

UNIVERSITÉ DE MONS
FACULTÉ DES SCIENCES
LABORATOIRE DE ZOOLOGIE

**Etude de la variabilité interspécifique de prise de
nectar chez différentes espèces de *Bombus*
Latreille, 1802 (Hymenoptera, Apidae)**

Directeur de mémoire :
Dr. Denis Michez

Mémoire de fin d'Études présenté
par **Jérémy Depris**
En vue de l'obtention du grade de
**Maître en Biologie des
Organismes et Écologie**

Année académique 2017-2018

« On apprend non pas de l'école mais de la vie »

Sénèque

J. Depris, 2018. *Etude de la variabilité interspécifique de prise de nectar chez différentes espèces de bourdons.* Mémoire en Biologie des Organismes et Ecologie. Université de Mons.

Résumé :

Les bourdons (*Bombus* Latreille, 1802) font partie des pollinisateurs les plus importants dans les zones tempérées. Ce sont des abeilles qui exploitent le pollen et le nectar d'un grand nombre d'espèces de plantes à fleurs appartenant à de familles variées. Le nectar produit par celles-ci sert à attirer des pollinisateurs car la majorité des plantes à fleur dépendent des animaux pour assurer une pollinisation efficace. Cette récompense sera ensuite utilisée par les abeilles dans leur alimentation de part sa richesse en hydrates de carbone.

La chimie du nectar fait partie de traits floraux variables d'une espèce à une autre et elle est généralement liée à une co-évolution avec les pollinisateurs principaux. En effet, le type et la concentration en carbohydrates diffèrent et certains nectars présentent une dominance en hexose alors que d'autres plantes offrent du nectar riche en saccharose. Cette variation est alors un facteur contraignant les choix floraux des bourdons. De plus, les insectes consomment moins de nectar avec de très fortes ou de trop faibles concentrations en sucre car plus il y a de sucre dans le nectar, plus la solution est visqueuse la rendant inaccessible aux pollinisateurs.

L'objectif principal de ce mémoire est de vérifier tester si plusieurs espèces de bourdons présentent des différences lors de la prise de nectar de différente viscosité et si c'est différences sont associées à leur morphologie.

Pour vérifier si la concentration optimale en sucre prélevée par l'abeille est spécifique aux espèces étudiées, des tests ont pu être réalisés sur 4 espèces de bourdons (*Bombus* (*Bombus*) *terrestris*, *B.* (*Bombus*) *lucorum*, *B.* (*Pyrobombus*) *hypnorum* et *B.* (*Thoracobombus*) *pascuorum* à partir de nectar artificiel contenant différentes concentrations en carbohydrate. Ensuite, la morphologie et la taille des pièces buccales de ces différentes espèces ont été observées en histologie et en microscopie électronique à balayage.

Les résultats de ce mémoire nous permettent de confirmer l'existence d'une variabilité interspécifique de prise de nectar chez les bourdons.

Toutes les espèces testées montrent des préférences différentes lors des prises des sirops imitant le nectar à diverses concentrations en sucre. *B. hypnorum* boit de plus grande quantité de solutions moins riches en sucre et par conséquent moins visqueuses. Il charge plus de liquide par coup de langue lors de la prise de sirop faiblement concentré en sucre. *B. terrestris* et *B. lucorum* boivent préférentiellement des solutions avec des concentrations en sucre proches des 50% car c'est à ces valeurs que de plus grandes quantités de sirop sont prélevées et que leur proboscis capte le plus de sirop par lapée. *B. pascuorum* montre quant à lui des choix préférentiels pour des sirops avec des concentrations en sucres plus élevées.

Les analyses morphologiques des pièces buccales mettent en avant que les espèces étudiées présentent des différences sur certains caractères comme le nombre de crêtes sur les palpes labiaux ou la longueur moyenne des soies. Certaines de ces variations morphologiques comme par exemple la longueur des soies ont des influences sur la quantité de nectar prise par coup de langue.

Mots clefs : Bourdons – Nectar – Proboscis – Variabilité interspécifique – Sucres

Remerciements

J'aimerais en quelques mots remercier toutes les personnes qui m'ont aidé dans l'élaboration de ce mémoire mais aussi ceux qui m'ont soutenu et encouragé pour l'achèvement de ce travail de fin d'études.

Je remercie tout d'abord le Professeur Pierre Rasmont pour m'avoir accueilli au sein de l'équipe du laboratoire de Zoologie. Je le remercie également pour m'avoir transmis de nombreuses notions de part ses enseignements et ses excursions qui ont été décisifs dans les choix que j'ai pris au cours de mon cursus universitaire.

Je voudrais ensuite sincèrement remercier le Professeur Denis Michez qui a été un promoteur remarquable. Ses conseils pratiques et théoriques, sa disponibilité, ses relectures, son organisation et son expérience ont été d'une très grande aide pour moi. Je le remercie également de m'avoir accordé sa confiance pour ces deux années pendant lesquelles j'ai travaillé comme élève-assistant dans le cadre des travaux pratiques de botanique et d'écologie végétale. J'ai pris beaucoup de plaisir à les encadrer.

Je remercie également tous les membres du laboratoire de zoologie, Baptiste, Ella, Kim, Manu, Maryse, Maxence, Maxime, Morgane, Nicolas, Oriane et Pilou. Avec vous, l'ambiance était plus qu'agréable dans le laboratoire et sans vous, cette dernière année n'aurait pas été la même. Parmi les membres du laboratoire de Zoologie, je tiens à remercier particulièrement Dimitri Evrard, technicien de grande qualité qui est toujours disponible pour les étudiants et vers lesquels il est bienveillant.

Je remercie ensuite la plupart des membres des laboratoires d'Histologie et de Biologie Marine pour leur aide et leur investissement dans l'obtention d'une partie des résultats de ce mémoire mais surtout M. Jean Habay sans qui je n'aurais pu travailler sur une espèce supplémentaire.

Ces cinq années d'études m'ont permises de rencontrer des personnes extraordinaires, auxquelles je dois tant de moments de délires, de rires ou de conversations enrichissantes. Je remercie spécialement les autres mémorants du laboratoire de Zoologie, c'est-à-dire Guillaume, Diogo et Kevin pour leur complicité sans faille et les heures géniales passées à bosser avec eux. Je n'oublie certainement pas les autres étudiants de mon année. À Tober, Arnaud, Aurore, Maïlis, Marie, Nadège, Rémy, Sophie et Thomas, merci. Et si mes études à Mons se sont si bien déroulées, c'est en grande partie grâce à vous tous.

Je ne saurais clôturer mes remerciements sans penser à mes parents, qui m'ont toujours poussé vers l'avant, encouragé à vivre mes études et ma passion jusqu'au bout, et sans lesquels rien de tout ceci n'aurait été possible. Je remercie aussi mon frère, ma sœur et mes grands-parents pour leurs encouragements et leurs aides dans ce travail. A tous mes proches et à mes amis du village, merci pour votre soutien, votre intérêt envers la discipline que j'ai étudiée pendant 5 ans et merci pour vos encouragements de tous les jours.

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

Table des matières

1. Introduction	6
1.1. Introduction générale.....	6
1.2. Les abeilles	7
1.2.1. Généralités.....	7
1.2.2. Choix floraux des bourdons	10
1.3. La prise de nectar chez les abeilles.....	12
1.3.1. Caractéristiques du nectar	12
1.3.2. Structures morphologiques associées à la prise de nectar	15
2. Objectifs	20
3. Matériel et méthodes	21
3.1. Modèles biologiques.....	21
3.1.1. <i>Bombus terrestris</i>	22
3.1.2. <i>Bombus lucorum</i>	23
3.1.3. <i>Bombus hypnorum</i>	23
3.1.4. <i>Bombus pascuorum</i>	24
3.2. Elevage des colonies.....	25
3.3. Prise de nectar.....	26
3.4. Analyses morphologiques	28
3.5. Analyses statistiques.....	30
4. Résultats	32
4.1. Prise de nectar.....	32
4.1.1. Volume prélevé par lapée en fonction de la viscosité	32
4.1.2. Nombre de lapée en fonction de la viscosité	37
4.1.3. Quantité de sirop totale prélevée en fonction de la viscosité.....	39
4.1.4. Comparaison des espèces étudiées	41
4.2. Analyses morphologiques	44
4.2.1. Analyse du proboscis de <i>Bombus terrestris</i>	44
4.2.2. Analyse du proboscis de <i>Bombus lucorum</i>	44
4.2.3. Analyse du proboscis de <i>Bombus hypnorum</i>	45
4.2.4. Analyse du proboscis de <i>Bombus pascuorum</i>	46
4.3. Relation entre morphologie et prise de nectar	54

5. Discussion	58
5.1. Prise de nectar.....	58
5.2. Analyses morphologiques	61
6. Conclusion.....	62
Perspectives.....	63
Références	64
Annexes	71

1. Introduction

1.1. Introduction générale

La prise de liquide joue un rôle important en apportant aux organismes de l'eau, du sucre et d'autres composés majeurs. La plupart des langues et des structures de prise de liquide ressemblant à des langues sont généralement considérées comme des corps plus ou moins rigides avec une surface immuable pendant tout le processus d'abreuvement (Zhu 2016). Cependant, on peut observer une grande variabilité dans la stratégie de prise de liquide, surtout lorsqu'il s'agit de nectar. Les molécules de sucre présentes dans celui-ci entraînent un accroissement exponentiel de la viscosité du fluide lorsque leur concentration augmente (Heyneman 1983), ce qui peut poser des problèmes dans la récolte.

