminution de la surface des espaces naturels et semi-naturels (Le Féon et al., 2010; Steffan-Dewenter et al., 2002). Cette perte de diversité peut s'expliquer par la raréfaction des ressources alimentaires, d'autant plus importantes pour les espèces oligolectiques, ou encore par des besoins spécifiques pour leur nidification (Westrich, 1996). Les espaces propices aux espèces solitaires se trouvent de plus en plus dilués dans le paysage et deviennent plus difficiles d'accès étant donné la distance de vol plus réduite de ces espèces (Gathmann & Tschardt, 2002). A contrario, les espèces sociales comme les bourdons présentent une plus grande résilience au sein des agroécosystèmes, notamment de par leur longue distance de vol, leur organisation coloniale et leur régime généraliste (Steffan-Dewenter et al., 2002; Westphal et al., 2003).

1.2 Composition chimique de la diète en pollen

Le pollen et le nectar représentent les deux sources de nutriments pour les abeilles. Le pollen est la source principale de protéines, de lipides, d'acides aminés et de minéraux tandis que le nectar est la source principale de glucides (Michener, 2007). Le pollen fourni aux larves est généralement un mélange de pollen et de nectar en proportion variable en fonction de l'espèce (Nicolson, 2011). Les larves ont surtout besoin de pollen alors que les adultes requièrent du nectar pour se nourrir. La qualité nutritive des ressources fournies par le parent est cruciale pour le bon développement de la descendance.

1.2.1 Protéines

La teneur en protéines est généralement la première métrique abordée lorsque la qualité d'un pollen d'une espèce végétale est abordée. L'abondance de protéines dans le pollen est assez variable, avec des proportions allant de 2,5 à 61% de la masse totale du pollen (Buchmann, 1986). Un pollen plus riche en protéines aura pour effet de favoriser la croissance de larves (Radmacher & Strohm, 2010; Regali & Rasmont, 1995; Roulston et al., 2000). Cela montre l'importance d'un apport suffisant en protéines pour un développement optimal de l'insecte. Il

a été montré qu'une diète riche en protéines permet d'augmenter la dose létale moyenne (LD50) pour plusieurs pesticides chez l'abeille mellifère (Wahl & Ulm, 1983).

1.2.2 Acides aminés

Les acides aminés sont les composants des protéines, mais ils peuvent se retrouver sous forme libre. Parmi les différents acides aminés présents dans le pollen, on en compte dix qui sont considérés comme essentiels pour l'abeille mellifère (De Groot, 1953). Il s'agit de l'arginine, histidine, isoleucine, leucine, lysine, méthionine, phénylalanine, thréonine, tryptophane et la valine. Les acides aminés essentiels représentent en général 50% du total d'acides aminés, qui lui varie entre 15 et 30% de la masse pollen lyophilisée (Vanderplanck et al., 2014).

De plus, il a été suggéré que les abeilles mellifères collectent de préférence du pollen avec une plus grande proportion d'acides aminés essentiels, spécialement en fonction de l'isoleucine, leucine et valine (Cook et al., 2003). Un apport élevé en acides aminés, pour les larves de bourdons, induit un temps de développement plus rapide et donne des abeilles plus grandes (Moerman et al., 2015). D'un autre côté, les acides aminés n'ont pas que des effets positifs. Outre la quantité d'acides aminés présents dans le pollen, la proportion entre les acides aminés libres et ceux liés à des protéines a de l'importance. Ce sont les pollens avec les plus grandes proportions d'acides aminés libres qui sont les plus mortels lors du développement larvaire (Vanderplanck et al., 2014). Certains acides aminés libres sont considérés comme étant toxiques dû aux interférences qu'ils peuvent engendrer dans certaines voies métaboliques (ref huang). Il est aussi intéressant de voir que les plantes butinées par des espèces oligolectiques ont une quantité d'acides aminés plus faible que les autres plantes (Weiner et al., 2010), ce qui laisse supposer que ces abeilles spécialistes sont mieux adaptées pour métaboliser du pollen moins riche que des espèces généralistes.

1.2.3 Stérols

Les stérols sont un groupe de lipides peu discuté dans la littérature mais essentiel dans le développement des abeilles. Ce sont une sous-classe des stéroïdes possédant trois domaines qui les caractérisent, un noyau stérane (système tétracyclique) non polaire, une chaîne carbonée

non polaire en C₁₇ de 8 à 10 carbones et un groupement hydroxyle en C3 (Behmer & Nes, 2003), ce qui en font des molécules amphipatiques.

Les insectes sont des animaux incapables de synthétiser eux-mêmes des stérols (Clayton, 1964). Or ces molécules sont vitales pour leur développement. Il faut donc avoir une alimentation supplémentée avec des stérols, et dans le cas des abeilles, ça se fait par le butinage pour obtenir des phytostérols (Svoboda et al., 1978). En termes de métabolisme, le cholestérol est le précurseur de l'ecdysone et du 20-hydroxyecdysone, des hormones de mue C₂₇. C'est la désalkylation de phytostérols C₂₈ et C₂₉ qui permet de synthétiser le cholestérol chez une partie des insectes. Cependant certaines abeilles ne sont pas capables d'effectuer cette désalkylation, celles-ci utiliseraient alors le 24-méthylène cholestérol comme précurseur de l'hormone de mue C₂₈ qui est dès lors la makistéron A (Svoboda et al., 1983; Vanderplanck et al., 2020). Etant donné leur nécessité pour la mue des insectes, le cholestérol et le 24-méthylène cholestérol sont les stérols les plus importants (Svoboda et al., 1980).

Parmi les stérols les plus communs, on peut retrouver le 24-méthylène cholestérol, le campestérol, le β -sitostérol et le δ 5-avenastérol (Vanderplanck et al., 2020b). Les stérols totaux représentent en moyenne 4,44 mg pour 1 g de pollen lyophilisé (Vanderplanck et al., 2011).

1.2.4 Lipides

La proportion de lipides dans le pollen varie entre 0,8 et 18,9% (Roulston et al., 2000). Les lipides sont une source importante d'énergie pour les abeilles, c'est durant le stade de développement larvaire que ce type de nutriment est principalement métabolisé (Cantrill et al., 1981). Les acides gras majeurs sont les acides linoléique, linoléique, oléique, palmitique, et arachidique (Campos *et al.* 2008). Avec les acides gras insaturés qui représentent 70% de la quantité de lipides. Il a été montré que certains acides gras ont des propriétés antibactériennes et antifongiques (Manning, 2006). Il semblerait que plus un pollen est riche en lipides, proportionnellement aux protéines, plus la mortalité chez les abeilles est élevée (Vaudo et al., 2016). Cela montre qu'un excès de lipides entraîne une toxicité pour les abeilles.

1.2.5 Glucides

Le pollen collecté par les abeilles mellifères est composé entre 21 et 48% de glucides (Todd & Bretherick, 1942). Ces valeurs sont un peu plus grandes que pour du pollen collecté

directement de la fleur, en 1 et 37%. Le nectar est donc la source principale de glucides et celui-ci est mélangé avec le pollen (Nicolson, 2011). Les glucides représentent un nutriment nécessaire pour le bon développement des larves, mais ce sont les adultes qui requièrent un apport important de glucides comme source d'énergie (Brodschneider & Crailsheim, 2010). Ce sont les monosaccharides qui sont les plus abondants avec une proportion d'environ 94% des sucres totaux (Bobiş et al., 2010). Les glucides représentent l'apport principal d'énergie, avec 69,53% des calories en moyenne dans le pollen (Villanueva et al., 2002). Chez les abeilles domestiques, moins le rapport protéines : glucides est grand, plus les chances de survies des larves sont augmentées (Austin & Gilbert, 2021; Pirk et al., 2010).

1.3 Modifications de la nutrition et du phénotype

1.3.1 Facteurs induisant une variation de la nutrition

La composition du paysage affecte la disponibilité des ressources pour les abeilles, pouvant empêcher celle-ci de collecter du pollen avec un ratio protéine : lipide (P : L) répondant à leurs besoins (Di Pasquale et al., 2016). Par exemple, il a été montré que les bourdons se fournissent de préférence avec un pollen respectant un ratio P : L propre à l'espèce (Vaudo et al., 2016). Les abeilles mellifères collectent du pollen ayant un ratio P : L plus faible que les bourdons (Vaudo et al., 2020). Cela illustre les deux stratégies différentes de ces espèces, les bourdons sélectionnent le pollen de manière qualitative, tandis que les abeilles mellifères ont une stratégie quantitative. Il a été montré que la capacité d'un pollinisateur à collecter du pollen répondant à ses besoins nutritifs dépend de la diversité de plantes sur le terrain (Roger et al., 2017), une grande diversité étant favorable. De plus la diversité de plantes endémiques décroît aux latitudes les plus hautes (Rafiqpoor et al., 2005), ce qui réduit les possibilités de collecte de pollen pour les abeilles. Le choix de l'abeille pour certains pollens pourrait être motivé par la recherche de stéroïdes spécifiques nécessaires à l'insecte (Vanderplanck et al., 2020a).

L'exposition à des pesticides ont aussi des effets sur le comportement de l'abeille. Une exposition au clothianidine, un néonicotinoïde, mène à une diminution du nombre de fleurs visitées et à un plus grand laps de temps pour atteindre une fleur après avoir butiné, par rapport à des abeilles non traitées (Straub et al., 2021). Un autre membre de cette famille de molécules, l'imidaclopride, a été identifié pour avoir une réduction des performances de recherche de

nourriture chez *A. mellifera* et *Bombus terrestris* (L., 1758) (Decourtye et al., 2003; R. J. Gill & Raine, 2014).

1.3.2 Facteurs induisant une variation phénotypique

Le phénotype est un caractère influencé par divers facteurs tels que le génotype, la nutrition ou encore l'environnement et l'interaction de ces facteurs. Il a aussi été observé que le phénotype présente une certaine plasticité qui est un avantage sélectif dans les environnements instables (DeWitt & Scheiner, 2004).

Le phénotype des animaux est un indicateur de la qualité de leur développement. Les facteurs induisant un stress peuvent avoir un effet visible sur le phénotype de l'animal (Beasley et al., 2013), comme l'asymétrie fluctuante (AF) qui se réfère à la déviation de la symétrie bilatérale parfaite. De manière générale, un développement instable induit une AF plus importante (Knierim et al., 2007). Chez les insectes, les ailes sont des structures pratiques pour étudier leur morphologie. Certains types de stress peuvent avoir des effets sur la taille et la forme des ailes des insectes, tels que la température, les parasites et molécules auxquelles les abeilles ont été exposées (Gérard et al., 2018).

La nutrition est aussi un facteur de variation du phénotype, lorsque des larves sont nourries avec du pollen contenant beaucoup de protéines, celles-ci auront une taille plus importante à la fin de leur croissance (Radmacher & Strohm, 2010; Regali & Rasmont, 1995; Roulston et al., 2000). Toujours en relation avec la taille, les pollens avec une teneur en glucides plus importante donnent des larves plus grandes et avec un taux de survie plus grand (Austin & Gilbert, 2021). Du côté des stérols, le 24-méthylène cholestérol, le β -sitostérol et le δ^5 -avenastérol ont un impact positif sur la croissance des larves chez *B. terrestris* (Vanderplanck et al., 2014).

Une étude récente a montré que des changements significatifs dans le phénotype peuvent s'opérer en une seule génération (Gérard et al., 2022). Dans cette dernière, c'est le type de culture et la latitude à laquelle se trouvaient les colonies qui semblent avoir un effet significatif sur le phénotype. La composition du paysage n'a pas révélé d'effets probants sur le phénotype d'*A. mellifera* et *B. terrestris*.

1.4 Modèle biologique

L'osmie rousse (*Osmia bicornis*) (Hymenoptera : Megachilidae) est une abeille solitaire polylectique visitant une trentaine d'espèces de plantes et émergeant au printemps (Fliszkiewicz et al., 2015). Cette espèce est commune avec une large distribution s'étendant dans toute l'Europe et dans le pourtour méditerranéen (Michez et al., 2019b). *Osmia bicornis* fait partie des espèces de préoccupation mineure, c'est-à-dire que le risque de disparition est faible (Nieto et al., 2014). Le cycle de développement de l'osmie rousse se retrouve sur la figure 3.

Au niveau de l'alimentation, le pollen provisionné par *O. bicornis* pour les larves contient généralement 19% de protéines, indépendamment des espèces de fleurs présentes sur le terrain (Austin & Gilbert, 2021). Les femelles favorisent la collecte de pollen parmi les sources les plus abondantes afin de réduire le temps nécessaire pour compléter une cellule dans le nid, ce comportement se fait parfois au détriment de la qualité du pollen (Radmacher & Strohm, 2010). Une autre étude suggère que les femelles ont tendance à récupérer du pollen de diverses origines pour créer un mixte, même si celui-ci provoquera un développement non-optimal des larves (Bukovinszky et al., 2017). Chez cette espèce l'ajout de nectar au pollen représente moins de 4% des provisions pour les larves (Maddocks & Paulus, 1987). Lorsque les ressources alimentaires sont rares sur le terrain, les femelles d'*O. bicornis* vont favoriser l'approvisionnement en pollen pour les larves femelles au détriment des larves mâles (Ivanov, 2006).

Chez *Osmia bicornis*, une augmentation de la température lors du développement larvaire induit une diminution de la masse corporelle finale, car la larve consomme moins de pollen dans ce cas (Radmacher & Strohm, 2010). Il a été montré que leur taille dépend de la quantité de ressources consommée lors du développement. Certains pesticides, induisent une diminution du succès du développement ainsi qu'un plus haut taux de mortalité par rapport aux conditions normales (Mokkapati et al., 2021).

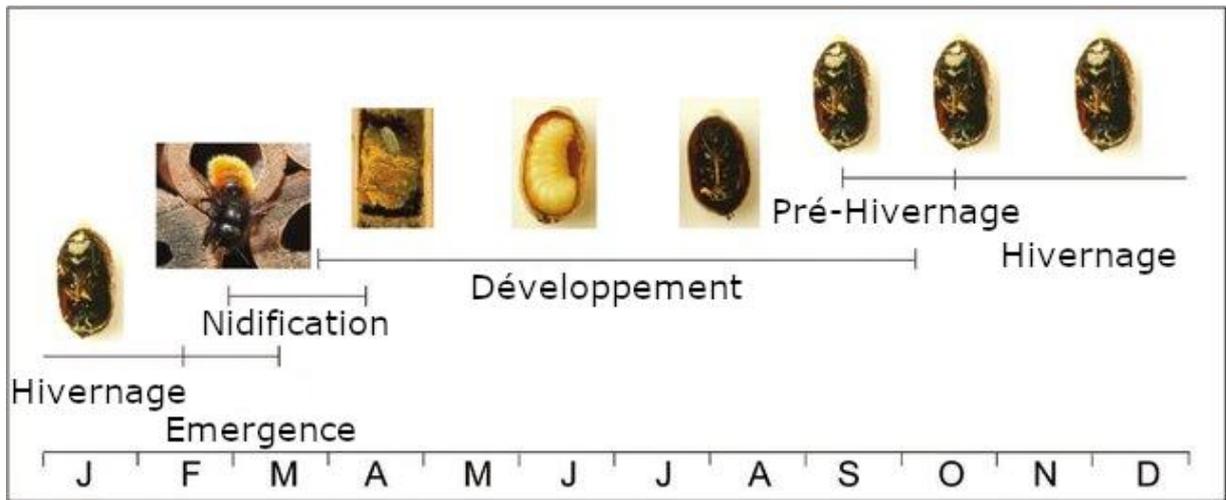


Figure 3 : Cycle de vie des *Osmia* sp. au cours d'une année (Sgolastra et al., 2019).

2 Objectifs du mémoire

Ce mémoire s'inscrit dans le projet européen PoshBee. Ce projet a pour but d'étudier différents éléments concernant les pollinisateurs en milieu agricole, de l'effet des pesticides sur les abeilles à la nutrition de celle-ci. Ce projet se focalise sur trois espèces utilisées dans les milieux agricoles pour la pollinisation des cultures 1) *A. mellifera*, 2) *B. terrestris*, 3) *O. bicornis*. L'axe sur lequel se repose la présente étude, tend à étudier les interactions entre paysage agricole, nutrition et phénotype des abeilles. Ce mémoire se focalisera sur *O. bicornis*.

Est-ce que la composition chimique du pollen collecté varie en fonction du site d'origine ?

Le but est de déterminer la concentration des nutriments dans le pollen et d'analyser s'ils varient selon le pays et le type de culture, champs de colza ou verger de pommiers, de la station où les osmies ont été relâchées. L'hypothèse est que les pollens provenant de cultures et de pays d'origine différents auront des compositions chimiques différentes.

Est-ce que la composition du paysage induit variation de la composition chimique du pollen ?

Nous allons examiner comment la composition du paysage influence la concentration des nutriments présents dans le pollen. Nous pensons que certains paramètres du paysage ont un effet sur la composition chimique du pollen.

Est-ce que le phénotype des osmies varie en fonction de la génération et du pays où elles se sont développées ?

Nous voulons déterminer si une variation du phénotype (taille, forme et asymétrie) est observée entre deux générations s'étant développées dans des conditions et pays différents. Nous nous attendons à trouver une variation du phénotype entre les deux générations, ainsi qu'en fonction du pays où se sont développées les osmies.

Est-ce que la composition du paysage et la composition chimique du pollen induisent une variation du phénotype chez l'osmie ?

Nous examinerons les effets potentiels de la composition du paysage et de la composition chimique en nutriments du pollen sur le phénotype de l'osmie. Nous nous attendons à trouver des facteurs du paysage et de la composition de la diète qui induisent un effet sur le phénotype de l'abeille.

3 Matériel et méthode

3.1 Origine du matériel utilisé

Les différents éléments utilisés dans ce travail ont été fournis dans le cadre du projet PoshBee. La collecte des données et du matériel a été réalisée selon un protocole standardisé (Hodge & Stout, 2019). Les sites d'origines sont au nombre de 89 répartis dans six pays (tableau 1, figure 4).