Afin de tirer les avantages de cette ressource, il est nécessaire de devoir ingérer un fluide nettement plus visqueux que l'eau le plus rapidement possible. Les structures associées à cette stratégie peuvent donc être complexes comme c'est le cas par exemple chez certains vertébrés tel que les chauves-souris nectarivores (Harper 2013).

Ils utilisent au niveau de leur langue des papilles qui s'érigent grâce à des vaisseaux sanguins qui se gorgent de sang pendant la prise de nectar. Avec cette surface linguale dynamique, le volume de liquide happé est augmenté grâce à l'accroissement de la surface (Harper 2013). Chez les insectes, d'autres structures sont impliquées dans la prise de liquide. Chez les papillons, leur trompe n'est pas une simple paille mais un ensemble de pièces articulées séparées par des espaces de taille nano- et microscopique améliorant la prise du fluide (Lee 2014 ; Monaenkova 2012).

Comme il semble y avoir une certaine diversité au sein des morphologies linguales (Karolyi 2014), il est intéressant d'étudier les microstructures présentes chez les abeilles qui commencent seulement à être connues (Wu 2015 ; Zhu 2016). En effet, elles devraient posséder un organe hautement évolué pour se nourrir rapidement et efficacement sur les fleurs. En plus de la structure, la variabilité des ressources en nectar prise par différentes espèces d'abeilles sera également étudiée afin d'observer s'il existe une relation entre la viscosité des nectars et les détails morphologiques de la langue.

1.2. Les abeilles

1.2.1. Généralités

Les Anthophiles, également appelés Apiformes ou plus couramment abeilles, forment un groupe très important de pollinisateurs. Ils jouent en effet un rôle indispensable dans la reproduction sexuée de la majorité des plantes à fleurs mais également dans notre économie car un tiers des produits alimentaires de l'homme est dépendant de la pollinisation des abeilles (Danforth *et al.* 2013).

Ce groupe est apparu il y a approximativement entre 140 et 110 millions d'années, durant le Crétacé (Cardinal & Danforth 2013). Il fait partie de l'ordre des Hyménoptères, au sein de la superfamille des Apoidea. Cependant, les abeilles au sens large du terme n'occupent qu'une partie de ce taxon. En effet, les Apoïdes sont divisés en 2 groupes distincts. D'une part, il y a les Sphéciformes ou guêpes apoïdes et de l'autre, les Apiformes. Le second groupe se distingue du premier par ses poils ramifiés à plumeux et par les basitarses postérieurs plus larges que les pièces tarsales suivantes de la patte (Michener 2007). D'un point de vue comportemental, la différence vient de l'alimentation qui est exclusivement tournée vers un régime végétarien chez les Anthophiles. La majorité des espèces utilise du pollen et du nectar comme nourriture larvaire plutôt que d'utiliser des proies.

Le groupe des Anthophiles est composé de 7 familles (Figure 1) et de 25 sous-familles (Danforth *et al.* 2013 ; Scheuchl & Willner 2016). Ces 7 familles d'Apoïdes sont séparées en deux groupes avec d'une part les abeilles à longue langue comprenant les familles des Apidae et des Megachilidae et d'autre part les langues courtes regroupant les familles des Andrenidae, Colletidae, Halictidae, Melittidae et Stenotritidae (Danforth *et al.* 2006).

Au sein de ces Apoïdes Apiformes, la socialité n'est apparue qu'au sein de 2 familles. Il s'agit de certaines Apidae et de certaines Halictidae (Danforth *et al.* 2008 ; Goulson 2010). Ces espèces sont alors dites eusociales mais celles ayant développé une socialité sont une minorité (Pouvreau 2004). Elles s'organisent alors en colonies possédant de véritables castes et il existe au sein de la colonie des interactions entre les différentes générations. Ces castes, généralement au nombre de 3, sont facilement distinguables sur base de la morphologie des individus. Il s'agit de la reine, la seule femelle reproductrice de la colonie qui est grande en taille, des ouvrières, plus petites et en charge de la récolte de nourriture ainsi que des soins du

couvain, et des mâles qui ne possèdent qu'un rôle reproducteur et qui sont d'une taille souvent intermédiaire avec des caractéristiques qui leur sont propres (Michener 2007).

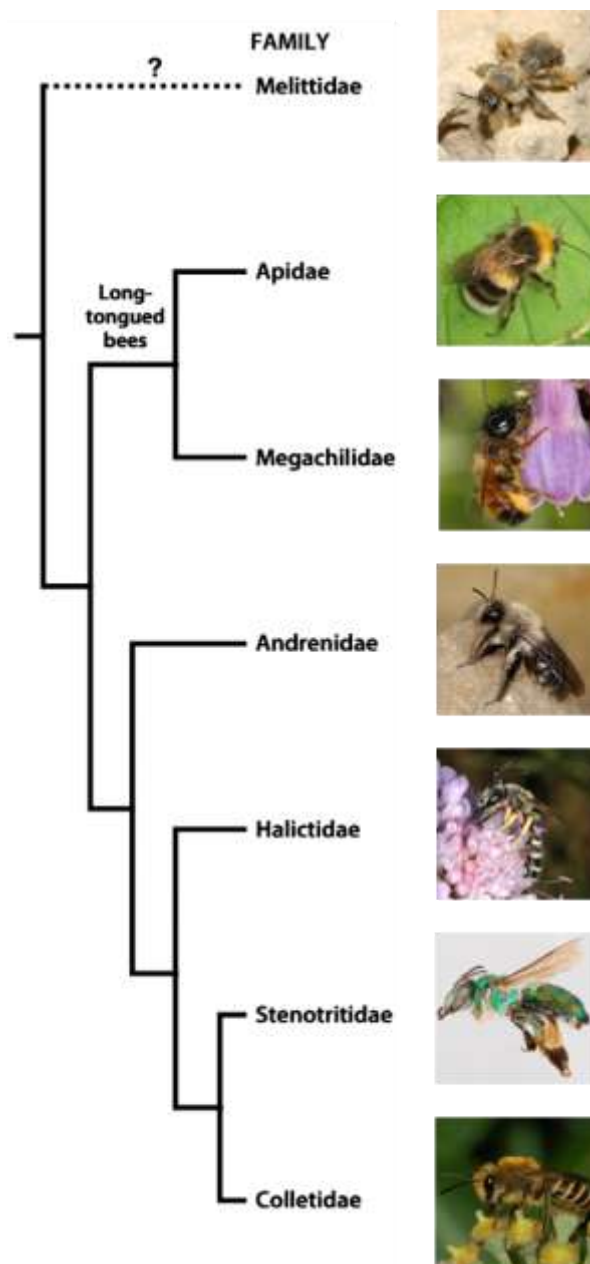


Figure 1 : Phylogénie des Apiformes (d'après Danforth *et al.* 2013)

Ce mémoire se focalise sur un groupe particulier d'abeilles eusociales que sont les bourdons. Les bourdons sont élevés avec succès depuis de nombreuses années, tant à des fins scientifiques qu'agronomiques (Velthuis & Van Doorn 2006). Les bourdons sont morphologiquement différents de l'abeille domestique car ils sont plus trapus et plus velus que celle-ci. De plus, les colonies de bourdons sont fondées annuellement tandis que les « sociétés » d'abeilles mellifères sont permanentes.