Tableau 1 : Tableau récapitulatif du nombre de sites pour lesquels des échantillons de pollen et/ou des osmies T0/T1 sont disponibles pour analyse.

	Allemagne	Espagne	Estonie	Italie	Suède	Suisse	Total
Colza	7	8	8	8	8	8	47
Pommier	8	8	8	6	8	4	42
Total	15	16	16	14	16	12	89

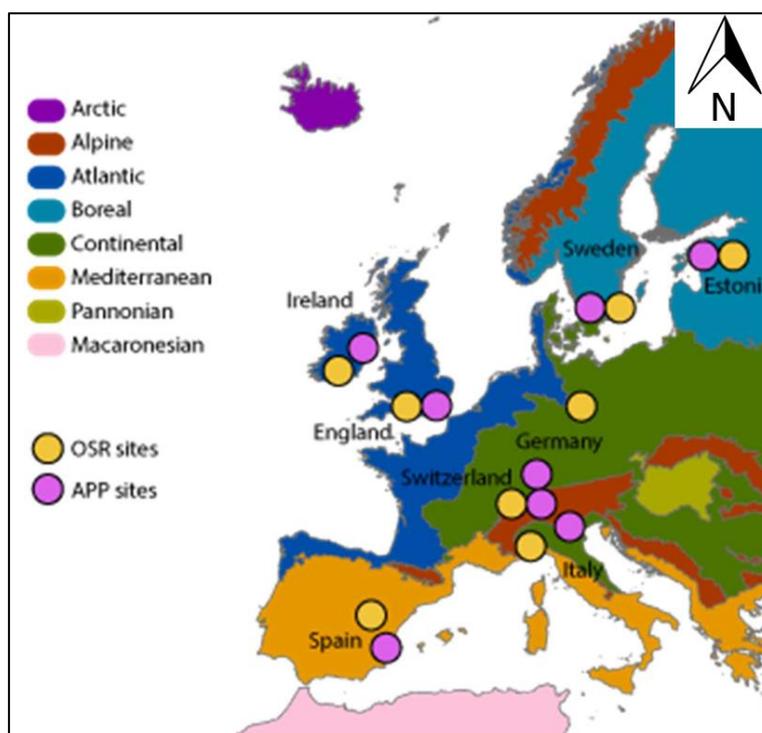


Figure 4 : Carte de l'Europe indiquant la localisation approximative des sites du projet PoshBee. Champs de colza (OSR) et vergers de pommiers (APP), avec une représentation de la stratification bioclimatique (Dominik & Schweiger, 2019).

Pour chaque station, l'affectation du terrain a été cartographiée dans un rayon de 1km autour du site. Dix types d'habitat ont été catégorisés reprenant les terres arables, les surfaces nues, les prairies, les surfaces d'eaux courantes, les vergers, les routes, les zones urbanisées, les masses d'eau, les zones humides et les zones boisées. Les zones boisées reprennent les bois, les arbustes, les haies, les rangés d'arbres et les jardins. Les données concernant la composition du paysage ont été fournies par Christophe Dominik (Dominik & Schweiger, 2019).

Les pupes d'*O. bicornis* ont été fournies par Wildbiene & Partner (Suisse). Les individus ont été relâchés sur chaque site à trois endroits différents, trois à sept jours avant la floraison de la culture. Environ 300 abeilles ont été relâchées par site, avec un ratio mâle : femelle de 1 : 1. Des tubes en carton ont été placés en guise de nid là où les abeilles ont été relâchées. Les abeilles ont été relâchées sur deux types de cultures : 1) dans des champs de colza (*Brassica napus*), 2) dans des vergers de pommier (*Malus domestica*).

Le pollen a été collecté au pic de la floraison de la culture où se trouvaient les nids. Il s'agit du pollen stocké par les femelles pour la larve dans les tubes en carton. Les échantillons ont été prélevés et stockés au congélateur à -20°C puis homogénéisés pour chaque site. Environ 120mg de pollen par site ont été envoyés au laboratoire de Zoologie de l'UMONS.

Des collectes de femelles devaient être réalisées sur chaque site pour avoir un nombre adéquat d'individus pour réaliser les analyses par la suite. Cependant, seulement un individu a été collecté par site, réduisant grandement le nombre d'échantillon pour les abeilles T₀. Les spécimens collectés ont été placés au congélateur à -20°C, ensuite envoyés au laboratoire de Zoologie de l'UMONS.

Après deux semaines de floraison, les nids ont été sellés et laissés quatre semaines supplémentaires pour la suite du développement des larves. Les nids ont été stockés dans des zones couvertes en extérieure pour les protéger des intempéries et du soleil jusqu'à la fin de la maturation des individus, pendant environ trois mois. Les tubes en carton contenant les pupes ont été ensuite placés pendant une semaine à environ 10°C avec 60-80% d'humidité relative, puis à 22°C avec 60-80% d'humidité relative pour favoriser l'émergence naturelle des adultes. Les individus émergeant (T₁) ont été collectés, femelles et mâles, placés au congélateur à -20°C et envoyés au laboratoire de Zoologie de l'UMONS (figure 5).

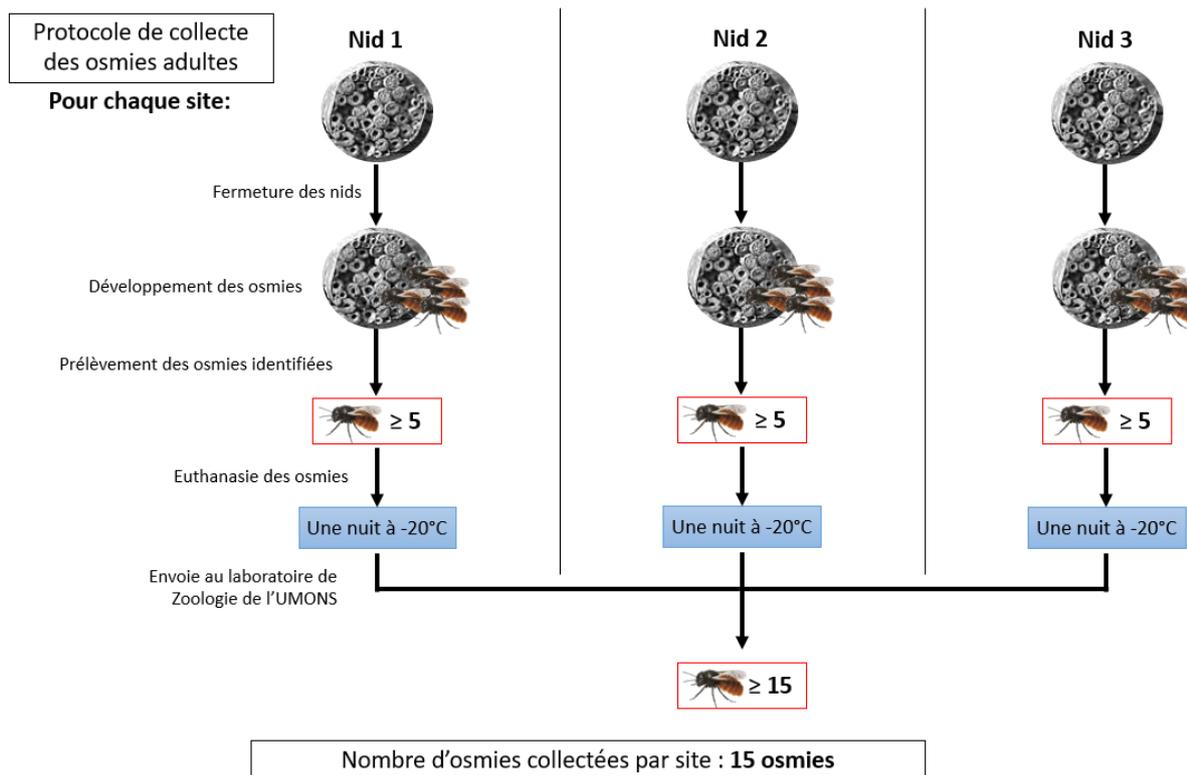


Figure 5 : Illustration du protocole de récupération des osmies T1 pour chaque site.

3.2 Analyse des protéines

La quantification des protéines se base sur la méthode de Vaudo et al. (2020).

Il est nécessaire de peser des tripliquas de 1mg de pollen dans des tubes de 1,7ml, dans lesquels 750µl de NaOH 0,1M sont ajoutés. Les échantillons sont vortexés et laissés au repos une nuit. Depuis les échantillons sont prélevés 6µl et placés sur une plaque multi-puits. Pour la courbe d'étalonnage, de la γ -globuline de veau est utilisée comme standard. Ce sont 1µg, 2µg, 5µg, 8µg et 10µg de γ -globuline qui se trouvent dans les autres puits pour réaliser la courbe d'étalonnage, en veillant à réaliser un blanc. Du réactif de Bradford est placé à température ambiante et 225µl du réactif sont ajoutés dans les différents puits. De l'eau est ensuite ajoutée dans les puits pour porter le volume de chacun à 250µl. La densité optique est mesurée à 595nm au spectrophotomètre FLUOstar Optima de BMG Labtech (Champigny-sur-Marne, France). La concentration en protéines dans le pollen peut dès lors être calculée (µg/mg de pollen). Le nombre d'échantillons quantifiés est repris dans le tableau 1.

3.3 Analyse des acides aminées

La méthode utilisée pour analyser les acides aminés se base sur les travaux Vanderplanck et al. (2014).

Une pesée de 3 à 5mg de pollen est réalisée en tripliquas et 1ml de solution d'hydrolyse (6N HCl, 0,1% phénol et 500 μ M de norleucine). La norleucine sert de standard interne pour la quantification des acides aminés. Avant de fermer le tube, il est nécessaire de mettre le tube sous flux d'azote pendant 1 minute afin d'empêcher la dégradation de la méthionine. Le temps passé sous le flux dépend de la taille du contenant, ainsi si c'est un vial qui est utilisé, la durée sera réduite. Après un passage pendant 24 heures à l'étuve à 110°C, l'hydrolysate est mis à évaporation sous vide. Une fois l'échantillon complètement sec, 1ml de solution buffer de citrate de sodium (pH 2,2) est ajoutée. Il est centrifugé et le surnageant est récupéré et placé dans un vial, ceci est répété deux fois. Les vials peuvent être passés à chromatographie en phase liquide à haute performance dans le Sykam S433 de Biokal (Hattstatt, France). Un standard contenant, les 20 acides aminés ainsi que la norleucine, tous concentrés à 500 μ M sauf la cystine à 250 μ M, est passé en même temps que les échantillons afin de calculer les concentrations en acides aminés dans ceux-ci. Le nombre d'échantillons quantifiés est repris dans le *tableau 1*. Il est important de noter que les valeurs de concentration en acides aminés sont potentiellement surestimées si les données sont comparées à la littérature (Barraud et al., 2022). Cependant, cela n'affectera pas la modélisation.

3.4 Analyse de stérols

La méthode d'analyse des stérols se base sur les travaux de Vanderplanck et al. (2011). Les analyses ont été réalisées en partie au laboratoire de chimie analytique, de la Faculté des Sciences Agronomiques de Gembloux.

Pour chaque échantillon, un tripliquas est réalisé avec une masse de 10 à 20mg de pollen pour chacun. Selon la méthode de Vanderplanck et al. (2011) c'est 20mg de pollen qui doivent être utilisés, mais compte tenu de la faible quantité de pollen à disposition, il a été décidé de baisser cette masse à 10mg.

La saponification a été réalisée au bain-marie à 80°C pendant une heure en ayant ajouté du KOH méthanolique 2M à l'échantillon. Une quantité déterminée de standard interne (bétuline 0,05mg/ml d'éthanol) est ajoutée après la saponification et permettra de calculer la concentration des molécules d'intérêts en fin de l'analyse.

Une extraction est réalisée avec du diéthyl éther en vue d'isoler les stérols se trouvant dans la fraction insaponifiable. La phase organique doit être rincée avec de l'eau pour enlever les derniers résidus de savon. Après évaporation du solvant étheré, du chloroforme est utilisé comme nouveau solvant.

Les échantillons sont dès lors étalés sur des plaques de silice pour réaliser une chromatographie sur couche mince. Un standard de chloroforme et de bétuline est déposé en parallèle de la zone où a été déposé l'échantillon. Ceci permet de délimiter la région où les stérols se trouvent sur la plaque de chromatographie. La migration de la phase s'effectue par l'action d'un solvant d'élution composé de chloroforme, d'éther de pétrole et d'ammoniaque (90 : 10 : 0,5). Pour arriver à observer le standard de chromatographie ainsi que les stérols sur la plaque de silice, il faut appliquer du 2',7'-dichlorofluorescéine et exposer la plaque sous une lampe UV (254nm). Les stérols sont grattés de la plaque et mis en solution dans du chloroforme. La silice présente dans la solution est filtrée puis le chloroforme est évaporé sous flux d'azote.

Pour passer les échantillons au GC-FID GC-2010 de Shimadzu (Kyoto, Japon), il est nécessaire d'effectuer une réaction de silylation. Cette réaction est réalisée en ajoutant de la pyridine anhydre et un agent de silylation, SILYL-991 (BSTFA 1% et triméthylchlorosilane). Pour faciliter la réaction, les échantillons sont placés au bain-marie à 90°C pendant 30 minutes. Les échantillons sont mis à évaporer sous flux d'azote puis mis en solution dans 200µl de n-hexane. Les échantillons sont injectés au GC-FID. Les courbes des spectres obtenues au GC-FID permettent de calculer la concentration du pic auquel se rapporte un stérol par rapport à la concentration et la surface du standard interne. Le nombre d'échantillons quantifiés est repris dans le *tableau 1*.

3.5 Analyse des lipides et sucres

La quantification des lipides et des sucres se fait sur base du même échantillon de pollen initial. Cette méthode se base sur les travaux de (Van Handel & Day, 1988).

Environ 1mg de pollen est pesé et 200µl de sulfate de sodium (2g/L d'eau) sont ajoutés. Il est nécessaire de faire des tripliquas pour chaque échantillon. Une solution de chloroforme : méthanol (50 : 50) est ajoutée à raison de 1,6ml puis le tout est centrifugé. Le surnageant est récupéré et additionné à 600µl d'eau pour être à nouveau centrifugé. La fraction supérieur d'eau/méthanol contient les sucres. La fraction inférieure de chloroforme contient les lipides.

Les deux fractions sont séparées dans des contenants différents pour les analyses respectives et les solutions sont mises à évaporation.

Pour les lipides, une courbe d'étalonnage est réalisée en même temps les échantillons à analyser. Ce sont donc 10 μ l, 50 μ l, 100 μ l, 150 μ l, 250 μ l, 300 μ l et 450 μ l qui sont prélevés depuis la solution standard (10 μ l d'huile végétale pour 10ml de chloroforme) et placés dans des tubes différents pour évaporation. Un blanc est aussi réalisé pour la courbe d'étalonnage. Quand le chloroforme est complètement évaporé, 200 μ l d'acide sulfurique sont ajoutés pour que les échantillons soient placés au bain-marie à environ 100°C pendant 10 minutes. Il faut ensuite ajouter la solution de vanilline (600mg de vanilline, 100ml d'eau, 400ml d'acide phosphorique 85%) dans les solutions, les placer sur une plaque multi-puits et mesurer la densité optique à 525nm au spectrophotomètre au VersaMax Microplate Reader (San José, USA). La concentration en lipides dans le pollen peut dès lors être calculée (μ g/mg de pollen).

Pour les glucides, il est aussi nécessaire de réaliser une courbe d'étalonnage. Il faut prélever 10 μ l, 50 μ l, 100 μ l, 200 μ l, 300 μ l, 450 μ l et 600 μ l de la solution de standard (D-glucose 1g/L d'eau). Un blanc est également réalisé pour la courbe d'étalonnage. Après évaporation des solutions, 5ml d'une solution d'anthrone (1g/L d'acide sulfurique 98%) sont ajoutés à tous les échantillons puis placés au bain-marie à environ 100°C pendant 17 minutes. Après avoir laissé refroidir, les échantillons sont transférés sur une plaque multi-puits et la densité optique à 625nm est mesurée au spectrophotomètre au VersaMax Microplate Reader (San José, USA). Etant donné que les échantillons présentaient des concentrations pouvant parfois sortir du cadre de la courbe d'étalonnage, les échantillons sont dilués trois fois avec de la solution d'anthrone dans le puits de la plaque. La dilution n'est pas effectuée pour la courbe d'étalonnage. La concentration en glucides dans le pollen peut dès lors être calculée (μ g/mg de pollen).

3.6 Analyse de la morphométrie alaire

Les ailes antérieures ont été découpées à hauteur du *tegula*, en gardant la structure et les nervures des ailes intactes. Les ailes droites et gauches, des femelles et des mâles, ont été découpées pour chaque individus. S'il y a présence d'une déchirure sur l'une des deux ailes, la paire ne sera pas prise en compte pour la suite des analyses. Pour être photographiées, les ailes sont placées sur du papier millimétré entre deux lames de microscopie puis placées sous un binoculaire Olympus SZH10 couplé à un appareil photo Nikon D70 (Shinjuku, Japon).

Afin de réaliser la suite des analyses, les photos sont compilées dans un fichier sous format TPS à l'aide du logiciel tpsUtil version 1.81 (Rohlf, 2013b). Les coordonnées des points de repère (landmarks) sur l'aile, ainsi que les échelles, sont encodées par le logiciel tpsDig2 version 2.32 (Rohlf, 2013a). Les 16 landmarks ont été assignés en fonction de la nervation alaire (figure 6). Les individus des sites qui présentaient moins de cinq individus ont été exclus. Le nombre total d'ailes utilisées lors des analyses est repris dans le tableau 2.

Tableau 2 : Liste des données disponibles pour les analyses morphologiques des ailes de spécimens d'*O. bicornis* provenant de six pays sur deux sessions de collectes.