Une phase solitaire est observée chez les bourdons. En effet, les bourdons sont des espèces eusociales primitives (Ponchau 2006). Cela signifie que le cycle de vie de la colonie est annuel et que la colonie ne survit pas à l'hiver. La reine, préalablement fécondée par un mâle, a hiberné dans un trou qui se nomme *hibernaculum*. À l'arrivée du beau temps, elle sort de son hibernation et cherche un endroit idéal pour faire son nid, pour fonder sa colonie. Celui-ci peut être fait dans un ancien terrier de rongeurs, un ancien nid d'oiseaux ou sous des débris végétaux (Michener 2007).

Ensuite, elle construit deux types de pots de cirres, le premier type contiendra du nectar et l'autre, les pontes. Ceci est la phase d'initiation de la colonie (Heinrich 2004). Puis, durant deux à cinq semaines, la reine va être très active. En effet, elle va chercher de la nourriture, nourrir les larves, couvrir les œufs et en pondre abondamment. Ces derniers se développeront en larves, en pupes, en nymphes pour enfin donner les adultes. Il faut noter que la reine possède une spermathèque contenant des spermatozoïdes qui pourront féconder les ovocytes et donner des œufs diploïdes. Ces œufs deviendront les ouvrières. Une fois la spermathèque vide, la reine pondra des œufs haploïdes qui donneront exclusivement des mâles.

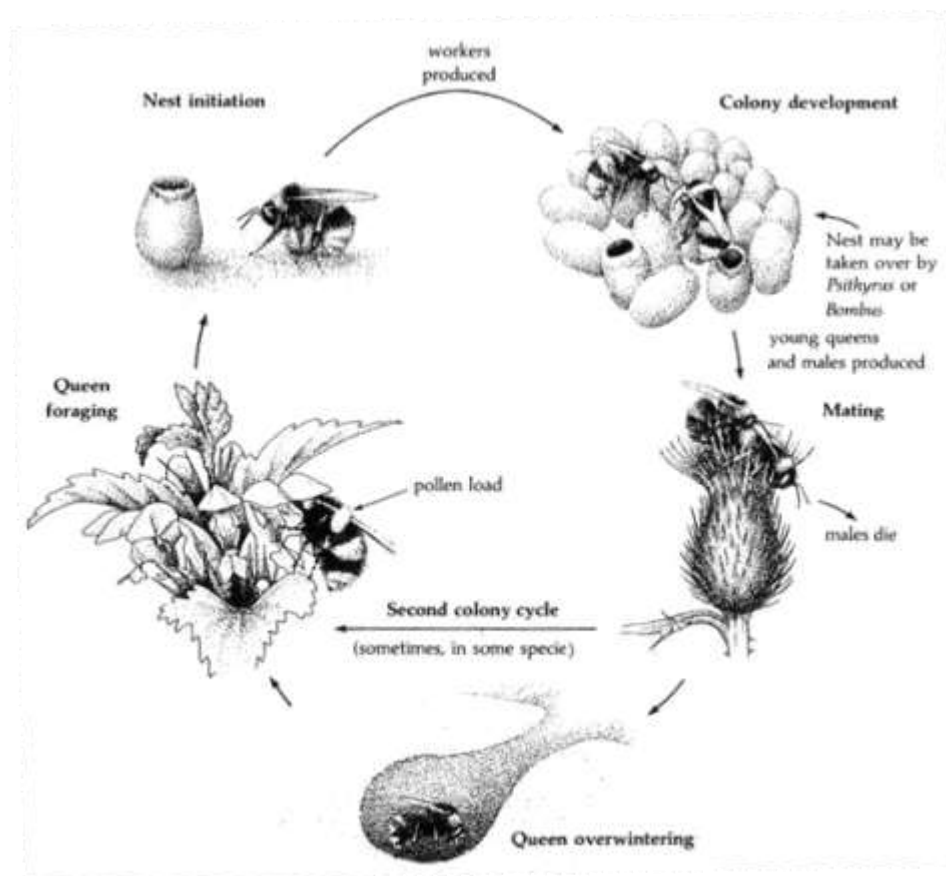


Figure 2 : Cycle de vie des bourdons du genre *Bombus* (d'après Prys-Jones & Corbet 1991)

Durant la phase de croissance de la colonie, les ouvrières vont chercher de la nourriture alors que la reine reste dans le nid. Les larves qui seront nourries plus que les autres deviendront les futures reines. Il est aussi important de noter que la reine sécrète une phéromone qui inhibe les ovaires des ouvrières empêchant ces dernières de pondre. Cependant, quand la colonie atteint une taille importante avec plus de 300 individus pour certaines espèces, la quantité de phéromones émises par la reine n'est plus suffisante pour inhiber les ovaires de la totalité des ouvrières (Heinrich 2004). Ceci leur permet de pondre des œufs haploïdes qui se développeront en mâles et sortiront du nid. Puis, la phase de déclin débute où la reine meurt et où les futures reines quittent la colonie (Prys-Jones & Corbet 1991). Une fois que celles-ci sont fécondées, elles vont hiberner et le cycle annuel repend.

1.2.2. Choix floraux des bourdons

Il est important pour les plantes à fleurs d'attirer les pollinisateurs en investissant dans la production de nectar car la plupart d'entre elles dépendent des animaux pour assurer une pollinisation efficace (Ollerton 2011). Cependant, les récompenses offertes doivent être suffisamment faibles pour éviter de trop grande dépense énergétique de la part de la plante (Schlindwein *et al.* 2005). Les bourdons utilisent le pollen et le nectar offerts comme source alimentaire pour eux-mêmes et pour le développement de leur couvain (Teräs 1976 ; Michener 2007). Les bourdons et les plantes butinées se sont donc retrouvés étroitement liés au cours de l'évolution et agissent comme des facteurs sélectifs réciproques (Leppik, 1957).

Les plantes présentent diverses caractéristiques pour attirer les pollinisateurs comme l'odeur, la couleur et la symétrie de la fleur (Raguso 2004 ; Somme *et al.* 2014). Les bourdons possèdent alors des réflexes innés qui répondent automatiquement à l'ensemble des stimuli émis par la plante qui montre la qualité nutritive ou la quantité des récompenses florales (Leppik 1957). L'importance des caractères floraux a été mise en évidence par plusieurs auteurs mais les résultats et les hypothèses divergent souvent. Par exemple, il est mentionné que *Bombus lucorum* et *B. pratorum* préfèrent les fleurs blanches et jaunes (Teräs 1976), que *B. hypnorum* préfère les fleurs blanches et que *B. pascuorum* et *B. lapidarius* butinent principalement les fleurs de tons bleus.

La gamme de plantes butinées varie selon les espèces de bourdon (Somme *et al.* 2014). Si elle s'intéresse à un large éventail de plantes, une espèce est dite polylectique (Löken 1973 ; Rasmont 1988). Il s'agit par exemple de *Bombus lucorum*, *B. terrestris* et *B. pascuorum*. Les abeilles polylectiques souvent nommées abeilles généralistes visitent

plusieurs taxons floraux distants phylogénétiquement et elles récoltent des ressources florales sur différents genres de plante appartenant au moins à quatre familles différentes (Roberson 1925). A l'opposé, une espèce est dite oligolectique lorsqu'elle utilise un petit nombre d'espèces.

De plus, au sein d'une espèce, les individus sont plus ou moins généralistes ou spécialistes. On trouve beaucoup d'individus spécialistes lorsque la nourriture est abondante alors que les ouvrières généralistes sont avantagées quand les ressources sont limitées (Heinrich, 1976). Les choix floraux peuvent donc rapidement changer en fonction des conditions environnementales.

Cela a été étudié par Heinrich (1979) et il émet l'hypothèse que l'apprentissage des bons choix floraux est individuel. Une ouvrière sortant du nid pour la première fois teste différentes espèces de plantes et elle se fidélise à celle qui lui fournit le pollen et le nectar de meilleure qualité ou en quantité supérieure. Ce sont les choix « majeures » (Heinrich 1979). La fidélisation d'un pollinisateur est avantageuse pour la plante car cela assure un dépôt plus élevé des grains de pollen conspécifiques sur les stigmates.

Les bourdons gardent cependant la capacité de basculer leur choix vers des plantes moins attrayantes en cas d'épuisement des ressources principales et de modification des conditions du milieu. Ces plantes visitées sont les « choix mineures » (Heinrich 1979).