	Nombre de sites	T0 femelles	T1 femelles	T0 mâles	T1 mâles
Allemagne	10	4	77	4	86
Espagne	12	8	83	0	77
Estonie	8	8	0	0	0
Italie	14	8	163	0	169
Suède	16	8	146	0	0
Suisse	8	8	0	0	0
Total	68	44	469	4	332

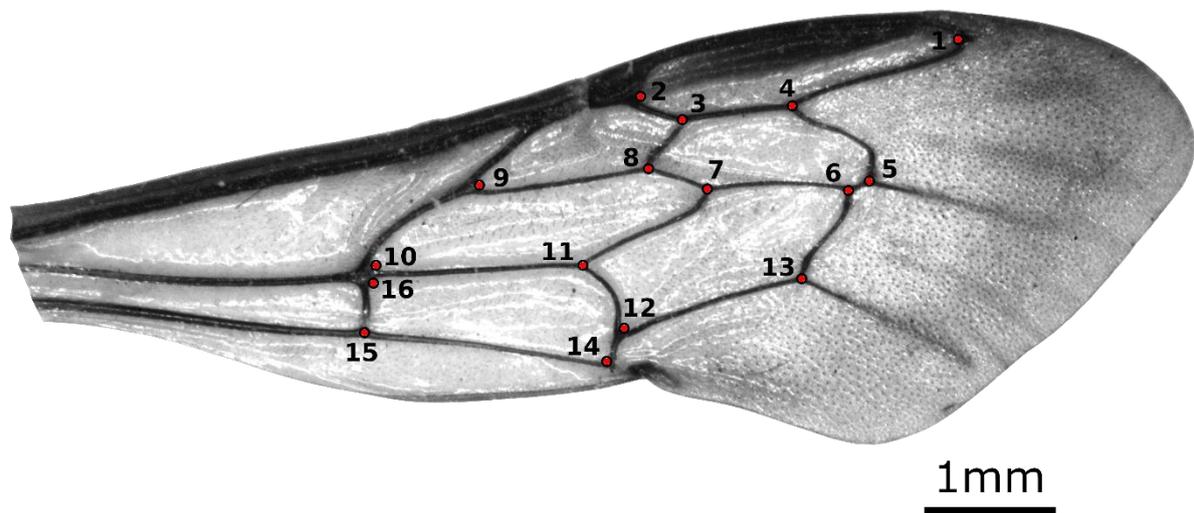


Figure 6 : Image de la disposition des 16 points de repères (landmarks) sur l'aile droite d'une femelle d'*O. bicornis*.

3.7 Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciels R version 4.1.3 et RStudio version 2022.02.2+485 (R Core Team, 2022). Toutes les ailes ont subi une superimposition procruste, c'est-à-dire que la configuration des landmarks a été mise à l'échelle, a été translaté et une rotation a été appliquée dans le but de minimiser la distance entre les landmarks des différents individus. Pour estimer la taille des ailes, la taille centroïde a été calculée. Cette métrique est calculée par la racine carrée de la somme des carrés des distances entre chaque landmark et le centroïde de l'aile. La taille centroïde de l'aile est une bonne estimation de la taille des abeilles. La forme de l'ailes est représentée par la configuration des landmarks. Pour la taille et la forme, seule l'aile droite a été utilisée. Les métriques se référant à l'asymétrie ont été calculées par Maxence Gérard. Il s'agit de l'asymétrie fluctuante (AF) de la taille de l'aile, qui est la valeur absolue de la soustraction de la taille centroïde de l'aile droite et gauche. L'AF de la taille de l'aile montre la différence de taille entre l'aile gauche et l'aile droite. Ainsi que l'AF de la forme de l'aile qui représente la déviation de la symétrie bilatérale parfaite par rapport à la forme et se calcule par la racine carrée de la somme des carrés de la valeur de chaque landmark, coordonnée x et y. Pour les métriques d'asymétrie l'aile droite et gauche ont été utilisées.

Il a été vérifié si des variables sont colinéaires parmi les variables environnementales potentiellement explicatives des variations morphologiques et de l'alimentation. Une matrice de corrélation a donc été réalisée (fonction cor, R-package stats) et les variables ayant un coefficient de corrélation de Pearson plus haut de 0,7 ont été retirées (Dormann et al., 2013). Six variables numériques ont été retenues pour la suite. Il s'agit de la surface de terres arables, de prairies, de vergés, de zones urbaines, de zones boisées et de la latitude (annexe 1 figure S1A). Les variables facteurs utilisées sont le type de culture, la génération et le pays. La colinéarité a été vérifiée de la même manière pour les variables nutritionnelles du pollen potentiellement explicatives des variations morphologiques. Les variables retenues sont la concentration en protéines, en lipides, en glucides, en stéroïls totaux et en acides aminés totaux. La concentration en protéines et en acides aminés totaux n'ont pas été utilisée dans les mêmes modèles car ces variables sont corrélées entre elles (annexe 1 figure S1B). Les ratios P : L, de protéine : glucide (P : G) et de lipide : glucide (L : G) ont été retenus et ne seront pas utilisés avec d'autres variables lors de la modélisation. Dans la littérature c'est le ratio P : L qui est utilisé dans l'écrasante majorité pour parler de la qualité nutritive du pollen. Le ratio P : G et

L : G ont été utilisés à titre indicatif afin de vérifier si ces paramètres ne seraient pas révélateurs d'une dynamique dans la sélection du pollen par les osmies.

Les concentrations en cholestérol, desmostérol, 24-méthylène cholestérol + campestérol, stigmastérol, β -sitostérol, cholesténone, δ 7-stigmastérol et δ 7-avenastérol ont été retenues et ne seront pas utilisées avec d'autres variables lors de la modélisation (annexe 1 figure S1C).

3.7.1 Variation de la diète

Pour déterminer si le contenu du pollen collecté par les femelles en T0 et consommé par leur descendance en T1 diffère significativement entre les pays, une ANOVA (fonction `aov`, R-package `stats`) a été réalisée. Les composés du pollen testés sont la concentration totale en protéines, lipides, glucides, stérols, acides aminés, ainsi que le ratio P : L, P : G et de L : G. Les hypothèses liées à l'ANOVA ont été vérifiées : 1) indépendance des observations, 2) homoscedasticité (fonction `leveneTest`, R-package `car`), et 3) normalité des résidus (fonction `shapiro.test`, R-package `stats`). Un test post-hoc Tukey's HSD (fonction `TukeyHSD`, R-package `stats`) a été réalisé si le résultat de l'ANOVA était significatif. Si une de ces hypothèses n'était pas respectée, un test de Kruskal-Wallis non-paramétrique (fonction `kruskal.test`, R-package `stats`) a été réalisé à la place de l'ANOVA. Pour les tests rapportant un résultat significatif, un test post-hoc de Wilcoxon (fonction `pairwise.wilcox.test`, R-package `stats`) a été réalisé avec la méthode de Benjamini et Hochberg. Les mêmes analyses ont été réalisées avec une comparaison entre le type de culture, champs de colza ou vergers de pommiers, pour les différents composés chimiques du pollen cité ci-dessus.

Afin de déceler l'effet des éléments environnementaux sur la diète, des modèles linéaires mixtes (LMM) avec une distribution Gaussienne (fonction `lmer`, R-package `lme4`) ont été utilisés. Dans ces modèles, les facteurs fixes sont le type de culture, la surface de terres arables, de prairies, de vergés, de zones urbaines, de zones boisées et de la latitude. Le pays représente le facteur aléatoire dans ces modèles. Aucune interaction n'a été incorporée dans les modèles car au vu du nombre de variables fixes dans le paramétrage, les besoins en puissance de calcul étaient trop importants. Il a été nécessaire de vérifier la normalité des résidus (fonction `Shapiro.test`, R-package `car`). Si les résidus ne suivent pas une distribution normale, un modèle linéaire généralisé mixte (GLMM) (fonction `glmmTMB`, R-package `glmmTMB`) a été réalisé. Les facteurs restent les mêmes que pour le LMM. En passant à un GLMM, il a donc été considéré que la variable dépendante étudiée suit une distribution gamma. Le modèle a donc

été paramétré avec l'argument « family = Gamma (link = "log") ». Cette démarche a été effectuée pour toutes les variables réponses qui sont la concentration en protéines, en lipides, en glucides, en stéroïls totaux et en acides aminés totaux ainsi que les ratios P : L, P : G et L : G.

3.7.2 Variation du phénotype

Le dimorphisme sexuel étant trop important au sein de l'espèce, les analyses conduites sur les femelles et mâles ont été réalisées séparément. Afin de déterminer si le phénotype des femelles d'osmie a varié significativement entre T0 et les différents pays en T1, une ANOVA (fonction aov, R-package stats) a été réalisée. Les hypothèses liées à l'ANOVA ont été vérifiées : 1) indépendance des observations, 2) homoscedasticité (fonction leveneTest, R-package car), et 3) normalité des résidus (fonction shapiro.test, R-package stats). Un test post-hoc Tukey's HSD (fonction TukeyHSD, R-package stats) a été réalisé si le résultat de l'ANOVA était significatif. Si une de ces hypothèses n'était pas respectée, un test de Kruskal-Wallis non-paramétrique (fonction kruskal.test, R-package stats) a été réalisé. Pour les tests rapportant un résultat significatif, un test post-hoc de Wilcoxon (fonction pairwise.wilcox.test, R-package stats) a été réalisé avec la méthode de Benjamini et Hochberg. Les variables réponses testées sont la taille des ailes, l'asymétrie directionnelle et l'AF de la forme des ailes. La forme des ailes a été analysée en étudiant la variation de la configuration des landmarks à l'aide d'une ANOVA procruste (fonction procD.lm, R-package geomorph). Il a été décidé de réunir toutes les femelles de la génération T0 pour ne former qu'un seul groupe. Ainsi tous les pays partageront les mêmes T0. Ce choix a été motivé par le nombre très faible d'individus de la génération T0 (44 femelles et 4 mâles) reçu par le laboratoire de Zoologie dans le cadre du projet PoshBee. Les osmies provenant toutes de la même entreprise, il a été assumé que les conditions d'élevage et de croissance ont été identiques pour toutes les femelles de la génération T0. Toujours en raison du nombre d'individus trop peu important, la variation du phénotype chez les mâles n'a été étudiée qu'entre individus de T1 en fonction du pays d'origine. Les analyses statistiques conduites sur les mâles ont été les mêmes que celles citées ci-dessus pour les femelles, à la différence que seule la variation entre les différents pays a été réalisée.

Etant donné que les observations du jeu de données présentent des valeurs manquantes pour certaines variables, telles que les données de stéroïls et d'acides aminés, la modélisation a été réalisée selon différents groupes de variables explicatives successifs. Cela a pour but de ne

pas perdre trop d'information lors des délétions exercées par les modèles. Les groupes de variables fixes sont dès lors : 1) le type de culture, la surface de terres arables, de prairies, de vergés, de zones urbaines, de zones boisées et de la latitude (469 femelles et 332 mâles) ; 2) la concentration en protéines, en lipides et en glucides (469 femelles et 332 mâles) ; 3) les ratios P : L, P : G et de L : G (469 femelles et 332 mâles) ; 4) la concentration en protéines, en lipides, en glucides et en stérols totaux (212 femelles et 210 mâles) ; 5) les concentrations en cholestérol, desmostérol, 24-méthylène cholestérol + campestérol, stigmastérol, β -sitostérol, cholesténone, δ 7-stigmastérol et δ 7-avenastérol (212 femelles et 210 mâles) ; 6) la concentration en lipides, en glucides, en stérols totaux et en acides aminés totaux (63 femelles et 56 mâles).

Les effets des éléments environnementaux et de l'alimentation sur le phénotype ont été analysés parmi les spécimens collectés en T1. La modélisation a été réalisée séparément pour les femelles et les mâles. Les effets des facteurs pouvant induire une variation de la taille de l'aile, représentée par la taille centroïde, ainsi que l'asymétrie directionnelle et l'asymétrie fluctuante des ailes ont été analysés par la réalisation de LMM avec une distribution Gaussienne (fonction lmer, R-package lme4). Les variables potentiellement explicatives de la variation sont les variables fixes et n'ont pas été modélisées avec des interactions. Les facteurs aléatoires utilisés dans les modèles sont le pays et le site pour prendre en compte la pseudoréplication. La normalité des résidus a été vérifiée pour chaque modèle (fonction Shapiro.test, R-package car). Si les résidus ne suivent pas une distribution normale, un modèle linéaire généralisé mixte (GLMM) (fonction glmmTMB ou glmer, R-package glmmTMB et lme4) a été réalisé. Les facteurs restent les mêmes que pour le LMM. En passant à un GLMM, il a donc été considéré que la variable dépendante étudiée suit une distribution gamma. Le modèle a donc été paramétré avec l'argument « family = Gamma (link = "log") ».

Dans le but d'analyser la relation entre la taille et la forme de l'aile, une ANOVA procruste (fonction procD.lm, R-package geomorph) a été réalisée avec la taille centroïde comme variable explicative et la forme de l'aile comme variable réponse. Ensuite, les effets des éléments environnementaux et de l'alimentation sur la forme de l'aile ont été analysés par la réalisation de modèles linéaires (fonction lm.rpp, R-package geomorph). Cette fonction permet de travailler avec des données multidimensionnelles telles que la configuration des landmarks dans ce cas-ci. Les variables potentiellement explicatives de la variation sont les variables fixes et n'ont pas été modélisées avec des interactions. Le pays a été encodé comme variable aléatoire.

4 Résultats

4.1 Variation de la diète et facteurs explicatifs

Au total nous avons analysé 89 échantillons pour lesquels nous avons la concentration en protéines, lipides et glucides de pour la totalité des échantillons ; la concentration en stérols totaux pour 38 échantillons ; la concentration en acides aminés totaux pour 27 échantillons (tableau 3). Les valeurs de concentration moyenne pour chaque nutriment sont repises dans le tableau 4.

Tableau 3 : Liste des données disponibles pour les analyses de la composition chimique du pollen. Les pollens proviennent de six pays et ont été collectés par *O. bicornis*.

	<i>Protéine</i>	<i>Lipides</i>	<i>Glucides</i>	<i>Stérols</i>	<i>Acides aminés</i>
<i>Allemagne</i>	15	15	15	0	0
<i>Espagne</i>	16	16	16	13	16
<i>Estonie</i>	16	16	16	12	11
<i>Italie</i>	14	14	14	13	0
<i>Suède</i>	16	16	16	0	0
<i>Suisse</i>	12	12	12	0	0
<i>Total</i>	89	89	89	38	27

Tableau 4 : Composition chimique et ratios des pollens issus de six pays. Les valeurs moyennes sont accompagnées de la déviation standard.

Composés chimiques	Allemagne	Espagne	Estonie	Italie	Suède	Suisse	Général
Protéines (mg/g)	320,32 ± 103,78	389,90 ± 88,16	168,57 ± 33,76	252,07 ± 66,81	285,33 ± 53,65	224,84 ± 34,24	275,65 ± 98,92
Lipides (mg/g)	59,21 ± 7,43	68,95 ± 26,77	44,21 ± 10,53	48,44 ± 20,95	41,52 ± 9,19	66,48 ± 22,82	54,37 ± 20,28
Glucides (mg/g)	479,76 ± 83,07	497,27 ± 113,02	320,57 ± 93,97	185,20 ± 78,16	375,70 ± 78,47	406,68 ± 58,17	379,39 ± 134,65
Ratio Protéine:Lipide	5,64 ± 2,47	6,26 ± 2,13	3,94 ± 0,89	5,99 ± 2,47	7,28 ± 2,39	3,74 ± 1,21	5,54 ± 2,35
Ratio Protéine:Glucide	0,69 ± 0,27	0,87 ± 0,47	0,58 ± 0,25	1,60 ± 0,69	0,78 ± 0,17	0,57 ± 0,14	0,84 ± 0,51
Ratio Lipide:Glucide	0,12 ± 0,02	0,15 ± 0,08	0,15 ± 0,05	0,31 ± 0,18	0,11 ± 0,03	0,17 ± 0,06	0,17 ± 0,11
Acides aminés totaux (mg/g)	-	452,80 ± 66,39	298,68 ± 51,34	-	-	-	390,01 ± 97,53
Stérols totaux (mg/g)	-	5,89 ± 1,09	5,24 ± 2,12	7,13 ± 3,54	-	-	6,11 ± 2,53
Cholestérol (mg/g)	-	0,32 ± 0,20	0,12 ± 0,10	0,15 ± 0,10	-	-	0,20 ± 0,17
Desmostérol (mg/g)	-	0,06 ± 0,04	0,02 ± 0,02	0,58 ± 1,92	-	-	0,23 ± 1,12
24-méthylène cholestérol/campestérol (mg/g)	-	2,53 ± 1,48	0,88 ± 0,56	1,68 ± 2,01	-	-	1,72 ± 1,60
Stigmastérol (mg/g)	-	0,23 ± 0,24	0,25 ± 0,23	0,08 ± 0,03	-	-	0,19 ± 0,20
β-sitostérol (mg/g)	-	0,84 ± 0,72	2,65 ± 0,95	2,77 ± 1,94	-	-	2,07 ± 1,57
δ5-avenastérol (mg/g)	-	1,63 ± 0,45	0,96 ± 0,51	1,41 ± 1,17	-	-	1,34 ± 0,81
Cholesténone (mg/g)	-	0,07 ± 0,05	0,05 ± 0,02	0,10 ± 0,05	-	-	0,07 ± 0,05
δ7-stigmastérol (mg/g)	-	0,14 ± 0,16	0,27 ± 0,13	0,28 ± 0,54	-	-	0,23 ± 0,33
δ7-avenastérol (mg/g)	-	0,06 ± 0,05	0,04 ± 0,01	0,06 ± 0,07	-	-	0,05 ± 0,05

À la suite des analyses statistiques, aucune relation significative entre le type de culture et la composition chimique du pollen n'a été observé par les tests réalisés (p -value $> 0,05$). La comparaison entre le pays d'origine et la composition chimique du pollen montre des résultats significatifs (p -value $< 0,05$) (figures 7 et 8).