En plus des facteurs environnementaux, différentes contraintes influencent les choix floraux des abeilles. C'est par exemple le cas de la profondeur de la corolle et de la longueur de leur proboscis avec lequel les abeilles collectent le nectar. Le butinage est plus efficace quand la longueur du proboscis correspond à la profondeur de la corolle de la plante butinée même si les bourdons peuvent se procurer leurs ressources dans une grande variété de plantes (Ranta 1983). D'un autre côté, cette contrainte a un avantage certain car le recouvrement des niches alimentaires et la compétition pour les ressources sont évités en partie par les différences dans la longueur des corolles des fleurs visitées. Les bourdons à longue langue visitent en priorité les fleurs à corolle profonde et les bourdons à courte langue, les fleurs à corolle courte (Inouye 1978).

Comme le pollen est la seule source de protéines disponible pour les abeilles et qu'elle est essentielle au développement de la colonie (Génissel *et al.* 2002), les bourdons présentent une sélectivité très forte lors de la recherche de pollen (Goulson et Darvill 2004). En effet, les tendances observées dans les stratégies de butinages montrent que les bourdons cherchent à

obtenir préférentiellement du pollen qui contient une certaine qualité protéique (Somme *et al.* 2014) mais aussi un ratio protéo-lipidique situé entre 25 pour 1 et 5 pour 1 (Vaudo 2016a). De plus, si le ratio n'est pas rencontré naturellement, elles vont chercher à atteindre leur besoin nutritionnel en modifiant leur comportement de sélection (Vaudo 2016b). D'autres caractères polliniques tels que la toxicité du pollen ou sa digestibilité agissent aussi comme facteur de sélection allant même jusqu'à modifier la consommation des autres ressources florales comme le nectar (Vanderplanck 2018).

La chimie du nectar est un autre facteur contraignant les choix floraux (Corbet 1979). En effet, le type et la concentration en carbohydrates diffèrent d'une espèce végétale à une autre. Certains nectars présentent une dominance en hexose alors que d'autres plantes offrent du nectar riche en saccharose (Percival 1961 ; Somme *et al.* 2014). C'est la morphologie de la fleur qui influence le rapport entre les carbohydrates car des proportions plus élevées d'hexose que de saccharose sont typiques des fleurs ouvertes où il existe une plus forte évaporation et où une forte activité invertase est observée (Harder 1986 ; Nicolson 2011). De plus, les insectes consomment moins de nectar avec de très fortes ou de trop faibles concentrations en sucre. En effet, plus il y a de carbohydrates dans le nectar, plus la solution est visqueuse et cela la rend inaccessible aux pollinisateurs (Corbet 1979). Mais à côté de cela, l'optimum de viscosité varie d'une espèce à l'autre et cela fait varier les choix floraux d'une espèce à une autre (Heinrich 1976).

1.3. La prise de nectar chez les abeilles

1.3.1. Caractéristiques du nectar

Les Apiformes se distinguent de la plupart des autres Hyménoptères par leur régime dépendant exclusivement des ressources florales (Michener 2007). Les sources de nourriture qu'elles trouvent à leur disposition sont le pollen et le nectar et elles disposent d'adaptations morphologiques particulières afin de pouvoir les récolter. Il s'agit des brosses de récolte et de la langue (Pouvreau 2004).

Le pollen va fournir aux Anthophiles ainsi qu'à leurs larves les protéines dont elles ont besoin mais aussi des lipides, des éléments minéraux et diverses vitamines (Brodschneider & Crailsheim 2010). Le nectar va quant à lui contribuer à l'apport d'hydrates de carbone dans l'alimentation des abeilles.

Le nectar est récolté à partir de plantes et transféré jusqu'au nid par les ouvrières afin d'être stocké dans des pains ou dans des cellules scellées pour servir plus tard à la colonie. Cependant, une autre source d'hydrates de carbone existe chez les abeilles et il s'agit du miellat produit par certains insectes. C'est une sécrétion riche en sucres déposée sur des végétaux (Brodschneider & Crailsheim 2010).

Une fois rentré dans la colonie, le nectar est travaillé et sa concentration en eau diminue progressivement pour atteindre une valeur de 16 à 20 % chez l'abeille mellifère (Nicolson et Human 2008). Des enzymes y sont également ajoutées afin d'obtenir une composition en carbohydrates adéquate dans les réserves de nectar avec en moyenne 38% de fructose, 31% de glucose et le pourcentage restant est composé de di- et trisaccharides.

Cette réserve de carbohydrate est essentielle pour la survie de la colonie car ces sucres vont permettre aux ouvrières de répondre à leur besoin énergétique tant elles en dépensent lors des activités quotidiennes (Hrassnigg 2005 ; Brodschneider & Crailsheim 2010). De plus, un manque d'hydrate de carbone dans la nourriture donnée à la progéniture limitera le nombre de larves atteignant la maturité.

La coévolution des plantes et des pollinisateurs a mené à plusieurs stratégies dans la production de nectar ainsi qu'à des différences dans sa composition chimique (Lake et Hughes 1999). Par exemple, la sécrétion de nectar est adaptée aux habitudes alimentaires des pollinisateurs. La sécrétion du nectar par la fleur peut soit reprendre après que le pollinisateur se soit retiré ou alors, elle peut cesser après une seule visite florale (Cruden *et al* 1983). Le nectar est également un élément important du syndrome de pollinisation, ensemble de traits floraux convergeant développé par des espèces végétales phylogénétiquement éloignées pour attirer un pollinisateur (Proctor 1996).

Le nectar est sécrété par les nectaires d'une plante. Ceux-ci se situent généralement à la base des ovaires (Figure 3A), dans le fond de la corolle de la fleur mais il peut également y avoir des nectaires extra-floraux comme chez les *Amygdalaceae*, une famille de plantes qui possède des nectaires à la base du limbe de la feuille (Chwil 2009 ; Konarska 2007).

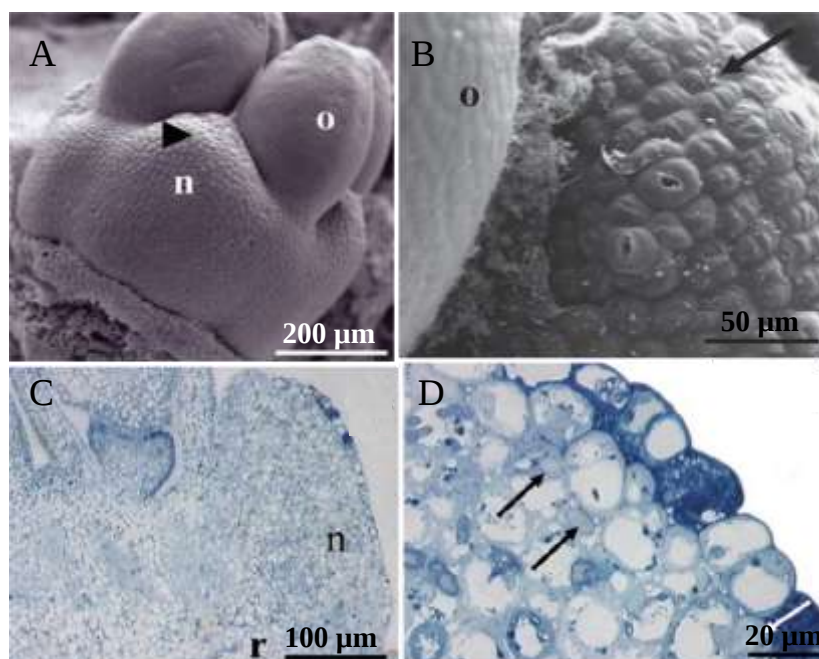


Figure 3 : A. Nectaire (n) d'une fleur de *Lamiaceae* formant des protrusions (tête de flèche) entre les ovaires (o) B. Zoom sur une partie du nectaire composée de stomates, de cellules épidermiques et de grains de cire (flèche) C. Coupe longitudinale dans le réceptacle (r) d'une fleur avec un nectaire (n) D. Zoom sur les cellules épidermiques avec un cytoplasme fortement coloré et les cellules sécrétrices du parenchyme fortement vacuolisées et avec de gros noyaux (flèches) (d'après Chwil 2009)

Les nectaires sont composés de cellules parenchymateuses qui produisent et stockent le nectar. Ces cellules se différencient des autres par un noyau bien développé et par la présence de vacuoles enfermant des mono- ou des disaccharides (Figure 3C & D). Les nectaires possèdent également des cellules épidermiques et des stomates (Figure 3B). Le tout est recouvert d'une fine cuticule à l'exception des stomates qui excrètent le nectar. Le nombre de pores ouverts sur un nectaire pourrait influencer la concentration en carbohydrates dans le nectar mais aussi le volume produit (Konarska 2007).