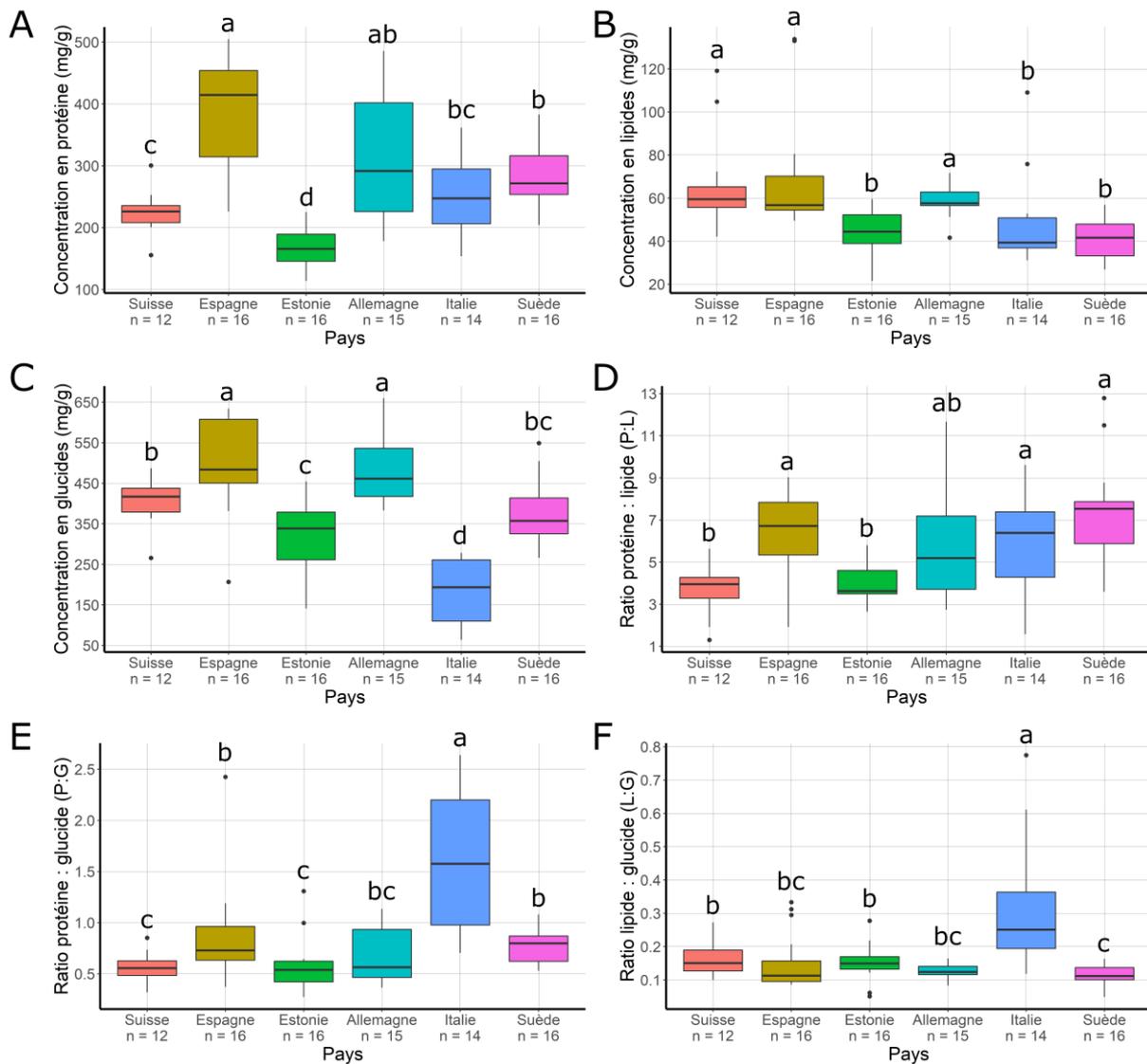


Figure 7 : Comparaison entre les six pays d'origine de la concentration du pollen en **A.** protéines, **B.** lipide, **C.** glucides et du **D.** ratio P : L, **E.** ratio P : G, **F.** ratio L : G. Les lettres au-dessus des boîtes de dispersions se réfère au test de Post-Hoc de Wilcoxon. Des lettres différentes indiquent une différence significative entre ces conditions.

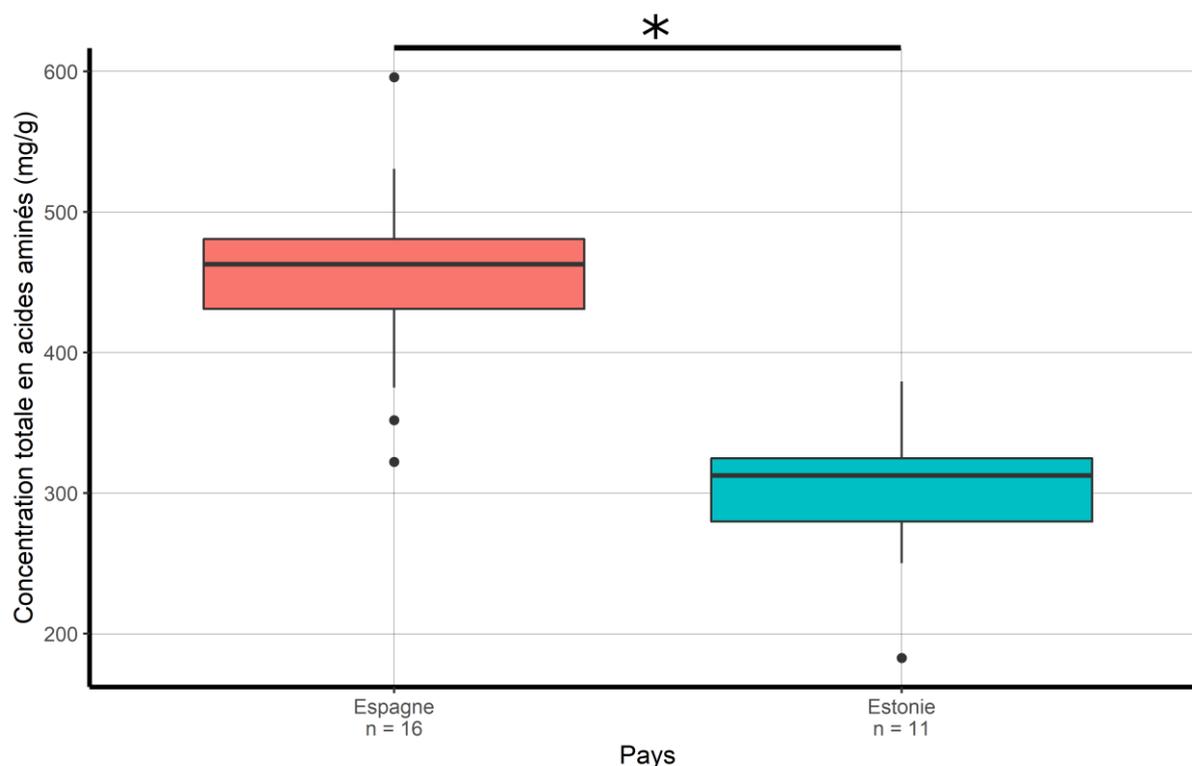


Figure 8 : Comparaison de la concentration en acides aminés totaux entre l’Espagne et l’Estonie. Le symbole * indique si une différence significative est observée entre les conditions calculé par un test Post-Hoc de Wilcoxon.

Il a été observé que plus les osmies se trouvent à des latitudes élevées, moins leur pollen est concentré en protéines (LMM, $\chi^2 = 15,4268$, DF = 1, p-value < 0,001) et en lipides (GLMM, $\chi^2 = 11,4392$, DF = 1, p-value < 0,001). La concentration en acides aminés totaux dans le pollen est significativement plus petite sur les stations se trouvant à de plus hautes latitudes (LMM, $\chi^2 = 33,2538$, DF = 1, p-value < 0,001). Le résumé des résultats d’analyses sont repris à l’annexe 2 figure S1.

La concentration en protéines dans le pollen collecté par les femelles de T0 pour la descendance de T1 est significativement différente entre les six pays (Kruskal-Wallis test, $\chi^2 = 50,301$, DF = 5, p-value < 0,001) (figure 7A). Le test post-hoc montre que le pollen provenant d’Estonie est significativement moins concentré en protéines que le pollen provenant d’Allemagne (p-value < 0,001), d’Espagne (p-value < 0,001), d’Italie (p-value < 0,001), de Suède (p-value < 0,001) et de Suisse (p-value < 0,001). Le pollen provenant d’Espagne est significativement plus concentré en protéines que le pollen provenant d’Italie (p-value < 0,001),

de Suède (p-value = 0,00144) et de Suisse (p-value < 0,001). Aucune différence significative n'a été observée pour la concentration du pollen en protéines entre l'Espagne et l'Allemagne (p-value > 0,05). Le pollen provenant de Suisse est significativement moins concentré en protéines que le pollen provenant d'Allemagne (p-value = 0,02788), de Suède (p-value = 0,00206). Aucune différence significative n'est observée pour la concentration du pollen en protéines entre la Suisse et l'Italie (p-value > 0,05), et entre l'Allemagne, l'Italie et la Suède (p-value > 0,05).

La concentration en lipides dans le pollen collecté par les femelles de T0 pour la descendance de T1 est significativement différente entre les six pays (Kruskal-Wallis test, $\chi^2 = 40,639$, DF = 5, p-value < 0,001) (figure 7B). Le test post-hoc montre que le pollen provenant d'Allemagne est significativement plus concentré en lipides que le pollen provenant d'Estonie (p-value < 0,001), d'Italie (p-value = 0,00357) et de Suède (p-value < 0,001). Aucune différence significative n'a été observée pour la concentration du pollen en lipides entre l'Allemagne, l'Espagne et la Suisse (p-value > 0,05). Le pollen provenant d'Espagne est significativement plus concentré en lipides que le pollen provenant d'Estonie (p-value < 0,001), d'Italie (p-value = 0,00108) et de Suède (p-value < 0,001). Le pollen provenant de Suisse est significativement plus concentré en lipides que le pollen provenant d'Estonie (p-value < 0,001), d'Italie (p-value = 0,00618) et de Suède (p-value < 0,001). Aucune différence significative n'a été observée pour la concentration du pollen en lipides entre l'Estonie, l'Italie et la Suède (p-value > 0,05).

La concentration en glucides dans le pollen collecté par les femelles de T0 pour la descendance de T1 est significativement différente entre les six pays (Kruskal-Wallis test, $\chi^2 = 52,245$, DF = 5, p-value < 0,001) (figure 7C). Le test post-hoc montre que le pollen provenant d'Italie est significativement moins concentré en glucides que le pollen provenant d'Allemagne (p-value < 0,001), d'Espagne (p-value < 0,001), d'Estonie (p-value < 0,001), de Suède (p-value < 0,001) et de Suisse (p-value < 0,001). Le pollen provenant d'Espagne est significativement plus concentré en glucides que le pollen provenant d'Estonie (p-value < 0,001), de Suède (p-value = 0,00199) et de Suisse (p-value = 0,00974). Aucune différence significative n'a été observée pour la concentration du pollen en glucides entre l'Allemagne et l'Espagne (p-value > 0,05). Le pollen provenant d'Allemagne est significativement plus concentré en glucides que le pollen provenant d'Estonie (p-value < 0,001), de Suède (p-value = 0,00244) et Suisse (p-value = 0,03518). Le pollen provenant de Suisse est significativement plus concentré en glucides que le pollen provenant d'Estonie (p-value = 0,00974). Aucune différence significative

n'a été observée pour la concentration du pollen en glucides entre la Suède et la Suisse (p-value > 0,05) et entre l'Estonie et la Suède (p-value > 0,05).

Le ratio protéine : lipide (P : L) des pollens collectés par les femelles de T0 pour la descendance de T1 est significativement différent entre les six pays (Kruskal-Wallis test, $\chi^2 = 27,26$, DF = 5, p-value < 0,001) (figure 7D). Le test post-hoc montre que le ratio P : L du pollen provenant de Suisse est significativement moins grand que pour le pollen provenant d'Espagne (p-value = 0,00335), d'Italie (p-value = 0,04334) et de Suède (p-value < 0,001). Aucune différence significative n'a été observée concernant le ratio P : L du pollen entre la Suisse et l'Estonie (p-value > 0,05). Le ratio P : L du pollen provenant d'Estonie est significativement moins grand que pour le pollen provenant d'Espagne (p-value = 0,00339), d'Italie (p-value = 0,04021) et de Suède (p-value < 0,001). Aucune différence significative n'a été observée concernant le ratio P : L du pollen entre l'Allemagne et les cinq autres pays, Espagne, Estonie, Italie, Suède et Suisse (p-value > 0,05). Aucune différence significative n'a été observée concernant le ratio P : L du pollen entre l'Espagne, l'Italie et la Suède (p-value > 0,05).

Le ratio protéine : glucide (P : G) des pollens collectés par les femelles de T0 pour la descendance de T1 est significativement différent entre les six pays (Kruskal-Wallis test, $\chi^2 = 27,26$, DF = 5, p-value < 0,001) (figure 7E). Le test post-hoc montre que le ratio P : G du pollen provenant d'Italie est significativement plus grand que pour le pollen provenant d'Allemagne (p-value < 0,001), d'Espagne (p-value = 0,00264), d'Estonie (p-value < 0,001), de Suède (p-value = 0,00105) et de Suisse (p-value < 0,001). Le ratio P : G du pollen provenant d'Estonie est significativement plus petit que pour le pollen provenant d'Espagne (p-value = 0,01239) et de Suède (p-value = 0,00841). Le ratio P : G du pollen provenant de Suisse est significativement plus petit que pour le pollen provenant d'Espagne (p-value = 0,01390) et de Suède (p-value = 0,00545). Aucune différence significative n'a été observée concernant le ratio P : G du pollen entre l'Allemagne, l'Estonie et la Suisse (p-value > 0,05). Aucune différence significative n'a été observée concernant le ratio P : G du pollen entre l'Allemagne, l'Espagne et la Suède (p-value > 0,05).

Le ratio lipide : glucide (L : G) des pollens collectés par les femelles de T0 pour la descendance de T1 est significativement différent entre les six pays (Kruskal-Wallis test, $\chi^2 = 28,917$, DF = 5, p-value < 0,001) (figure 7F). Le test post-hoc montre que le ratio L : G du pollen provenant d'Italie est significativement plus grand que pour le pollen provenant d'Allemagne (p-value < 0,001), d'Espagne (p-value = 0,0033), d'Estonie (p-value = 0,0033), de Suède (p-value < 0,001) et de Suisse (p-value = 0,0279). Le ratio L : G du pollen provenant

de Suède est significativement plus petit que pour le pollen provenant d'Estonie (p-value = 0,0279) et de Suisse (p-value = 0,0269). Aucune différence significative n'a été observée concernant le ratio L : G du pollen entre l'Allemagne, l'Espagne et la Suède (p-value > 0,05) ainsi qu'entre l'Allemagne, l'Espagne, l'Estonie et la Suisse (p-value > 0,05).

Aucune différence significative entre les six pays n'a été observée pour la concentration en stérols totaux dans le pollen collecté par les femelles de T0 pour la descendance de T1 (Kruskal-Wallis test, $\chi^2 = 2,5032$, DF = 2, p-value = 0,2861).

La concentration en acides aminés totaux dans le pollen collecté par les femelles de T0 pour la descendance de T1 est significativement différente entre les deux pays (Kruskal-Wallis test, $\chi^2 = 15,976$, DF = 1, p-value < 0,001) (figure 8). Le test post-hoc montre que le pollen provenant d'Espagne est significativement plus concentré en acides aminés totaux que le pollen provenant d'Estonie (p-value < 0,001).

4.2 Variation du phénotype

4.2.1 Chez les femelles

Au total, nous avons utilisé 44 femelles de la génération T0 et 469 femelles de la génération T1 pour étudier la variation du phénotype chez *O. bicornis* (figure 9). Les valeurs moyennes des caractéristiques morphologiques des abeilles est repris dans le tableau 5.

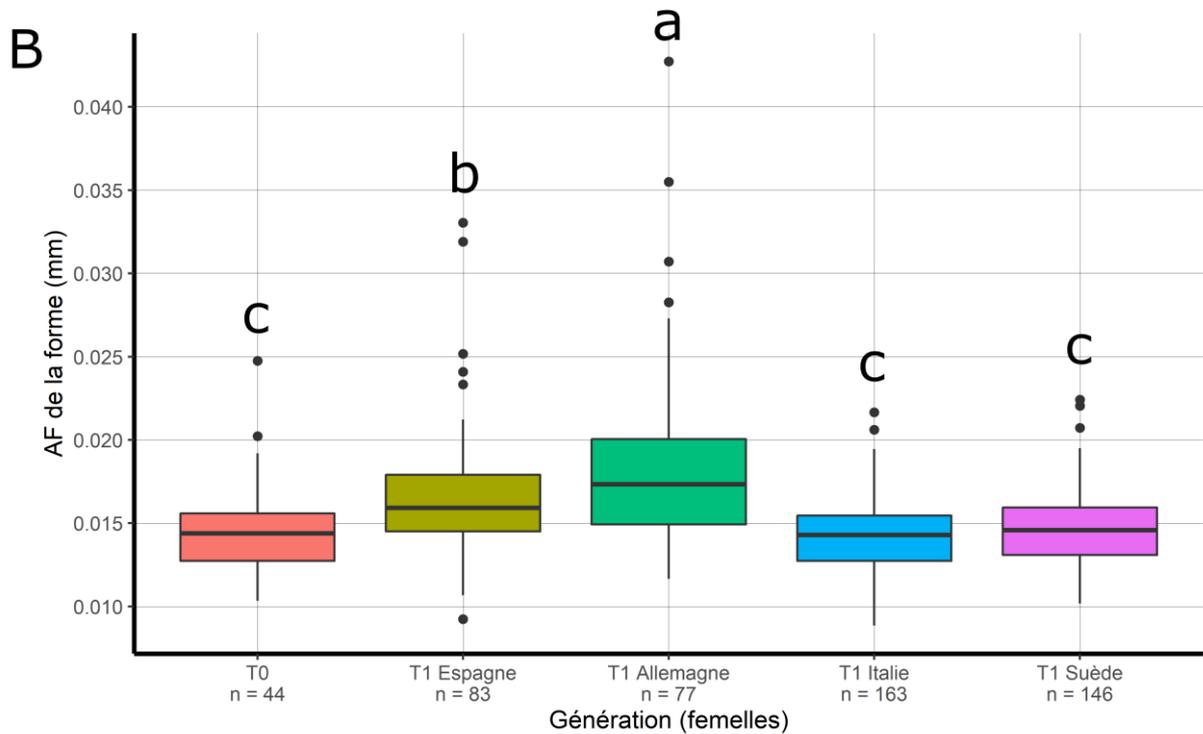
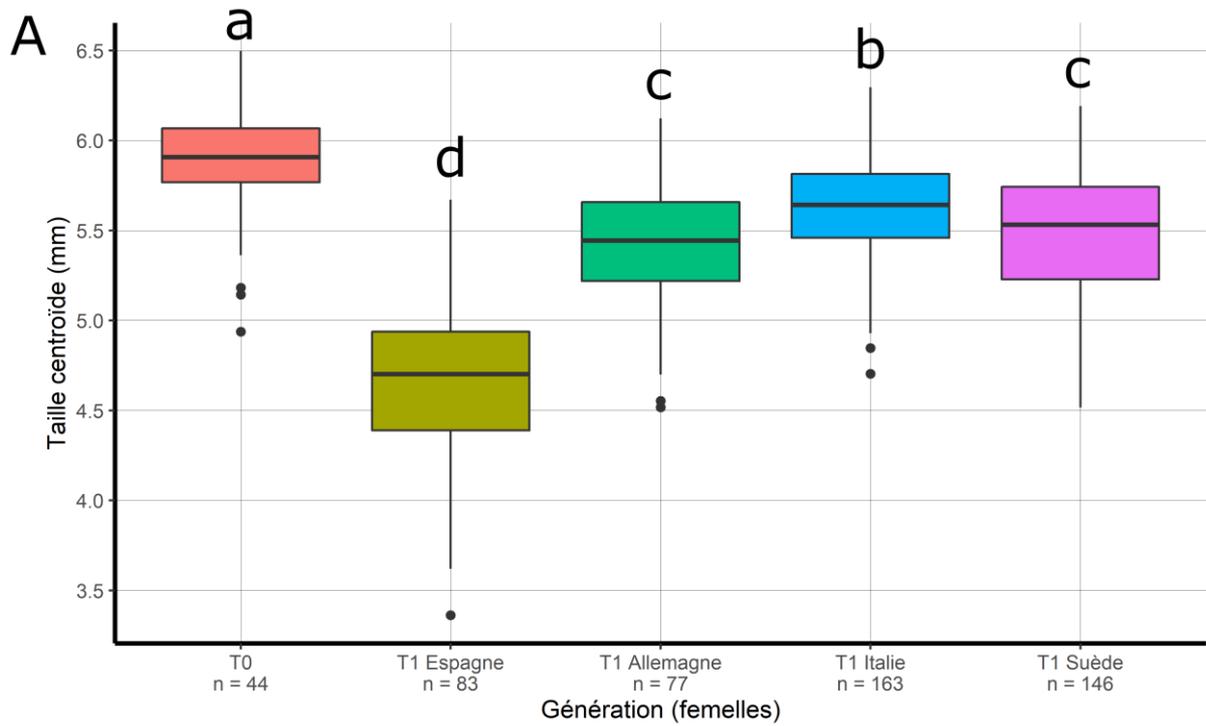


Figure 9 : Variation des éléments du phénotype chez les femelles d'*O. bicornis* entre les deux sessions de collectes et entre les pays lors de la deuxième session de collectes. **A.** Taille centroïde et **B.** l'asymétrie fluctuante (AF) de la forme. Les lettres au-dessus des boîtes de dispersions se réfère au test de Post-Hoc de Wilcoxon. Des lettres différentes indiquent une différence significative entre ces conditions.

Tableau 5 : Valeurs moyennes et la déviation standard des éléments morphologiques d'*O. bicornis*. En fonction de la session de collectes et des pays d'origine. Asymétrie fluctuante (AF).

Composantes morphométriques (mm)	T0	T1 Allemagne	T1 Espagne	T1 Italie	T1 Suède	Général
Femelles						
Taille centroïde	5,89 ± 0,33	5,43 ± 0,37	4,67 ± 0,46	5,63 ± 0,28	5,48 ± 0,35	5,42 ± 42
AF de la taille (x10 ⁻⁴)	0,73 ± 0,70	0,97 ± 1,34	0,84 ± 0,67	0,60 ± 0,53	0,70 ± 0,56	0,73 ± 0,76
AF de la forme (x10 ⁻²)	1,45 ± 0,27	1,86 ± 0,53	1,65 ± 0,38	1,42 ± 0,22	1,47 ± 0,23	1,54 ± 0,35
Mâles						
Taille centroïde	-	4,5 ± 0,37	4,17 ± 0,41	4,93 ± 0,23	-	4,65 ± 0,45
AF de la taille (x10 ⁻⁴)	-	1,36 ± 1,57	0,97 ± 1,04	0,58 ± 0,51	-	0,87 ± 1,06
AF de la forme (x10 ⁻²)	-	1,97 ± 0,55	1,61 ± 0,42	1,39 ± 0,22	-	1,59 ± 0,45

Les osmies femelles collectées en T1 ont des ailes significativement plus petites que les spécimens en T0 (Kruskal-Wallis test, $\chi^2 = 209,59$, DF = 4, p-value < 0,001) (figure 9A). Le test post-hoc montre que c'est le cas pour les quatre pays où des collectes ont été réalisées, pour l'Allemagne (p-value < 0,001), l'Espagne (p-value < 0,001), l'Italie (p-value < 0,001) et la Suède (p-value < 0,001) où les ailes étaient significativement plus petites en T1 qu'en T0. Des différences ont été trouvées entre les pays en T1. Les ailes des spécimens provenant d'Espagne sont significativement plus petites que celles des spécimens ayant été collectés en Allemagne (p-value < 0,001), en Italie (p-value < 0,001) et en Suède (p-value < 0,001). Les individus provenant d'Italie ont des ailes significativement plus grandes que les individus issus d'Allemagne (p-value < 0,001) et de Suède (p-value < 0,001). Aucune différence significative n'a été observée au niveau de la taille des ailes des spécimens collectés en Allemagne et en Suède (p-value > 0,05). L'AF de la taille entre les spécimens de T0 et T1 est significativement différente (Kruskal-Wallis test, $\chi^2 = 11,091$, DF = 4, p-value = 0,02556) mais le test post-hoc n'a révélé aucune différence significative entre T0 et T1 ou entre T1 (p-value > 0,05).

Une différence significative a été observée entre la forme des spécimens de T0 et de T1 ($R^2 = 0,30206$, p-value < 0,001). Le test post-hoc montre que la forme des ailes des spécimens de T1 diffère significativement de T0 pour les quatre pays (p-value < 0,001). La forme des ailes des spécimens de T1 est significativement différente entre les quatre pays (p-value < 0,001). Il a été montré que l'AF de la forme des individus de T0 et T1 est significativement différente (Kruskal-Wallis test, $\chi^2 = 81,73$, DF = 4, p-value < 0,001) (figure 9B). Le test post-hoc montre que l'AF de la forme des spécimens en T0 est significativement plus petite que celle des spécimens en T1 provenant d'Allemagne (p-value < 0,001) et d'Espagne (p-value < 0,001). Aucune différence significative de l'AF de la forme entre les individus de T0 et T1 n'a été observée pour l'Italie et la Suède (p-value > 0,05). Les spécimens provenant d'Italie ont une AF de la forme significativement plus petite que les spécimens provenant d'Allemagne (p-value < 0,001) et d'Espagne (p-value < 0,001). Les individus collectés en Espagne ont une AF de la forme significativement plus petite que les individus collectés en Allemagne (p-value = 0,00844) et significativement plus grande que les individus collectés en Suède (p-value < 0,001). Les spécimens collectés en Allemagne ont une AF de la forme significativement plus grande que les spécimens collectés en Suède (p-value < 0,001).

4.2.2 Chez les mâles

Au total, nous avons utilisé 332 mâles de la génération T1 pour étudier la variation du phénotype chez *O. bicornis* (figure 10). Les valeurs moyennes des caractéristiques morphologiques des abeilles est repris dans le tableau 5.

Les osmies mâles collectés en T1 ont des ailes de tailles significativement différentes entre les pays (Kruskal-Wallis test, $\chi^2 = 167,16$, $DF = 2$, $p\text{-value} < 0,001$) (figure 10A). Le test post-hoc montre que les ailes des spécimens provenant d'Espagne sont significativement plus petites que celles des spécimens collectés en Allemagne ($p\text{-value} < 0,001$) et en Italie ($p\text{-value} < 0,001$). Les spécimens provenant d'Allemagne ont des ailes significativement plus petites que celles des spécimens collectés en Italie ($p\text{-value} < 0,001$).

L'AF de la taille des spécimens collectés en T1 est significativement différente entre les différents pays (Kruskal-Wallis test, $\chi^2 = 29,024$, $DF = 2$, $p\text{-value} < 0,001$) (figure 10B). Le test post-hoc montre que les spécimens provenant d'Allemagne ont une AF de la taille est significativement plus grande que les spécimens collectés en Espagne ($p\text{-value} = 0,0459$) et en Italie ($p\text{-value} = 0,0048$). Les spécimens provenant d'Espagne ont une AF de la taille significativement plus grande que les spécimens collectés en Italie ($p\text{-value} < 0,001$).

Une différence significative a été observée entre la forme des spécimens de T1 ($R^2 = 0,18973$, $p\text{-value} < 0,001$). Le test post-hoc montre que la forme des ailes des spécimens de T1 est significativement différente entre les trois pays ($p\text{-value} < 0,001$). L'AF de la forme des spécimens collectés en T1 est significativement différente entre les différents pays (Kruskal-Wallis test, $\chi^2 = 96,696$, $DF = 2$, $p\text{-value} < 0,001$) (figure 10C). Le test post-hoc montre que les spécimens provenant d'Allemagne ont une AF de la forme est significativement plus grande que les spécimens collectés en Espagne ($p\text{-value} < 0,001$) et en Italie ($p\text{-value} < 0,001$). Les spécimens provenant d'Espagne ont une AF de la forme est significativement plus grande que les spécimens collectés en Italie ($p\text{-value} < 0,001$).

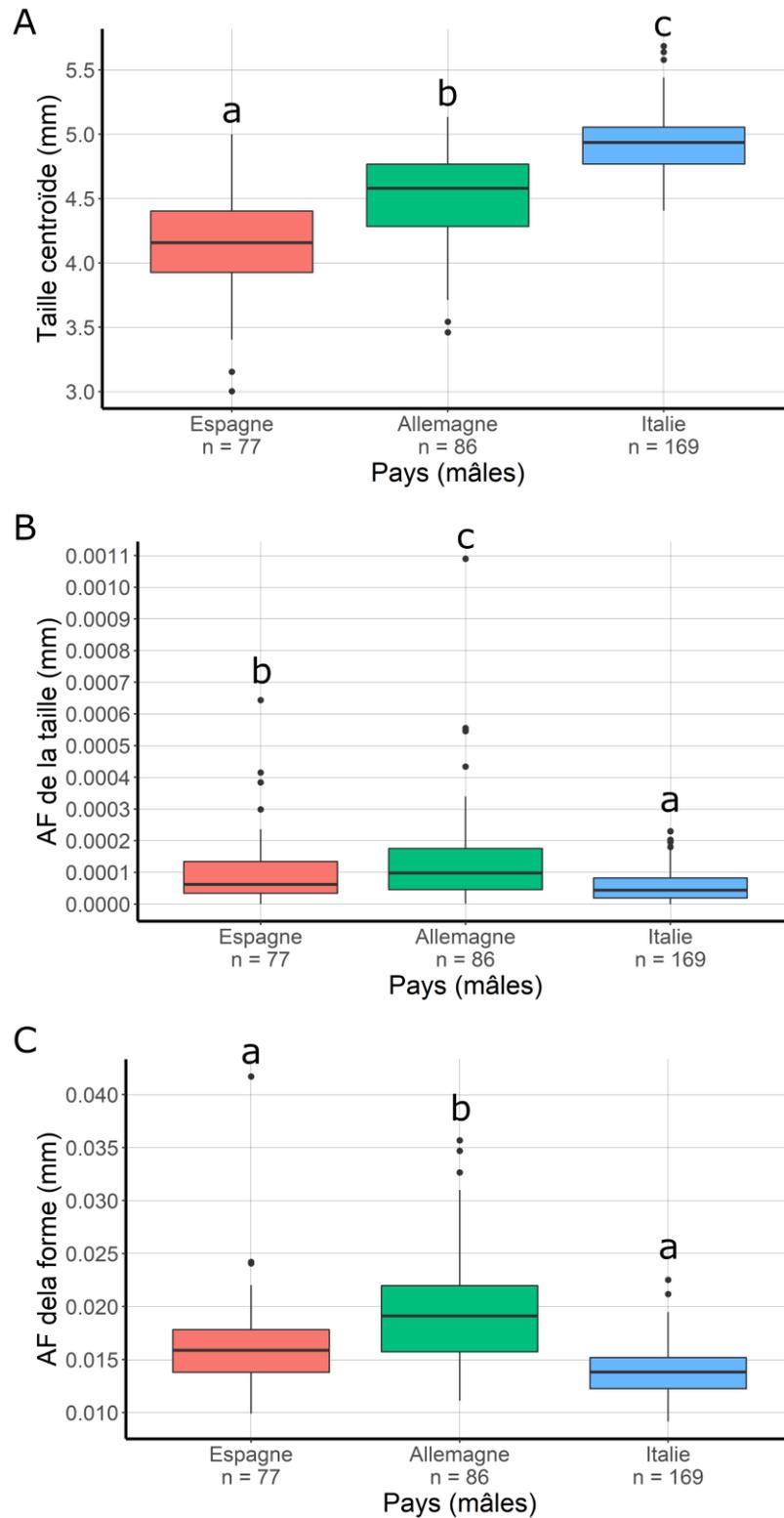


Figure 10 : Variation des éléments du phénotype chez les mâles d'*O. bicornis* entre les pays lors de la deuxième session de collectes. **A.** Taille centroïde, **B.** l'asymétrie fluctuante (AF) de la taille et **C.** l'asymétrie fluctuante (AF) de la forme. Les lettres au-dessus des boîtes de dispersions se réfère au test de Post-Hoc de Wilcoxon. Des lettres différentes indiquent une différence significative entre ces conditions.

4.3 Facteurs induisant une variation du phénotype

4.3.1 Chez les femelles

Les effets des facteurs fixes liés à la composition du paysage et des principaux nutriments du pollen sur le phénotype d'*O. bicornis* sont repris au tableaux 6 et 7. L'effet de stéroïdes et des acides aminés sont repris en annexe 3 tableaux S2, S3 et S4.

Pour le modèle comprenant 469 individus provenant de quatre pays, la taille des ailes est significativement plus grande chez les spécimens provenant des champs de colza (GLMM, $\chi^2 = 4,7028$, DF = 1, p-value = 0,03011). Les spécimens collectés à de plus hautes latitudes présentent des ailes significativement plus grandes (GLMM, $\chi^2 = 18,5982$, DF = 1, p-value < 0,001). La taille des ailes est significativement plus petite pour les diètes étant plus concentrées en lipides (GLMM, $\chi^2 = 12,7709$, DF = 1, p-value < 0,001). Pour le modèle incluant les stéroïdes, comprenant 212 individus dans deux pays, la taille des ailes est significativement plus grande avec une diète étant plus concentrée en β -sitostérol (GLMM, $\chi^2 = 6,5512$, DF = 1, p-value = 0,01048). Pour le modèle incluant les acides aminés, comprenant 63 individus provenant d'Espagne, la taille des ailes est significativement plus petite pour les diètes étant plus concentrées en lipides (LMM, $\chi^2 = 8,2609$, DF = 1, p-value = 0,004051), en glucides (LMM, $\chi^2 = 10,0571$, DF = 1, p-value = 0,001518) et moins concentrées en stéroïdes (LMM, $\chi^2 = 11,4266$, DF = 1, p-value < 0,001).

Pour le modèle comprenant 469 individus provenant de quatre pays, l'AF de la taille est significativement plus grande chez les spécimens provenant de sites présentant moins de surfaces allouées à des vergers (GLMM, $\chi^2 = 4,4420$, DF = 1, p-value = 0,03506). L'AF de la taille est significativement plus grande pour les diètes étant plus riches en glucides (GLMM, $\chi^2 = 4,5871$, DF = 1, p-value = 0,03221). Pour le modèle incluant les stéroïdes, comprenant 212 individus dans deux pays, l'AF de la taille est significativement plus grande pour les diètes étant plus riches en glucides (GLMM, $\chi^2 = 4,0026$, DF = 1, p-value = 0,04543). Pour le modèle incluant les acides aminés, comprenant 63 individus provenant d'Espagne, l'AF de la taille est significativement plus grande pour les diètes étant moins concentrées en stéroïdes (GLMM, $\chi^2 = 5,1487$, DF = 1, p-value = 0,02326).

Tableau 6 : Résumé de l'impact des facteurs fixes liés à la composition du paysage sur les différents traits morphologiques des spécimens d'*O. bicornis* de la deuxième session de collectes. Les effets significatifs sont notés par le symbole « * » et les effets non-significatifs par un « - ». Asymétrie fluctuante (AF).

	Type de culture		Terres arables		Prairies		Vergers		Zones urbaines		Zones boisées		Latitude	
	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂
Sexe	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂
Taille (mm)	*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	*	*
Forme	*	*	*	-	-	-	*	-	*	-	*	-	-	-
AF de la taille (mm)	-	-	-	-	-	-	*	-	-	-	-	-	-	*
AF de la forme (mm)	-	-	-	-	*	-	-	-	-	-	-	-	-	*

Tableau 7 : Résumé de l'impact des facteurs fixes liés à la composition chimique du pollen sur les différents traits morphologiques des spécimens d'*O. bicornis* de la deuxième session de collectes. Les valeurs de concentrations et les ratios n'ont pas été modélisés en même temps. Les effets significatifs sont notés par le symbole « * » et les effets non-significatifs par un « - ». Asymétrie fluctuante (AF).