Le nectar produit se compose principalement de sucrose, de glucose, de fructose et d'eau. Le nectar contient aussi divers constituants mineurs tels que des acides aminés ou des lipides qui peuvent avoir directement ou indirectement un impact nutritionnel (Corbet 2003 ; Gonzalez-Teuber et Heil 2009). La valeur énergétique du nectar dépend de sa concentration totale en sucre et de son volume (Cnaani *et al.* 2006 ; Nicolson 2011). Ces deux paramètres varient au cours de la journée (Roubik 1984).

Différents types de nectar sont distingués dans la littérature en fonction de leur composition. Le nectar peut avoir une dominance en saccharose, un équilibre dans ses concentrations en saccharose, fructose et glucose ou une dominance des hexoses. La majorité

des plantes à fleurs produisent un nectar qui possède un équilibre entre les 3 principaux carbohydrates voire un nectar qui possède une dominance en fructose et en glucose. Dans ce cas, il se rapproche de la composition du miel (Percival 1961).

En fonction des concentrations en sucres dans le nectar, sa viscosité varie fortement et elle augmente de manière exponentielle (Heyneman 1983 ; Telis 2007). La teneur en sucre au sein du groupe des Angiospermes (i.e. plantes à fleurs) varie de 5 à 80% selon les espèces et selon les facteurs environnementaux (Ziegler 1968). Cependant, la simple mesure de la teneur en sucre généralement obtenue par réfractométrie ne donne pas accès à la viscosité. D'autres caractéristiques du nectar telles que la longueur des molécules de sucre lui sont également liées.

D'un autre côté, la viscosité diminue avec l'augmentation de la température allant jusqu'à modifier la concentration optimale en sucre prélevable efficacement par les abeilles (Nicolson 2007 ; Telis 2007). En effet, un nectar chaud est plus facile à boire en raison de sa plus faible viscosité (Harder 1986 ; Roubik 1984). Dans les expériences menées par Nicolson (2013), différentes espèces d'*Apis* ont montré de fortes préférences pour le nectar plus chaud et moins visqueux et ce, indépendamment des changements dans sa concentration et dans sa composition de sucre (Nicolson 2013 ; Tan 2014).

1.2.2. Structures morphologiques associées à la prise de nectar

Au niveau de la tête des abeilles se trouve toute une série de pièces buccales telles que les mandibules, le labre (labrum) et le proboscis également appelé complexe maxillo-labial (Goulet & Huber 1993). Au repos, Celui-ci est replié en forme de « Z » dans la fosse proboscidiale située sur la partie postérieure de la tête mais il peut également s'étendre sous le thorax atteignant chez certaines espèces le metasoma (Michener 2007).

Ce complexe est composé de deux maxilles ainsi que d'un labium qui provient de la soudure d'une autre paire de maxilles en une seule pièce. Les deux maxilles comprennent chacune un cardo, un stipe, une lacinia, un palpe maxillaire et une galea alors que le labium est composé du flabellum, de la glosse, du paraglosse, de deux palpes labiaux, du prementum, du mentum et du lorum (Figure 4). Cependant, la morphologie de ces pièces buccales varie fortement entre les deux groupes d'abeilles communément reconnues, les abeilles à langue longue et les abeilles à langue courte (Michener 2007).

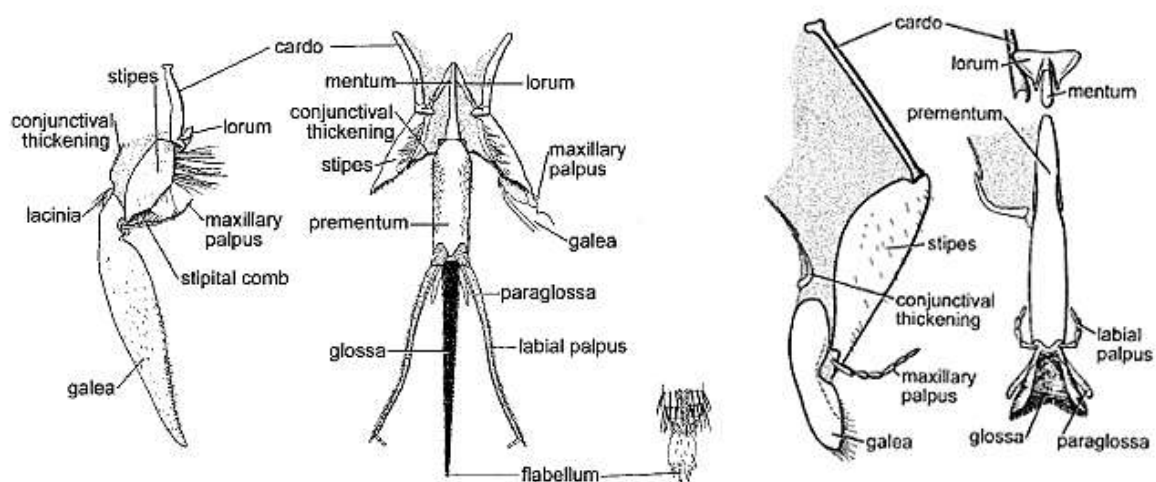


Figure 4 : Dessin des pièces buccales des abeilles à langue longue et les abeilles à langue courte (d'après Michener 2007)

Chez les abeilles à langue longue, les deux premiers segments des palpes labiaux sont généralement allongés et aplatis (Michener 2007) formant avec les galea un tube à l'intérieur duquel la glosse peut se déplacer. Chez les abeilles à courte langue, les segments des palpes labiaux sont généralement tous d'une longueur identique et le côté interne des galea possède un peigne. De plus, chez les abeilles à longue langue, la glosse est très souvent allongée avec un profond sillon aux bords extrêmement proches parcourant toute la longueur de sa surface postérieure (Briant 1888 ; Michener 2007).

La glosse des abeilles à longue langue possède une surface segmentée et chacun des segments est délimité par un anneau formé par la fusion de la base des poils glossaux. La succession de ces portions portant des soies font d'ailleurs ressembler la glosse à un pinceau légèrement effilé (Zhu 2016). Chez *Apis mellifera*, la longueur moyenne des poils glossaux augmente des parties proximales vers les parties les plus distales et l'hydrophilicité de ces soies augmente également de la même manière (Wu 2015).

D'un point de vue structural, la glosse est constituée d'une gaine de cuticule qui possède des crêtes aussi bien sur sa surface dorsale que ventrale. Ces crêtes sont des anneaux de soies qui entourent complètement la glosse. Du côté ventral, elle possède également une tige hyaline rigide qui la parcourt de tout son long. Cette tige provient de la partie terminale du mentum et elle se finit par une bifurcation à l'extrémité de la langue, au niveau du flabellum (Snodgras 1984). A côté de cette tige, une cavité remplie d'hémolymphe est formée par une membrane qui relie la tige hyaline à la gaine de cuticule de la glosse (Zhao 2015).

La glosse forme avec le flabellum se situant sur sa partie distale, la paire de galea et la paire de palpe labial la partie du proboscis prévue à la prise de solutions sucrées. D'ailleurs les 2 galea et les 2 palpes labiaux présentent des striations qui serviraient à réduire les forces de frottements lors des mouvements de prise de nectar (Li 2015).

La prise de nectar par ces différents appendices durant le processus d'alimentation se déroule en plusieurs étapes qui se répètent un certain nombre de fois (Figure 5). Cependant, avant de les commencer, l'abeille ouvre ses mandibules pour déployer son proboscis en position de prise de nourriture. De cette manière, les galea ainsi que les palpes labiaux sont alignés pour former un tube qui contient la glosse (Pouvreau 1984). Alors, les cycles de prise de nectar peuvent débuter. Ils sont divisés en 2 phases basées sur les mouvements et les déformations de la glosse. La première phase est celle de protraction de la glosse et la seconde est celle de rétraction.