	Protéines		Lipides		Glucides		Ratio P:L		Ratio P:G		Ratio L:G	
	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂
Sexe	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂
Taille (mm)	-	-	*	-	-	*	-	-	-	-	-	-
Forme	*	*	*	-	-	-	*	*	-	-	-	-
AF de la taille (mm)	-	-	-	-	*	*	-	-	-	*	-	-
AF de la forme (mm)	*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Pour le modèle comprenant 469 individus provenant de quatre pays, l'AF de la forme est significativement moins grande pour les spécimens provenant de sites présentant de plus grandes surfaces de prairies (GLMM, $\chi^2 = 4,5607$, DF = 1, p-value = 0,03271). L'AF de la forme est significativement plus grande pour les diètes étant plus riches en protéines (GLMM, $\chi^2 = 14,2762$, DF = 1, p-value < 0,001). Pour le modèle incluant les stérols, comprenant 212 individus dans deux pays, l'AF de la forme est significativement plus grande pour les diètes étant plus riches en protéines (GLMM, $\chi^2 = 3,9152$, DF = 1, p-value = 0,04785). L'AF de la forme est significativement plus grande pour les diètes plus concentrées en cholestérol (GLMM, $\chi^2 = 15,7287$, DF = 1, p-value < 0,001) et moins concentrées en δ^7 -avenastérol (GLMM, $\chi^2 = 5,5919$, DF = 1, p-value = 0,01804).

Pour le modèle comprenant 469 individus provenant de quatre pays, la forme des ailes est significativement expliquée par la taille des ailes (ANOVA procruste, $R^2 = 0,13246$, p-value < 0,001). Le modèle reprenant les variables environnementales montre que la forme des ailes est significativement expliquée par la culture du site d'origine (p-value = 0,047), la surface de terres arables (p-value = 0,029), la surface occupée par des vergers (p-value = 0,040), la surface de zones boisées (p-value = 0,003), la surface de zones urbaines (p-value = 0,017) et le pays d'origine ($R^2 = 0,15074$, p-value < 0,001). Les modèles reprenant les variables nutritionnelles montrent que la forme des ailes est significativement expliquée par : 1) la concentration en protéines (p-value < 0,001), en lipides (p-value = 0,005) et du pays ($R^2 = 0,19088$, p-value < 0,001) ; 2) le ratio P : L (p-value < 0,001) et du pays ($R^2 = 0,24511$, p-value < 0,001). Pour le modèle incluant les stérols, comprenant 212 individus dans deux pays, la forme des ailes est expliquée significativement par la concentration en protéines (p-value < 0,001), en lipides (p-value = 0,008), en glucides (p-value = 0,023) et le pays d'origine ($R^2 = 0,05918$, p-value < 0,001). Pour le modèle incluant les acides aminés, comprenant 63 individus provenant d'Espagne, la forme des ailes est expliquée significativement par la concentration lipides (p-value = 0,016), en glucides (p-value < 0,001), en stérols (p-value < 0,001) et en acides aminés (p-value < 0,001).

4.3.2 Chez les mâles

Les effets des facteurs fixes liés à la composition du paysage et des principaux nutriments du pollen sur le phénotype d'*O. bicornis* sont repris au tableaux 7 et 8. L'effet de stérols et des acides aminés sont repris en annexe 3 tableaux S2, S3 et S4.

Pour le modèle comprenant 322 individus provenant de trois pays, les spécimens collectés à de plus hautes latitudes présentent des ailes significativement plus grandes (GLMM, $\chi^2 = 4,6323$, DF = 1, p-value = 0,03138). La taille des ailes est significativement plus petite pour les diètes plus concentrées en glucides (GLMM, $\chi^2 = 6,1198$, DF = 1, p-value = 0,01337).

Pour le modèle comprenant 322 individus provenant de trois pays, les spécimens collectés à de plus hautes latitudes présentent une AF de la taille significativement plus grande (GLMM, $\chi^2 = 5,4030$, DF = 1, p-value = 0,02010). L'AF de la taille est significativement plus grande pour les diètes les plus concentrées en glucides (GLMM, $\chi^2 = 13,9269$, DF = 1, p-value < 0,001). L'AF de la taille est significativement plus petite pour les diètes présentant un plus grand ratio P : G (GLMM, $\chi^2 = 6,4103$, DF = 1, p-value = 0,01135). Pour le modèle incluant les stérols, comprenant 210 individus dans deux pays, l'AF de la taille est significativement plus petite pour les diètes plus concentrées en glucides (GLMM, $\chi^2 = 10,3402$, DF = 1, p-value = 0,001302).

Pour le modèle comprenant 322 individus provenant de trois pays, les spécimens collectés à de plus hautes latitudes présentent une AF de la forme significativement plus grande (GLMM, $\chi^2 = 5,5376$, DF = 1, p-value = 0,01861). Pour le modèle incluant les stérols, comprenant 210 individus dans deux pays, l'AF de la forme est significativement plus petite pour les diètes les plus concentrées en stérols (GLMM, $\chi^2 = 4,2140$, DF = 1, p-value = 0,04009). L'AF de la forme est significativement plus grande pour les diètes plus concentrées en cholestérol (GLMM, $\chi^2 = 4,0452$, DF = 1, p-value = 0,0443).

Pour le modèle comprenant 322 individus provenant de trois pays, la forme des ailes est significativement expliquée par la taille des ailes (ANOVA procruste, $R^2 = 0,18187$, p-value < 0,001). Le modèle reprenant les variables environnementales montre que la forme des ailes est significativement expliquée par la culture du site d'origine (p-value = 0,015) et le pays d'origine ($R^2 = 0,05948$, p-value < 0,001). Les modèles reprenant les variables nutritionnelles montrent que la forme des ailes est significativement expliquée par : 1) la concentration en protéines (p-value = 0,024) et du pays ($R^2 = 0,07483$, p-value < 0,001) ; 2) le ratio P : L (p-value = 0,002) et du pays ($R^2 = 0,1102$, p-value < 0,001). Pour le modèle incluant les stérols, comprenant 210 individus dans deux pays, la forme des ailes est expliquée significativement par la concentration en protéines (p-value < 0,002) et le pays d'origine ($R^2 = 0,04907$, p-value < 0,001). Pour le modèle incluant les acides aminés, comprenant 56 individus provenant d'Espagne, la forme des ailes est expliquée significativement par la concentration en glucides (p-value = 0,010).

5 Discussion

5.1 Variation de la diète

Au cours de ce travail, il a pu être montré que la diète d'*O. bicornis* est très variable en fonction de son environnement. D'importantes différences ont pu être mises en évidence dans la composition chimique du pollen par rapport au pays d'origine. Les protéines et glucides sont les éléments dont la concentration varie le plus entre les pays au contraire des lipides. C'est la situation opposée qui est observée chez *A. mellifera* et *B. terrestris* dans le cadre du projet PoshBee (Michez et al., 2021). Cependant le ratio P : L reste constant entre les pays, sauf pour l'Estonie et la Suisse où le ratio est plus faible que les autres pays. Cela indiquerait qu'*O. bicornis* a tendance à maintenir un ratio P : L entre les différentes conditions, c'est-à-dire entre les différents pays et types de culture. Il semblerait que les espèces généralistes sont capables de réguler leur apport en macronutriments en fonction de leurs besoins (Vaudo et al., 2016). Lors de cette étude, le ratio P : L moyen pour le pollen d'*O. bicornis* est de 5,5 : 1. Ce ratio est similaire à celui observé chez *Bombus impatiens* et supérieur à celui d'*O. cornifrons* qui est de 2,9 : 1 (Vaudo et al., 2016, 2020). La différence de ratio entre ces deux espèces d'osmie peut venir des préférences différentes de ces abeilles. *O. cornifrons* préfère collecter du pollen provenant de Rosaceae et de Fabaceae alors qu'*O. bicornis* est une espèce plus généraliste, ce qui lui permet de varier les sources de pollen pour créer un mixte optimal (Vaudo et al., 2020). De plus, en condition expérimentales certaines espèces de bourdons parviennent à atteindre un ratio P : L dépassant 10 : 1 (Vaudo et al., 2020). Les variations de concentration en protéines pourraient venir du choix floral variable pour le genre *Osmia* (Praz et al., 2008). Il a été montré que les femelles d'*O. bicornis* ont tendance à choisir la ressource florale la plus abondante au lieu de la plus nutritive, ceci pour minimiser le temps nécessaire pour compléter une cellule dans le nid (Radmacher & Strohm, 2010).

La modélisation de l'effet de la composition du paysage sur les concentrations des différents nutriments n'a pas été concluante. Seule la latitude semble pouvoir expliquer la variation de la concentration en protéines, lipides et acides aminés totaux. La composition du paysage n'est visiblement pas un facteur déterminant pour expliquer le comportement nutritionnel des pollinisateurs (Beyer et al., 2022). Les pollinisateurs peuvent subir une contrainte de la part de l'environnement par rapport à la diversité et la disponibilité des ressources florales (Di Pasquale et al., 2016), et non par une configuration spécifique de cet environnement. La diversité de plante est moins grande aux plus hautes latitudes et cela diminue

le choix des abeilles pour la collecte de pollen et entraîne une diminution de la qualité de la diète (Rafiqpoor et al., 2005; Roger et al., 2017). Ce phénomène pourrait expliquer les faibles concentrations en nutriments dans les pollens provenant d'Estonie ainsi que la richesse des pollens d'Espagne et d'Italie.

Il a été montré que la concentration totale en acides aminés est plus grande en Espagne qu'en Estonie. Cette différence est valable pour les autres nutriments testés, protéines, lipides et glucides. Cependant, trop peu d'informations sont disponibles avec juste deux pays dont les informations des acides aminés étaient disponibles. Dès lors, aucune conclusion ne peut être faite au regard de la concentration en acides aminés.

Concernant la composition chimique des pollens, plus de la moitié des données n'étaient pas disponibles concernant les stérols et les acides aminés. Plusieurs contraintes techniques ont empêché l'acquisition de toutes les données. L'extraction des stérols ne pouvait pas être réalisée avec succès au laboratoire de Zoologie car les hottes ne permettaient pas une excitation efficace des vapeurs de chloroforme et d'éther. Une partie de ces extractions ont donc été réalisées au laboratoire de chimie analytique à l'Agro-Bio Tech de Gembloux en août et septembre 2021. D'autres extractions ont pu être réalisées en janvier 2022 après l'installation de nouvelles hottes au laboratoire de Zoologie. Concernant les acides aminés, le protocole d'extraction requiert de faire évaporer des solutions acides dans une centrifugeuse (SpeedVac) couplée à une pompe à vide, récoltant les vapeurs. La machine utilisée pour les premières extractions n'était pas prévue pour gérer des vapeurs acides. Les extractions ont dû être stoppées car aucun SpeedVac pouvant récolter les vapeurs acides n'est présent à l'Université de Mons. Les pollens sont toujours disponibles pour réaliser les dernières extractions de stérols et d'acides aminés dans l'avenir avec le matériel nécessaire. Un jeu de données plus complet pourrait permettre de comprendre plus finement les mécanismes derrière les variations observées.

5.2 Variation du phénotype

L'analyse des différents traits morphologiques a permis de mettre en évidence les changements dans le phénotype d'*O. bicornis* entre la condition contrôlée (T0) et la condition potentiellement stressante (T1). C'est le cas pour la taille des ailes, la forme et l'asymétrie fluctuante. Aucun changement significatif n'a été observé pour l'AF de la taille. La taille des ailes a diminué dans tous les pays entre les deux sessions de collecte. L'AF de la forme a quant

à elle augmentée. Ces résultats sont similaires à ceux obtenus sur les autres espèces du projet PoshBee (Gérard et al., 2022). Même avec une absence de données en T0 pour les mâles, les mêmes tendances de variation entre pays sont observables. On peut supposer que les variations morphologiques subies par les mâles sont similaires à celles subies par les femelles.

La modélisation a pu mettre en évidence certains éléments du paysage et de la diète pouvant induire des variations du phénotype. La latitude et le type de culture semblent avoir un impact significatif sur les caractères morphologiques des femelles et mâles d'*O. bicornis*. Les individus qui se trouvent à des latitudes plus élevées semblent avoir une taille plus grande. Plus on se trouve au Nord, moins la température moyenne est grande et favorise généralement les spécimens de plus grande taille (Honêk, 1996), c'est la règle de Bergmann. Dans le cas d'*O. bicornis*, il a été montré que les larves consomment moins de pollen plus la température est élevée, provoquant une diminution de la taille finale de l'individu à cause d'une diminution de la quantité de calories assimilées (Atkinson, 1994). En comparant les données de nutrition et du phénotype, il est possible de remarquer que les pays avec les pollens les plus riches en protéines ne donnent pas les individus les plus grands, comme en Espagne. Et cela même en sachant que les pollens présentant des concentrations plus grandes en protéines favorisent les spécimens de plus grande taille (Roulston & Cane, 2002). Le ratio P : L est relativement constant entre les différents pays, ce qui n'est pas le cas de la taille. Or ce ratio est connu pour avoir un effet positif sur la taille des abeilles (Vaudo et al., 2020). Ce qui pointe encore dans la direction des températures trop élevées pour l'espèce. *Osmia bicornis* est assez peu présente naturellement dans les régions d'Espagne où elle a été relâchée (Murcia) et le stress climatique important a dû avoir un effet conséquent sur les individus. Cependant, pour avoir la certitude que c'est la température qui a influencé cette variation, il aurait été nécessaire de faire des relevés de température durant la période de développement de l'animal. De plus, les spécimens les plus grands sont issus d'Italie se trouvant les pays les plus au Sud dans cette étude. Ceci montre que d'autres facteurs doivent entrer en jeu. Il aurait aussi été intéressant de connaître l'altitude des stations car la température a tendance à évoluer négativement avec l'altitude (Gorodkov, 1986).

Les stérols sont peu explicatifs de la variation du phénotype, avec l'AF de la forme des mâles qui est inversement proportionnelle à la concentration totale en stérols dans le pollen. En examinant l'effet des stérols séparément, le cholestérol induit une augmentation de l'AF de la forme chez les femelles et les mâles. Chez les femelles, le δ^7 -avenastérol induit une réduction de l'AF de la forme. Lorsque le pollen présente une concentration plus élevée en β -sitostérol,

les femelles ont tendance à être plus grandes. Notre étude indique que les stérols ne semblent pas avoir d'effets majeurs sur la taille et la forme des ailes des osmies mais plutôt l'asymétrie des ailes. Les stérols sont des précurseurs pour l'hormone de mue chez les insectes, avec par exemple le 24-méthylène cholestérol (Svoboda et al., 1978), ces molécules auront plus tendance à avoir un impact sur la qualité du développement des abeilles (Barraud et al., 2022). Cela peut expliquer les effets du cholestérol et du δ^7 -avenastérol sur l'asymétrie fluctuante de la forme des ailes. De plus, il est possible que les variations engendrées par les stérols ne résultent pas d'un « choix » de l'osmie, concernant la composition en stérols dans le pollen. En effet, les abeilles mellifères ne sont vraisemblablement pas capables de détecter les stérols (Ruedenauer et al., 2021). Cependant, les osmies et les abeilles mellifères ont des écologies distinctes qui ne permet pas d'affirmer avec certitude les capacités de perception de l'osmie. Certaines recherches pourraient être réalisées afin de déterminer les capacités olfactives des osmies par rapport aux stérols du pollen.

Les composantes du paysage n'expliquent pas les variations phénotypiques chez les mâles. Chez les femelles c'est la forme de l'aile qui est significativement expliquée par le paysage mais cela n'explique que quelques pourcents de la variance totale. Le pays et la latitude restent les facteurs explicatifs les plus importants concernant la variation du phénotype. Il faut aussi tenir compte de l'absence d'intégration des interactions dans les modèles. Certains effets peuvent se cacher dans ces interactions, même si les effets individuels ne sont pas significatifs. Cela a été montré dans un cadre similaire sur *B. terrestris* où l'interaction du type de culture et de la latitude exerce un effet significatif sur la taille des individus (Gérard et al., 2022).

Le manque de matériel biologique concernant les osmies indique qu'il faut prendre beaucoup de recul par rapport aux éléments mis en avant par les analyses. L'osmie rousse est une abeille solitaire et il a été compliqué pour les collaborateurs du projet PoshBee de collecter un nombre conséquent d'individus de T0 pour les analyses de morphométrie. De plus, les mâles n'ayant qu'un but reproducteur, ceux-ci ne se retrouvent pas près des nids, rendant difficile leur capture. Ainsi aucune comparaison n'a pu être faite entre les deux générations de mâles. Pour les femelles, même en ayant formé un seul groupe T0, le nombre d'individus dans ce groupe reste encore trop déséquilibré par rapport à la génération suivante.

6 Conclusion

La plasticité phénotypique est un avantage pour une espèce quand celle-ci doit d'adapter à de nouvelles conditions pouvant être très stressantes pour l'animal. Les changements peuvent s'opérer en une génération, ce qui rend d'autant plus efficace l'adaptation au nouveau milieu. La composition du paysage n'a pas réussi à expliquer en détail la variation du phénotype. Cela ne veut pas pour autant dire qu'aucun élément du paysage ne pourra expliquer les changements morphologiques chez l'osmie. Mais que la manière dont le paysage a été caractérisé dans cette étude ne peut pas révéler avec précision les mécanismes en jeu s'ils sont présents. La localisation d'un autre côté permet de caractériser les variations du phénotype et certainement le climat qui lui est lié. L'osmie rousse est une espèce estivale qui se développe moins bien dans les pays les plus chauds.

La variation de la composition du pollen dépend des pays où les osmies ont été relâchées principalement en fonction de la latitude du pays. Cela peut s'expliquer par la décroissance de diversité de plantes plus on se dirige vers les pôles. Cette diminution de diversité réduit le choix des abeilles pour confectionner la diète de leur descendance. Cette dernière a quant à elle son phénotype affecté par le pollen fourni par la mère. Cependant, ce ne sont pas forcément les pollens les plus protéinés qui donneront les individus les plus grands.

Cette étude a permis de révéler certains éléments pouvant avoir un effet sur la diète et le phénotype de l'osmie rousse. Il serait cependant intéressant de réaliser une étude approfondie, mieux contrôlée et sur un plus grand échantillon d'individus afin de consolider les observations recueillies au cours de cette étude.

7 Références

- Aizen, M. A., Garibaldi, L. A., Cunningham, S. A., & Klein, A. M. (2009). How much does agriculture depend on pollinators? Lessons from long-term trends in crop production. *Annals of Botany*, *103*(9), 1579–1588. <https://doi.org/10.1093/aob/mcp076>
- Ascher, J., & Pickering, J. (2018). *Discover Life bee species guide and world checklist (Hymenoptera: Apoidea: Anthophila)*. 2018.
- Atkinson, D. (1994). Temperature and Organism Size—A Biological Law for Ectotherms? In *Advances in Ecological Research* (Vol. 25, Issue C, pp. 1–58). Academic Press. [https://doi.org/10.1016/S0065-2504\(08\)60212-3](https://doi.org/10.1016/S0065-2504(08)60212-3)
- Austin, A. J., & Gilbert, J. D. J. (2021). Solitary bee larvae prioritize carbohydrate over protein in parentally provided pollen. *Functional Ecology*, *35*(5), 1069–1080. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.13746>
- Barraud, A., Barascou, L., Lefebvre, V., Sene, D., le Conte, Y., Alaux, C., Grillenzoni, F. V., Corvucci, F., Serra, G., Costa, C., Vanderplanck, M., & Michez, D. (2022). Variations in Nutritional Requirements Across Bee Species. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, *6*. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2022.824750>
- Beasley, D. A. E., Bonisoli-Alquati, A., & Mousseau, T. A. (2013). The use of fluctuating asymmetry as a measure of environmentally induced developmental instability: A meta-analysis. *Ecological Indicators*, *30*, 218–226. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2013.02.024>
- Behmer, S. T., & Nes, W. D. (2003). Insect sterol nutrition and physiology: a global overview. *Insect Physiol*, *31*, 1–72. [https://books.google.fr/books?hl=fr&lr=&id=EogT_YtQREAC&oi=fnd&pg=PA1&dq=Behmer,+Spencer+T.,+and+W.+David+Nes.+%22Insect+sterol+nutrition+and+physiology:+a+global+overview.%22+Adv.+Insect+Physiol+31+\(2003\):+1-72.&ots=svtNDdFVeH&sig=iu_9_jYiTbYJHile2cSECxHvwWA](https://books.google.fr/books?hl=fr&lr=&id=EogT_YtQREAC&oi=fnd&pg=PA1&dq=Behmer,+Spencer+T.,+and+W.+David+Nes.+%22Insect+sterol+nutrition+and+physiology:+a+global+overview.%22+Adv.+Insect+Physiol+31+(2003):+1-72.&ots=svtNDdFVeH&sig=iu_9_jYiTbYJHile2cSECxHvwWA)
- Beyer, N., Gabriel, D., & Westphal, C. (2022). Landscape composition modifies pollinator densities, foraging behavior and yield formation in faba beans. *Basic and Applied Ecology*, *61*, 30–40. <https://doi.org/10.1016/j.baae.2022.03.002>
- 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), 890–898. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.12257>
- Bobiş, O., al MĂRGHITAŞ, L., Dezmirean, D., Morar, O., Bonta, V., & Chirilă, F. (2010). Quality Parameters and Nutritional Value of Different Commercial Bee Products. *Bulletin UASVM Animal Science and Biotechnologies*, *67*(2).
- Brodshneider, R., & Crailsheim, K. (2010). Nutrition and health in honey bees. In *Apidologie* (Vol. 41, Issue 3, pp. 278–294). <https://doi.org/10.1051/apido/2010012>
- Buchmann, S. L. (1986). Vibratile pollination in *Solanum* and *Lycopersicon*: A look at pollen chemistry. In W. G. D'Arcy (Ed.), *Solanaceae II: Biology and systematics*. *New York: Columbia Univ Press*, 237–252.

- Bukovinszky, T., Rikken, I., Evers, S., Wäckers, F. L., Biesmeijer, J. C., Prins, H. H. T., & Kleijn, D. (2017). Effects of pollen species composition on the foraging behaviour and offspring performance of the mason bee *Osmia bicornis* (L.). *Basic and Applied Ecology*, *18*, 21–30. <https://doi.org/10.1016/j.baae.2016.11.001>
- Buszewski, B., Bukowska, M., Ligor, M., & Staneczko-Baranowska, I. (2019). A holistic study of neonicotinoids neuroactive insecticides—properties, applications, occurrence, and analysis. In *Environmental Science and Pollution Research* (Vol. 26, Issue 34, pp. 34723–34740). Springer. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-06114-w>
- Cantrill, R. C., Hepburn, H. R., & Warner, S. J. (1981). Changes in lipid composition during sealed brood development of African worker honeybees. In *Comp. Biochem. Physiol.* (Vol. 68).
- Carvell, C., Roy, D. B., Smart, S. M., Pywell, R. F., Preston, C. D., & Goulson, D. (2006). Declines in forage availability for bumblebees at a national scale. *Biological Conservation*, *132*(4), 481–489. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2006.05.008>
- Clayton, R. B. (1964). The utilization of sterols by insects. In *Journal of lipid research* (Vol. 15, Issue 1, pp. 3–19). Elsevier. [https://doi.org/10.1016/s0022-2275\(20\)40254-8](https://doi.org/10.1016/s0022-2275(20)40254-8)
- Colla, S. R., Otterstatter, M. C., Gegear, R. J., & Thomson, J. D. (2006). Plight of the bumble bee: Pathogen spillover from commercial to wild populations. *Biological Conservation*, *129*(4), 461–467. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2005.11.013>
- Conway, G. R. (1987). The Properties of Agroecosystems. In *Agricultural Systems* (Vol. 24).
- Cook, S. M., Awmack, C. S., Murray, D. A., & Williams, I. H. (2003). Are honey bees' foraging preferences affected by pollen amino acid composition? *Ecological Entomology*, *28*, 622–627.
- Decourtye, A., Lacassie, E., & Pham-Delégue, M. H. (2003). Learning performances of honeybees (*Apis mellifera* L) are differentially affected by imidacloprid according to the season. *Pest Management Science*, *59*(3), 269–278. <https://doi.org/10.1002/ps.631>
- DeWitt, T. J., & Scheiner, S. M. (2004). Phenotypic plasticity: functional and conceptual approaches. *Oxford University Press*.
- di Pasquale, G., Alaux, C., Conte, Y. le, Odoux, J. F., Pioz, M., Vaissière, B. E., Belzunces, L. P., & Decourtye, A. (2016). Variations in the availability of pollen resources affect honey bee health. *PLoS ONE*, *11*(9). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0162818>
- Dicks, L. v., Breeze, T. D., Ngo, H. T., Senapathi, D., An, J., Aizen, M. A., Basu, P., Buchori, D., Galetto, L., Garibaldi, L. A., Gemmill-Herren, B., Howlett, B. G., Imperatriz-Fonseca, V. L., Johnson, S. D., Kovács-Hostyánszki, A., Kwon, Y. J., Lattorff, H. M. G., Lungharwo, T., Seymour, C. L., ... Potts, S. G. (2021). A global-scale expert assessment of drivers and risks associated with pollinator decline. *Nature Ecology and Evolution*, *5*(10), 1453–1461. <https://doi.org/10.1038/s41559-021-01534-9>
- Dirzo, R., Young, H. S., Galetti, M., Ceballos, G., Isaac, N. J. B., & Collen, B. (2014). Defaunation in the Anthropocene. *Science*, *345*(6195), 401–406.

- Dominik, C., & Schweiger, O. (2019). *Report on landscape context of field sites Deliverable I.2 PoshBee Pan-european assessment, monitoring, and mitigation of stressors on the health of bees*. www.poshbee.eu
- Dormann, C. F., Elith, J., Bacher, S., Buchmann, C., Carl, G., Carré, G., Marquéz, J. R. G., Gruber, B., Lafourcade, B., Leitão, P. J., Münkemüller, T., McClean, C., Osborne, P. E., Reineking, B., Schröder, B., Skidmore, A. K., Zurell, D., & Lautenbach, S. (2013). Collinearity: a review of methods to deal with it and a simulation study evaluating their performance. *Ecography*, *36*(1), 27–46. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0587.2012.07348.x>
- Duchenne, F., Thébault, E., Michez, D., Gérard, M., Devaux, C., Rasmont, P., Vereecken, N. J., & Fontaine, C. (2020). Long-term effects of global change on occupancy and flight period of wild bees in Belgium. *Global Change Biology*, *26*(12), 6753–6766. <https://doi.org/10.1111/gcb.15379>
- European Commission (EC). (2021). *Farms and farmland in the European Union - statistics*. https://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php?title=Farms_and_farmland_in_the_European_Union_-_statistics#Farms_in_2016
- European Commission (EC). (2022). *Questions fréquemment posées au sujet de Natura 2000*. https://ec.europa.eu/environment/nature/natura2000/faq_fr.htm
- European Environment Agency (EEA). (2015). *Distribution of Natura 2000 sites across the 27 EU Member States*. <https://www.eea.europa.eu/data-and-maps/figures/distribution-of-natura-2000-sites-across-eu-member-states-1>
- Fliszkiewicz, M., Kuśnierczak, A., & Szymaś, B. (2015). Reproduction of the red mason solitary bee *Osmia rufa* (syn. *Osmia bicornis*) (Hymenoptera: Megachilidae) in various habitats. *European Journal of Entomology*, *112*(1), 100–105. <https://doi.org/10.14411/eje.2015.005>
- Gathmann, A., & Tschardt, T. (2002). Foraging ranges of solitary bees. In *Journal of Animal Ecology* (Vol. 71).
- Gérard, M., Baird, E., Breeze, T., Dominik, C., & Michez, D. (2022). Impact of crop exposure and agricultural intensification on the phenotypic variation of bees. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, *338*, 108107. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2022.108107>
- Gérard, M., Michez, D., Debat, V., Fullgrabe, L., Meeus, I., Piot, N., Sculfort, O., Vastrade, M., Smaghe, G., & Vanderplanck, M. (2018). Stressful conditions reveal decrease in size, modification of shape but relatively stable asymmetry in bumblebee wings. *Scientific Reports*, *8*(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-018-33429-4>
- Gérard, M., Vanderplanck, M., Wood, T., & Michez, D. (2020). Global warming and plant-pollinator mismatches. In *Emerging Topics in Life Sciences* (Vol. 4, Issue 1, pp. 77–86). Portland Press Ltd. <https://doi.org/10.1042/ETLS20190139>
- Gill, H. K., Goyal, G., & Chahil, G. (2017). Insect Diapause: A Review. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 454–473.

- Gill, R. J., & Raine, N. E. (2014). Chronic impairment of bumblebee natural foraging behaviour induced by sublethal pesticide exposure. *Functional Ecology*, 28(6), 1459–1471. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12292>
- Gorodkov, K. B. (1986). Three-dimensional climatic model of potential range and some of its characteristics. *Entomological Review (USA)*, 65, 1–35.
- Goulson, D., Nicholls, E., Botías, C., & Rotheray, E. L. (2015). Bee declines driven by combined Stress from parasites, pesticides, and lack of flowers. In *Science* (Vol. 347, Issue 6229). American Association for the Advancement of Science. <https://doi.org/10.1126/science.1255957>
- Groot, A. P. de. (1953). *Protein and amino acid requirements of the honeybee (Apis mellifica L.)*.
- Hodge, S., & Stout, J. (2019). *Protocols for methods of field sampling Deliverable D1.1 PoshBee Project, Grant agreement No. 773921*.
- Honěk, A. (1996). Geographical variation in thermal requirements for insect development. *European Journal of Entomology*, 93, 303–313.
- Hristov, P., Neov, B., Shumkova, R., & Palova, N. (2020). Significance of apoidea as main pollinators. ecological and economic impact and implications for human nutrition. In *Diversity* (Vol. 12, Issue 7). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/d12070280>
- Inouye, D. W. (1980). The effect of proboscis and corolla tube lengths on patterns and rates of flower visitation by bumblebees. *Oecologia*, 45(2), 197–201. <https://doi.org/10.1007/BF00346460>
- Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC). (2021). *The Physical Science Basis Summary for Policymakers Working Group I contribution to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*.
- Ivanov, S. P. (2006). The nesting of *Osmia rufa* (L.) (Hymenoptera, Megachilidae) in the Crimea: Structure and composition of nests. *Entomological Review*, 86(5), 524–533. <https://doi.org/10.1134/s0013873806050046>
- Jeschke, P., Nauen, R., Schindler, M., & Elbert, A. (2011). Overview of the status and global strategy for neonicotinoids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(7), 2897–2908. <https://doi.org/10.1021/jf101303g>
- Kerr, J. T., Pindar, A., Galpern, P., Packer, L., Potts, S. G., Roberts, S. M., Rasmont, P., Schweiger, O., Colla, S. R., Richardson, L. L., Wagner, D. L., Gall, L. F., Sikes, D. S., & Pantoja, A. (2015). Climate change impacts on bumblebees converge across continents. *Science*, 349(6244), 177–180.
- Knierim, U., van Dongen, S., Forkman, B., Tuytens, F. A. M., Špínka, M., Campo, J. L., & Weissengruber, G. E. (2007). Fluctuating asymmetry as an animal welfare indicator - A review of methodology and validity. *Physiology and Behavior*, 92(3), 398–421. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2007.02.014>
- Latreille, P.-A. (1804). *Histoire Naturelle, générale et particulière, des Crustacés et des Insectes*.

- le Féon, V., Schermann-Legionnet, A., Delettre, Y., Aviron, S., Billeter, R., Bugter, R., Hendrickx, F., & Burel, F. (2010). Intensification of agriculture, landscape composition and wild bee communities: A large scale study in four European countries. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 137(1–2), 143–150.
<https://doi.org/10.1016/j.agee.2010.01.015>
- Linnaeus, C. von. (1758). *Systema naturae* (Vol. 1).
- Linsley, E. G. (1958). The ecology of solitary bees. *Hilgardia*, 27(19), 543–599.
- Maddocks, R., & Paulus, H. F. (1987). Quantitative Aspekte der Brut-biologie von *Osmia rufa* L. und *Osmia cornuta* Latr. (Hymenoptera, Megachilidae): Eine vergleichende Untersuchung zu Mechanismen der Konkurrenzminderung zweier nahverwandter Bienenarten. *Zoologische Jahrbücher. Abteilung Für Systematik, Ökologie Und Geographie Der Tiere*, 114(1), 15–44.
- Manning, R. (2006). *Fatty acid composition of pollen and the effect of two dominant fatty acids (linoleic and oleic) in pollen and flour diets on longevity and nutritional composition of honey bees (Apis mellifera)*. Murdoch University.
- Michener, C. D. (2007). *The Bees of the World, second edition*. Johns Hopkins University Press.
- Michez, D., Barraud, A., & Lefebvre, V. (2021). *Report on nutritional quality of pollen Deliverable 2.4*. www.poshbee.eu
- Michez, D., Rasmont, P., Terzo, M., & Vereecken, N. J. (2019a). *Abeilles d'Europe* (1st ed.). Verrières-le-Buisson: NAP éditions .
- Michez, D., Rasmont, P., Terzo, M., & Vereecken, N. J. (2019b). *Abeilles d'Europe - Hyménoptères d'Europe* (NAP éditions, Vol. 1).
- Moerman, R., Vanderplanck, M., Roger, N., Declèves, S., Wathelet, B., Rasmont, P., Fournier, D., & Michez, D. (2015). Growth rate of bumblebee larvae is related to pollen amino acids. *Journal of Economic Entomology*, 109(1), 25–30.
<https://doi.org/10.1093/jee/tov279>
- Mokkapatni, J. S., Bednarska, A. J., & Laskowski, R. (2021). The development of the solitary bee *Osmia bicornis* is affected by some insecticide agrochemicals at environmentally relevant concentrations. *Science of the Total Environment*, 775.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145588>
- Nicolson, S. W. (2011). Bee food: the chemistry and nutritional value of nectar, pollen and mixtures of the two. *African Zoology*, 46(2), 197–204.
<https://doi.org/10.1080/15627020.2011.11407495>
- Nieto, Ana., Roberts, S. P. M., Kemp, James., Rasmont, Pierre., Kuhlmann, Michael., García Criado, Mariana., Biesmeijer, J. C., Bogusch, Petr., Dathe, H. H., de la Rúa, Pilar., de Meulemeester, Thibaut., Dehon, Manuel., Dewulf, Alexandre., Ortiz-Sánchez, F. Javier., Lhomme, Patrick., Pauly, Alain., Potts, S. G., Praz, Christophe., Quaranta, Marino., ... IUCN (International Union for Conservation of Nature). (2014). *European red list of bees*. (European Commission). European Commission.