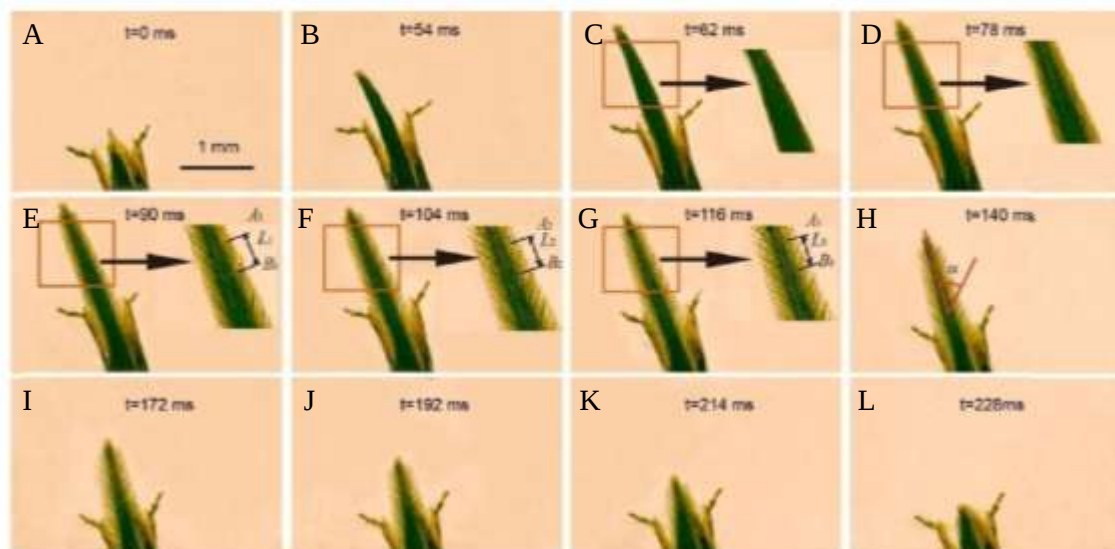


Figure 5 : Mouvements de la glosse dans un processus d'alimentation (d'après Zhu 2016)

Durant la protraction de la langue, la glosse s'étend et sort du tube tout en gardant ses soies non-déployées (Figure 5 A à C). La glosse est une structure flexible ayant une grande capacité de déformation et d'élasticité. Ensuite, avant d'atteindre son extension maximale, les soies glossales commencent à se déployer en dressant d'abord les poils proximaux (Wu 2015) (Figure 5 D à F). Alors, le nectar remplit les lacunes formées par les rangées de soies pendant que la glosse atteint sa limite de taille (Figure 5 G).

Durant la phase de rétraction, les poils glossaux continuent à se déployer pour s'écarter un maximum de la glosse qui est en train de se retirer du nectar (Figure 5 H) et de

retourner dans le tube formé par les paires de galea et de palpes labiaux (Figure 5 I à L). Une fois que la glosse toute entière s'est retrouvée dans le tube, les soies qui jusqu'alors avaient gardé leur amplitude maximale s'aplatissent pour décharger le nectar à l'intérieur du tube (Zhu 2016). Alors, la pompe cibariale, un organe du pharynx, va aspirer le nectar et l'envoyer vers l'œsophage (Pouvreau 1984). Une fois cette phase terminée, un autre cycle de protraction-rétraction de la glosse peut avoir lieu et ce, jusqu'à ce que l'abeille ait fini de boire. Alors, les différentes pièces buccales retournent à leur position initiale. Chez l'abeille mellifère, un cycle dure en moyenne $0.20s \pm 0.03s$ (Zhu 2016).

L'analyse de la structure interne de la glosse a permis de comprendre dernièrement le mécanisme d'érection des poils glossaux des abeilles à langue longue durant les prises de nectar et cela fonctionne sur le même principe qu'un ressort qui peut être comprimé. En effet, en fonction de la tension se trouvant dans la cuticule de la glosse et la tige hyaline et en fonction de leur élasticité, les soies glossales ancrées dans la gaine de cuticule posséderont un angle d'érection plus ou moins important (Zhao 2015). Ces valeurs plus ou moins grandes qui changent d'une espèce à une autre vont permettre de prélever du nectar à différentes concentrations. En effet, alors que le nectar le plus sucré offre la plus grande récompense énergétique, la forte augmentation de la viscosité qui dépend de la concentration de sucre rend le nectar bien plus difficile à prendre (Kim 2011 ; Pivnick & McNeil 1985).

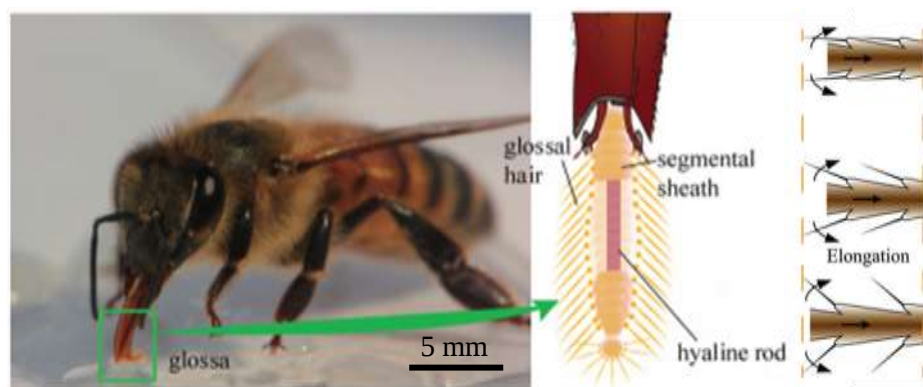


Figure 6 : Schémas montrant le mécanisme d'érection des poils de la glosse générée par la tension de la tige hyaline et son élasticité (d'après Zhao 2015)

Les pièces buccales de l'abeille mellifère ont été les premières à être illustrées et décrites chez les insectes à l'aide d'un microscope composé. D'ailleurs, les documents publiés à cette occasion remontent à 1625 (Freedberg, 2002). Ensuite, la morphologie et la fonction du proboscis ont largement été étudiées par Snodgrass (1956) ou d'autres auteurs (Krenn 2004).

Quant aux bourdons, leurs pièces buccales ont été beaucoup moins investiguées mais leur système d'alimentation a été examiné grâce à l'aide d'une caméra à grande vitesse pour chez *Bombus pensylvanicus* par Harder (1982). Il en a déduit que le labium entier ne contribuait pas au mouvement de léchage mais qu'une grande partie restait stationnaire contrairement à *Apis*. Chez le bourdon, seule la glosse est projetée à plusieurs reprises dans le sirop et elle est ensuite rétractée dans le tube alimentaire.

Ensuite, Plant et Paulus (1987) ont complété ces informations. Le bourdon peut prolonger son prementum en donnant une plus grande portée à tout le labium si le nectar est hors de la portée de la glosse et que la forme du postmentum augmente cette protraction (Krenn 2004). Au cours du XX^{ème} siècle, les structures des pièces buccales des bourdons ont également été étudiées mais uniquement sur leurs aspects morphologiques et non pas fonctionnel (Krenn 2004).

2. Objectifs

L'objectif principal de ce mémoire est de déterminer si différentes espèces de bourdons présentent des différences lors de la prise de nectar de différente viscosité. Pour ce faire, des tests seront réalisés sur 6 espèces de bourdons à partir de nectar contenant différentes concentrations en hydrate de carbone. L'hypothèse de départ est que la concentration optimale en sucre prélevée par l'abeille est spécifique aux espèces étudiées.

Ensuite, la morphologie et la taille des pièces buccales de ces différentes espèces seront observées par de multiples techniques de microscopie. En effet, les pièces composant le proboscis pourraient présenter des différences qui influenceraient la prise de nectar et qui seraient reliées avec l'optimum de viscosité de l'espèce.

3. Matériel et méthodes

3.1. Modèles Biologiques.

4 espèces de bourdons ont été étudiées dans ce travail. Elles font parties de 3 sous-genres différents qui sont les *Bombus*, *Pyrobombus* et *Thoracobombus* (Williams 2008). Ces espèces ont été choisies car elles font partie des espèces les plus communes en Belgique et les modalités pour leur élevage sont maîtrisées. De plus, comme certaines d'entre-elles sont devenues des modèles biologiques communs, une grande richesse d'information les concernant sont disponibles.

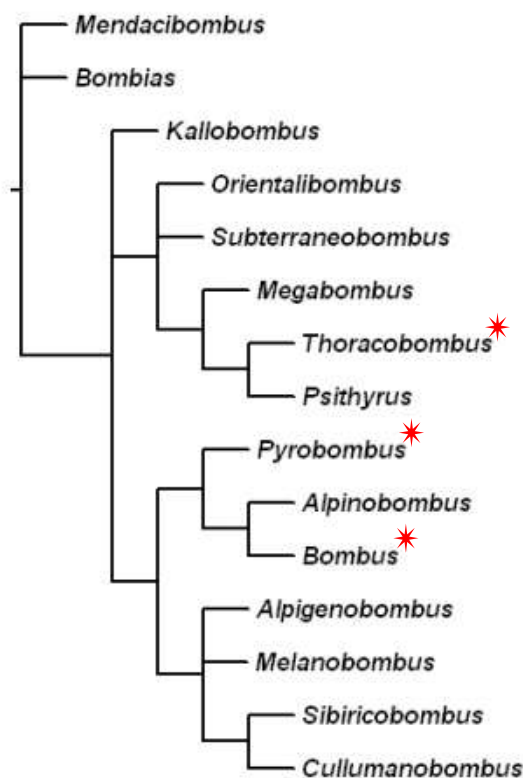


Figure 7 : Phylogénie des sous-genres de bourdon (d'après Williams 2008). Une * est placée à côté des sous-genres considérés

Ces sous-genres peuvent être séparés les uns des autres sur base de critères morphologiques. Un de ceux-ci est la longueur de la glosse (Goulson 2005 ; Medler 1962). En effet, si les bourdons sont classés entre ceux ayant une courte langue (≤ 8 mm), une langue de taille moyenne (8-9 mm) ou une longue langue (≥ 9 mm), les sous-genres *Bombus*, *Pyrobombus* et *Melanobombus* possèdent des langues courtes et les *Thoracobombus* est le seul sous-genre à posséder une langue de taille moyenne (Goulson 2005, Williams 2008).

3.1.1. *Bombus terrestris* (L.)

Bombus terrestris (L.) fait partie du sous-genre *Bombus*. Cela fait maintenant de nombreuses années que cette espèce d'insecte est élevée avec succès pour la pollinisation de cultures sous serre (Velthuis & Van Doorn 2006). Sa distribution est ouest-paléarctique et elle est centrée sur la Méditerranée. Elle s'étend jusqu'au sud de la Suède pour sa limite nord de distribution et jusqu'à l'Altaï, une chaîne de montagnes au Kazakhstan, pour sa limite est (Rasmont *et al.* 2008). Elle a été introduite au Japon, en Nouvelle-Zélande ou encore en Amérique du sud et dans toutes ces régions, cette espèce est devenue invasive (Carcamo 2017 ; Goulson 2010 ; Rasmont *et al.* 2008).

Le bourdon terrestre forme des colonies pouvant atteindre jusqu'à 600 individus (Scheuchl & Willner 2016). Il s'agit de la deuxième espèce de bourdons la plus abondante en Belgique et également l'une des plus généraliste. Elle exploite alors les ressources alimentaires proposées par un très grand nombre de familles de plantes différentes (Somme *et al.* 2015). *Bombus terrestris* est donc une espèce très polylectique (Rasmont 1988). Lors de mes observations, il a été principalement observé sur les Fabaceae et certaines Asteraceae. La littérature mentionne un nombre très important d'espèces butinées qui diffère selon les régions (Kleijn & Raemakers 2008). De plus, le polylectisme est accentué par le « vol de nectar » qui permet l'accès aux nectaires de beaucoup de fleurs même lorsque leur morphologie est complexe (Rasmont 1988).

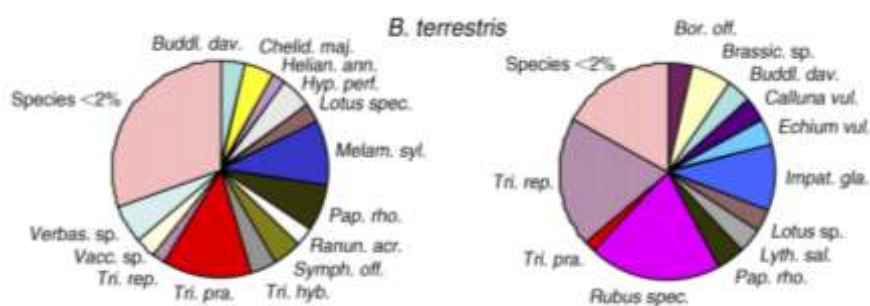


Figure 8 : Comparaison des choix floraux de *Bombus terrestris* avant 1950 (graphique de gauche) et en 2004-2005 (graphique de droite) sur base de la composition des pelotes de pollen. Species <2% = Ensemble des espèces de plante contribuant pour moins de 2% à la composition des pelotes de pollen (D'après Kleijn & Raemakers 2008).

Les mesures du prementum et de la glosse prises sur le proboscis de *B. terrestris* font en moyenne 8.9 mm (Durieux 1999) et la longueur de ces 2 pièces varie souvent de 8.10 mm à 9.80 mm. Pour la reine, les mesures sont différentes et le proboscis est plus long.

3.1.2. *Bombus lucorum* (L.)

La seconde espèce étudiée dans ce présent travail est *Bombus lucorum*. Ce taxon nommé en français bourdon des forêts est difficile à séparer des autres espèces du sous-genre *Bombus* s.s. auquel il appartient. Cela est surtout vrai pour les ouvrières qui sont indiscernables de celles appartenant à l'espèce *Bombus terrestris* (Rasmont 1984 ; Scheuchl & Willner 2016). Cependant, les reines de *B. lucorum* sont plus petites que celles de ce dernier et possèdent des bandes jaunes plus pâles.

Les mâles sont quant à eux bien différents de ceux de *B. terrestris*. Le pelage de la face est complètement noir chez le bourdon terrestre, alors qu'il est exclusivement jaune chez *B. lucorum*. Par ailleurs, le pelage thoracique et abdominal du mâle du bourdon des forêts est toujours grisonnant (Bellmann 1999 ; Rasmont & Terzo 2010).

Le bourdon des forêts forme des colonies qui peuvent atteindre jusqu'à 400 individus (Scheuchl & Willner 2016). Il est très répandu en Europe, atteignant la côte de la mer de Barents au nord et le pourtour méditerranéen au sud. Certaines colonies ont également été retrouvées en Asie centrale, en Chine et l'espèce est maintenant confirmée en Islande (Williams *et al.* 2012). *B. lucorum* était tout aussi abondant que *B. terrestris* dans la plupart des localités de Belgique, voire plus abondant que celui-ci en Haute Belgique mais il est devenu beaucoup moins fréquent ces dernières années (Rasmont 2015).

Tout comme *Bombus terrestris*, *Bombus lucorum* est très polylectique. Les plantes principalement butinées sont les Fabaceae, les Lamiaceae, les Asteraceae telles que le chardon. *Calluna vulgaris* est également très convoitée à la fin de l'été (Brian 1951 ; Yalden 1983) et *Salix spp* et *Rosa spp* sont importants pour le début de la saison (Teräs 1985).

Les mesures du prementum et de la glosse prises sur le proboscis de *B. lucorum* font en moyenne 7.5 mm (Durieux 1999) et la longueur de ces 2 pièces varie souvent de 6.8 mm à 8.0 mm. Pour la reine, les mesures sont différentes et le proboscis est plus long. Il fait en moyenne 12.2 mm (Ranta 1980 ; Medler 1962).

3.1.3. *Bombus hypnorum* (L.)

Bombus hypnorum fait partie du sous-genre des *Pyrobombus* (Scheuchl & Willner 2016). Il est noir avec le dessus du thorax roux fauve pouvant aller vers le brun foncé ou le noir chez certaines formes et les trois derniers segments de l'abdomen sont blancs.

Le bourdon des arbres forme des colonies qui varient de 80 à 400 individus (Scheuchl & Willner 2016). On le trouve depuis l'ouest de la France jusqu'à l'extrême est de la Russie. Il est assez commun dans une grande partie de l'Europe continentale mais il est cependant absent de la région méditerranéenne et des Balkans. Il est actuellement en expansion au Royaume-Uni et en Islande (BWARS ; Notton 2015)

Les plantes principalement butinées par *Bombus hypnorum* et citées par de nombreux auteurs sont *Epilobium angustifolium* et *Rubus idaeus* (Leclercq 1960 ; Rasmont 1988). Le choix préférentiel de *B. hypnorum* en France et en Belgique va aux Asteraceae, Ericaceae, Rosaceae et Grossulariaceae (Rasmont 1988). Les Rosaceae principalement butinées sont *Crataegus sp.* et *Prunus sp.*

Les mesures du prementum et de la glosse prises sur le proboscis du bourdon des arbres font en moyenne 7.7 mm (Durieux 1999) et la longueur de ces 2 pièces varie souvent de 7.4 mm à 8.3 mm.

3.1.4. *Bombus pascuorum* (L.)

Bombus pascuorum fait partie du sous-genre des *Thoracobombus* (Scheuchl & Willner 2016). L'espèce de loin la plus commune et une des plus variables en Belgique. La forme la plus typique en Belgique et sur laquelle l'étude a été réalisée possède un thorax fauve qui varie d'un beige très pâle à un fauve rougeâtre et un abdomen également fauve mais avec des bandes noires. En plus de cette sous-espèce *floralis*, les sous-espèces *moorselensis* et *freygessneri* sont aussi retrouvées en Belgique (Lecocq *et al.* 2015).