- Ogilvie, J. E., & Forrest, J. R. K. (2017). Interactions between bee foraging and floral resource phenology shape bee populations and communities. *Current Opinion in Insect Science*, 21, 75–82. <http://www.elsevier.com/open-access/userlicense/1.0/>
- Ollerton, J., Winfree, R., & Tarrant, S. (2011). How many flowering plants are pollinated by animals? *Oikos*, 120(3), 321–326. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2010.18644.x>
- Pirk, C. W. W., Boodhoo, C., Human, H., & Nicolson, S. W. (2010). The importance of protein type and protein to carbohydrate ratio for survival and ovarian activation of caged honeybees (*Apis mellifera scutellata*). *Apidologie*, 41(1), 62–72. <https://doi.org/10.1051/apido/2009055>
- Praz, C. J., Müller, A., Danforth, B. N., Griswold, T. L., Widmer, A., & Dorn, S. (2008). Phylogeny and biogeography of bees of the tribe Osmiini (Hymenoptera: Megachilidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 49(1), 185–197. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2008.07.005>
- Radmacher, S., & Strohm, E. (2010). Factors affecting offspring body size in the solitary bee *Osmia bicornis* (Hymenoptera, Megachilidae). *Apidologie*, 41(2), 169–177. <https://doi.org/10.1051/apido/2009064>
- Rafiqpoor, D., Kier, G., & Kreft, H. (2005). Global Centers of Vascular Plant Diversity. *Nova Acta Leopoldina NF*, 92(342), 61–83.
- Regali, A., & Rasmont, P. (1995). Article original Nouvelles méthodes de test pour l'évaluation du régime alimentaire chez des colonies orphelines de *Bombus terrestris* (L) (Hymenoptera, Apidae). *Apidologie*, 26(4), 273–281.
- Ricketts, T. H., Regetz, J., Steffan-Dewenter, I., Cunningham, S. A., Kremen, C., Bogdanski, A., Gemmill-Herren, B., Greenleaf, S. S., Klein, A. M., Mayfield, M. M., Morandin, L. A., Ochieng', A., & Viana, B. F. (2008). Landscape effects on crop pollination services: Are there general patterns? *Ecology Letters*, 11(5), 499–515. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2008.01157.x>
- Ritchie, A. D., Ruppel, R., & Jha, S. (2016). Generalist Behavior Describes Pollen Foraging for Perceived Oligolectic and Polylectic Bees. *Environmental Entomology*, 45(4), 909–919. <https://doi.org/10.1093/ee/nvw032>
- Roger, N., Moerman, R., Carnevali, L. G., Aguirre-Gutiérrez, J., Jacquemart, A. L., Kleijn, D., Lognay, G., Moquet, L., Quinet, M., Rasmont, P., Richel, A., Vanderplanck, M., & Michez, D. (2017). Impact of pollen resources drift on common bumblebees in NW Europe. *Global Change Biology*, 23(1), 68–76. <https://doi.org/10.1111/gcb.13373>
- Rohlf, F. J. (2013a). *tpsDIG Version 2.32*. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook.
- Rohlf, F. J. (2013b). *tpsUTIL Version 1.81*. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook.
- Roulston, T. H., & Cane, J. H. (2002). The effect of pollen protein concentration on body size in the sweat bee *Lasioglossum zephyrum* (Hymenoptera: Apiformes). *Evolutionary Ecology*, 16(1), 49–65. <https://doi.org/10.1023/A:1016048526475>

- Roulston, T. H., Cane, J. H., & Buchmann, S. L. (2000). What governs protein content of pollen: pollinator preferences, pollen–pistil interactions, or phylogeny? In *Ecological Monographs* (Vol. 70, Issue 4).
- Ruedenauer, F. A., Biewer, N. W., Nebauer, C. A., Scheiner, M., Spaethe, J., & Leonhardt, S. D. (2021). Honey Bees Can Taste Amino and Fatty Acids in Pollen, but Not Sterols. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 9, 404. <https://doi.org/10.3389/fevo.2021.684175>
- Rundlöf, M., Andersson, G. K. S., Bommarco, R., Fries, I., Hederström, V., Herbertsson, L., Jonsson, O., Klatt, B. K., Pedersen, T. R., Yourstone, J., & Smith, H. G. (2015). Seed coating with a neonicotinoid insecticide negatively affects wild bees. *Nature*, 521(7550), 77–80. <https://doi.org/10.1038/nature14420>
- Russo, L., Park, M., Gibbs, J., & Danforth, B. (2015). The challenge of accurately documenting bee species richness in agroecosystems: Bee diversity in eastern apple orchards. *Ecology and Evolution*, 5(17), 3531–3540. <https://doi.org/10.1002/ece3.1582>
- Sandrock, C., Tanadini, L. G., Pettis, J. S., Biesmeijer, J. C., Potts, S. G., & Neumann, P. (2014). Sublethal neonicotinoid insecticide exposure reduces solitary bee reproductive success. *Agricultural and Forest Entomology*, 16(2), 119–128. <https://doi.org/10.1111/afe.12041>
- Santos, P. K. F., Arias, M. C., & Kapheim, K. M. (2019). Loss of developmental diapause as prerequisite for social evolution in bees. In *Biology Letters* (Vol. 15, Issue 8). Royal Society Publishing. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2019.0398>
- Schiestl, F. P., & Johnson, S. D. (2013). Pollinator-mediated evolution of floral signals. In *Trends in Ecology and Evolution* (Vol. 28, Issue 5, pp. 307–315). <https://doi.org/10.1016/j.tree.2013.01.019>
- Senapathi, D., Carneiro, L. G., Biesmeijer, J. C., Dodson, C. A., Evans, R. L., McKerchar, M., Morton, D. R., Moss, E. D., Roberts, S. P. M., Kunin, W. E., & Potts, S. G. (2015). The impact of over 80 years of land cover changes on bee and wasp pollinator communities in England. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 282(1806). <https://doi.org/10.1098/rspb.2015.0294>
- Sgolastra, F., Hinarejos, S., Pitts-Singer, T. L., Boyle, N. K., Joseph, T., Luckmann, J., Raine, N. E., Singh, R., Williams, N. M., & Bosch, J. (2019). Pesticide Exposure Assessment Paradigm for Solitary Bees. *Environmental Entomology*, 48(1), 22–35. <https://doi.org/10.1093/ee/nvy105>
- Shimizu, A., Dohzono, I., Nakaji, M., Roff, D. A., Miller, D. G., Osato, S., Yajima, T., Niitsu, S., Utsugi, N., Sugawara, T., & Yoshimura, J. (2014). Fine-tuned bee–flower Coevolutionary state hidden within multiple pollination interactions. *Scientific Reports*, 4. <https://doi.org/10.1038/srep03988>
- Soroye, P., Newbold, T., & Kerr, J. (2020). Climate change contributes to widespread declines among bumble bees across continents. *Science*, 367(6478), 685–688. <http://science.sciencemag.org/>

- Steffan-Dewenter, I., Muñzenberg, U., Muñzenberg, M., Buřger, C., Buřger, B., Thies, C., & Tschardtke, T. (2002). Scale-dependent effects of landscape context on three pollinator guilds. In *Ecology* (Vol. 83, Issue 5).
- Straub, F., Orih, I. J., Kimmich, J., & Ayasse, M. (2021). Negative Effects of the Neonicotinoid Clothianidin on Foraging Behavior and Antennal Sensitivity in Two Common Pollinator Species, *Osmia bicornis* and *Bombus terrestris*. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 9. <https://doi.org/10.3389/fevo.2021.697355>
- Svoboda, J. A., Thompson, M. J., Herbert, E. W., & Shimanuki, H. (1980). Sterol utilization in honey bees fed a synthetic diet: analysis of prepupal sterols. *Journal of Insect Physiol*, 26(5), 291–294.
- Svoboda, J. A., Thompson, M. J., Robbins, W. E., & Kaplanis, J. N. (1978). Insect Steroid Metabolism. *Lipids*, 13(10), 742–753.
- Svoboda, J., Herbert, E., & Thompson, M. (1983). Definitive evidence for lack of phytosterol dealkylation in honey bees. *Experientia*, 39(10), 1120–1121.
- Todd, F. E., & Bretherick, O. (1942). The Composition of Pollens. *Entomology*, 35(3), 312–317. <https://academic.oup.com/jee/article/35/3/312/792669>
- United Nations (UN). (2004). *World Population Prospects: The 2004 Revision Population Database*.
- van Handel, E., & Day, J. F. (1988). Assay of lipids glycogen and sugars in individual mosquitoes: correlations with wing length in field collected *Aedes vexans*. *J Amer Mosquito Control Assoc*, 4, 549–550.
- Vanderplanck, M., Michez, D., Vancraenenbroeck, S., & Lognay, G. (2011). Micro-quantitative method for analysis of sterol levels in honeybees and their pollen loads. *Analytical Letters*, 44(10), 1807–1820. <https://doi.org/10.1080/00032719.2010.526271>
- Vanderplanck, M., Moerman, R., Rasmont, P., Lognay, G., Wathélet, B., Wattiez, R., & Michez, D. (2014). How does pollen chemistry impact development and feeding behaviour of polylectic bees? *PLoS ONE*, 9(1). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0086209>
- Vanderplanck, M., Zerck, P. L., Lognay, G., & Michez, D. (2020a). Generalized host-plant feeding can hide sterol-specialized foraging behaviors in bee–plant interactions. *Ecology and Evolution*, 10(1), 150–162. <https://doi.org/10.1002/ece3.5868>
- Vanderplanck, M., Zerck, P. L., Lognay, G., & Michez, D. (2020b). Sterol addition during pollen collection by bees: another possible strategy to balance nutrient deficiencies? *Apidologie*, 51(5), 826–843. <https://doi.org/10.1007/s13592-020-00764-3>
- Vaudo, A. D., Stabler, D., Patch, H. M., Tooker, J. F., Grozinger, C. M., & Wright, G. A. (2016). Bumble bees regulate their intake of essential protein and lipid pollen macronutrients. *Journal of Experimental Biology*, 219(24), 3962–3970. <https://doi.org/10.1242/jeb.140772>
- Vaudo, A. D., Tooker, J. F., Patch, H. M., Biddinger, D. J., Coccia, M., Crone, M. K., Fiely, M., Francis, J. S., Hines, H. M., Hodges, M., Jackson, S. W., Michez, D., Mu, J., Russo,

- L., Safari, M., Treanore, E. D., Vanderplanck, M., Yip, E., Leonard, A. S., & Grozinger, C. M. (2020). Pollen protein: Lipid macronutrient ratios may guide broad patterns of bee species floral preferences. *Insects*, *11*(2). <https://doi.org/10.3390/insects11020132>
- Villanueva, M. T. O., Marquina, A. D., Serrano, R. B., & Abellán, G. B. (2002). The importance of bee-collected pollen in the diet: A study of its composition. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, *53*(3), 217–224. <https://doi.org/10.1080/09637480220132832>
- Wahl, O., & Ulm, K. (1983). Influence of pollen feeding and physiological condition on pesticide sensitivity of the honey bee *Apis mellifera carnica*. *Oecologia*, *59*, 106–128.
- Weiner, C. N., Hilpert, A., Werner, M., Linsenmair, K. E., & Blüthgen, N. (2010). Pollen amino acids and flower specialisation in solitary bees. *Apidologie*, *41*(4), 476–487. <https://doi.org/10.1051/apido/2009083>
- Westphal, C., Steffan-Dewenter, I., & Tschardt, T. (2003). Mass flowering crops enhance pollinator densities at a landscape scale. *Ecology Letters*, *6*(11), 961–965. <https://doi.org/10.1046/j.1461-0248.2003.00523.x>
- Westrich, P. (1996). Habitat requirements of central European bees and the problems of partial habitats. *Linnean Society Symposium Series*, *18*.
- Whitehorn, P. R., O’connor, S., Wackers, F. L., & Goulson, D. (2012). Neonicotinoid pesticide reduces bumble bee colony growth and queen production. *Science*, *336*(6079), 351–352.
- Woodcock, B. A., Isaac, N. J. B., Bullock, J. M., Roy, D. B., Garthwaite, D. G., Crowe, A., & Pywell, R. F. (2016). Impacts of neonicotinoid use on long-term population changes in wild bees in England. *Nature Communications*, *7*. <https://doi.org/10.1038/ncomms12459>

8 Annexes

8.1 Annexe 1 : Matrices de corrélations

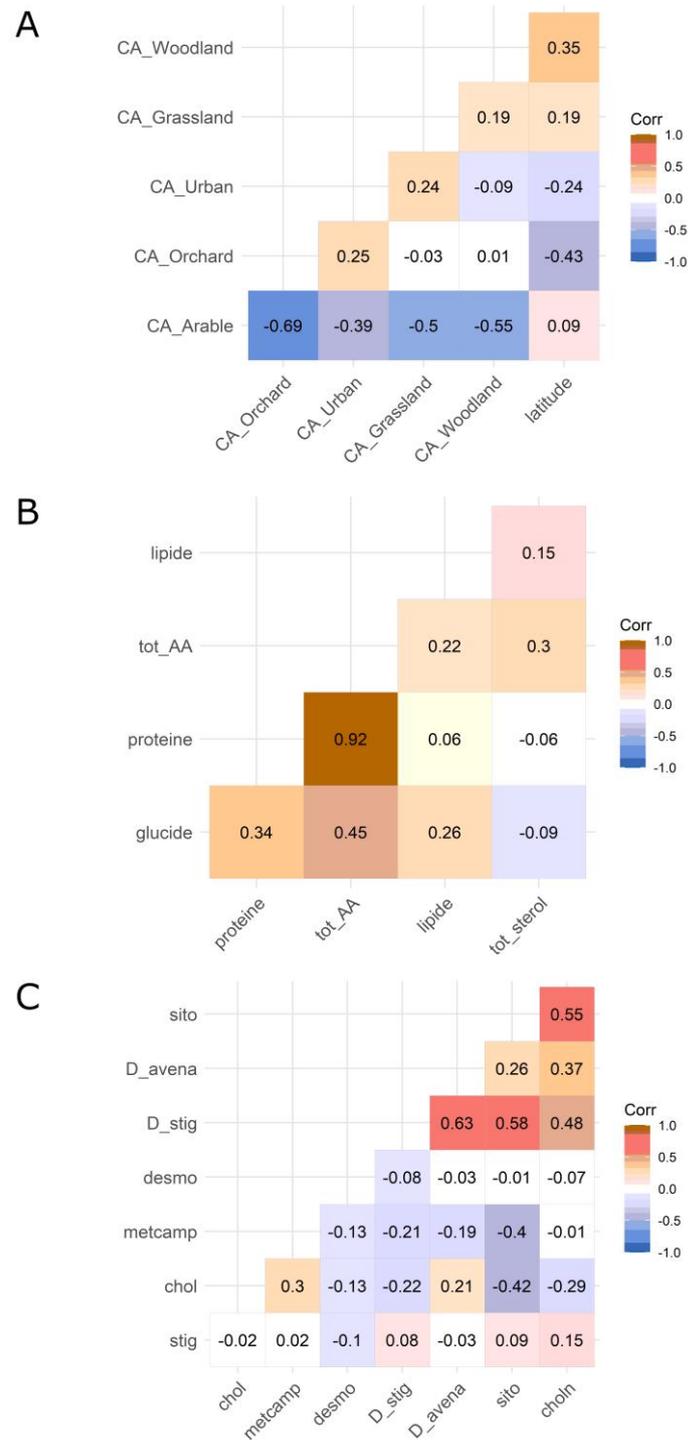


Figure S1 : Matrices de corrélation des variables explicatives dans le jeu de donnée. **A.** Les variables caractéristiques du paysage, **B.** Les variables de la composition chimique du pollen, **C.** Les stérols présents dans le pollen.

8.2 Annexe 2 : Résultats des régressions linéaires entre paysage et pollen

Tableau S1 : Résumé de l'impact significatif des facteurs fixes sur les différents nutriments du pollen d'*O. bicornis*. Les effets significatifs sont notés par le symbole « * » et les effets non-significatifs par un « - ».

Composés chimiques	Type de culture	Terres arables	Prairies	Vergers	Zones urbaines	Zones boisées	Latitude
Protéines	-	-	-	-	-	-	*
Lipides	-	-	-	-	-	-	*
Glucides	-	-	-	-	-	-	-
Ratio Protéine:Lipide	-	-	-	-	-	-	-
Ratio Protéine:Glucide	-	-	-	-	-	-	-
Ratio Lipide:Glucide	-	-	-	-	-	-	-
Stérols totaux	-	-	-	-	-	-	-
Acides aminés totaux	-	-	-	-	-	-	*

8.3 Annexe 3 : Résultats des régressions linéaires entre le pollen et le phénotype

Tableau S2 : Résumé de l'impact des facteurs fixes liés à la concentration en stérols du pollen sur les différents traits morphologiques des spécimens d'*O. bicornis* de la deuxième session de collectes. Les valeurs de concentrations et les ratios n'ont pas été modélisés en même temps. Les effets significatifs sont notés par le symbole « * » et les effets non-significatifs par un « - ». Asymétrie fluctuante (AF). Modélisation réalisée sur 212 femelles et 210 mâles provenant d'Espagne et d'Italie.

	Cholestérol		Desmostérol		24-méthylène cholestérol/campestérol		Stigmastérol		β-sitostérol		Cholesténone		δ7-stigmastérol		δ7-avenastérol	
	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂
Taille centroïde (mm)	-	-	-	-	-	-	-	-	*	-	-	-	-	-	-	-
Forme	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
AF de la taille (mm)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
AF de la forme (mm)	*	*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	*	-

Tableau S3 : Résumé de l'impact des facteurs fixes liés à la concentration en stérols du pollen sur les différents traits morphologiques des spécimens d'*O. bicornis* de la deuxième session de collectes. Les valeurs de concentrations et les ratios n'ont pas été modélisés en même temps. Les effets significatifs sont notés par le symbole « * » et les effets non-significatifs par un « - ». Asymétrie fluctuante (AF). Modélisation réalisée sur 212 femelles et 210 mâles provenant d'Espagne et d'Italie.

	Protéines		Lipides		Glucides		Stérols	
	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂
Sexe	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂
Taille centroïde (mm)	-	-	-	-	-	-	-	-
Forme	*	*	*	-	*	-	-	-
AF de la taille (mm)	-	-	-	-	*	*	-	-
AF de la forme (mm)	*	-	-	-	-	-	-	*

Tableau S4 : Résumé de l'impact des facteurs fixes liés à la concentration en stérols du pollen sur les différents traits morphologiques des spécimens d'*O. bicornis* de la deuxième session de collectes. Les valeurs de concentrations et les ratios n'ont pas été modélisés en même temps. Les effets significatifs sont notés par le symbole « * » et les effets non-significatifs par un « - ». Asymétrie fluctuante (AF). Modélisation réalisée sur 63 femelles et 56 mâles provenant d'Espagne.

	Lipides		Glucides		Stérols		Acides aminées	
	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂
Taille centroïde (mm)	*	-	*	-	*	-	-	-
Forme	*	-	*	*	*	-	*	-
AF de la taille (mm)	-	-	-	-	*	-	-	-
AF de la forme (mm)	-	-	-	-	-	-	-	-