Le bourdon des champs forme des colonies qui varient de 60 à 150 individus (Scheuchl & Willner 2016). Il est devenu maintenant le bourdon le plus abondant de Belgique. Sa distribution géographique très large englobe quasiment toute l'Europe depuis le pourtour méditerranéen jusqu'aux rives de la mer de Barents. *B. pascuorum* a également une distribution qui part de l'Irlande et va jusqu'à l'extrême est de l'Asie.

B. pascuorum est le bourdon le plus polylectique de la région ouest-paléarctique (Rasmont 1988). Il est généralement observé sur les Asteraceae, les Fabaceae et les Lamiaceae. Il butine principalement sur *Trifolium pratense*, *T. repens* et sur plusieurs espèces du genre *Vicia*, *Lotus* et *Lamium* (Durieux 1999 ; Kleijn & Raemakers 2008).

Les mesures du prementum et de la glosse prises sur le proboscis du bourdon des arbres font en moyenne 9.15 mm (Durieux 1999) et la longueur de ces 2 pièces varie souvent de 6.7 mm à 10.3 mm. Pour la reine, les mesures sont différentes et le proboscis peut atteindre des longueurs de plus de 15 mm (Ranta 1980 ; Medler 1962).

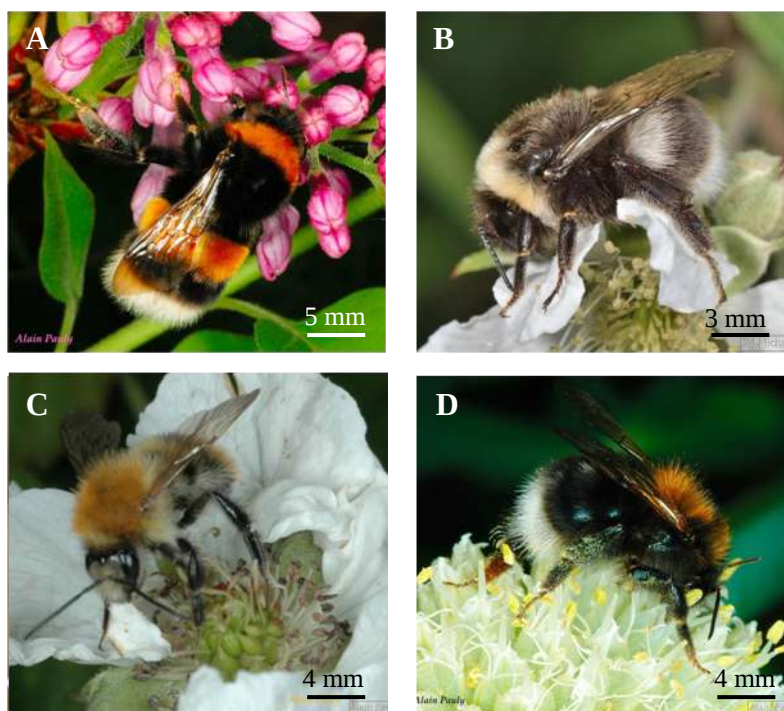


Figure 9 : A. *Bombus (Bombus) terrestris* B. *B. (Bombus) lucorum* C. *B. (Thoracobombus) pascuorum* D. *B. (Pyrobombus) hypnorum* (photographies : A. M. A. Pauly B. M. J.M. Michalowski C. M. A. Pauly D. M. A. Pauly)

3.2. Elevage des colonies

Au printemps 2017, une vingtaine de reines de *Bombus (Bombus) terrestris*, de *B. (Bombus) lucorum*, de *B. (Pyrobombus) pratorum*, de *B. (Pyrobombus) hypnorum* et de *B. (Melanobombus) lapidarius* ont été collectées sur des sites avec du saule marsault (*Salix caprea*) ou des callunes (*Calluna vulgaris*).

Ensuite, les reines ont été ramenées au sein du laboratoire de Zoologie (UMONS) afin de lancer des élevages. Les reines ont alors été placées dans des cages en bois contenant des « candies » de pollen et avec un accès à une solution sucrée. Les cages sont ensuite placées dans une pièce climatisée à 27°C et avec une humidité relative de 60% (Velthuis & van Doorn 2006 ; Lhomme *et al* 2013).

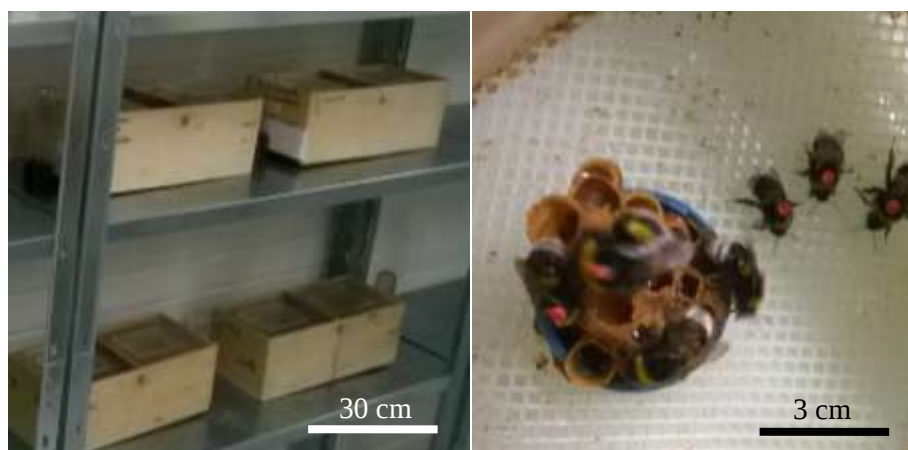


Figure 10 : A. Dispositifs d'élevage de bourdons B. Colonie de *Bombus lucorum* en formation (Photographies : Depris J)

Les "candies" sont composés de pollen de *Salix* mélangé à une solution faite de sucre et d'eau (Biogluc pink ®). De cette manière, une pâte malléable est obtenue afin de faciliter le nourrissage (Roseler 1985). Une solution sucrée est également fournie *ad-libidum* à la colonie. Il s'agit de Biogluc pink ® qui contient des antibiotiques, des vitamines et un colorant rose en plus du mélange eau et sucre.

Pour l'élevage de *Bombus (Thoracobombus) pascuorum*, le dispositif mis en place est différent car cette espèce de bourdon est dite « pocket-maker ». Cela signifie que les ouvrières de cette espèce ne font pas de réserve de pollen mais qu'elles le donnent directement aux larves. Les ouvrières ont donc besoin d'avoir un accès constant à des fleurs en dehors de la colonie. A cause de cette contrainte, l'élevage traditionnel de bourdon ne peut pas être lancé et une colonie déjà fondée de *B. pascuorum* est prélevée dans le jardin d'un particulier pour ensuite être ramenée au laboratoire de Zoologie où des tests sont réalisés dessus pendant une semaine.

Finalement, certains bourdons terrestres utilisés dans cette étude sont des ouvrières issues d'une colonie achetée à la firme Biobest (Westerlo, Belgique) afin de voir s'il existe des différences quant à la prise de nectar par rapport à une colonie de *B. terrestris* fondée par une reine sauvage.

3.3. Prise de nectar

Afin de mesurer la prise de nourriture des bourdons, nous avons développé un protocole expérimental à partir d'une manipulation mise en place et testée par Ma (2016). Pour cela, une dizaine d'ouvrières sont prélevés de la colonie pour leur faire passer une

période de jeûne de minimum 2 heures. Au préalable, les bourdons choisis sont numérotés pour être suivi individuellement durant toute la durée des expériences. Chacune des ouvrières est donc testée plusieurs fois.

La période de jeûne se passe à température ambiante et dans le noir complet. Il est important de noter que si la colonie est en fin de cycle, une partie des bourdons ne survivra pas aux 2 heures de jeûne et il est nécessaire de passer à une période de 1H30 maximum. Dans tout les cas, la période de jeûne ne peut dépasser 4 heures (Ma *et al* 2016).

Ensuite, une ouvrière est placée dans un tube de 15 mL percé à son extrémité qui est placé face à une seringue contenant du nectar. Comme cela, la période d'habituation à ce nouvel environnement peut démarrer et elle dure 3 minutes. Pendant ce temps, le sirop testé est placé dans un microcapillaire de 100 μ L qui est scanné une fois rempli.

Les concentrations de nectar testées sont faites à partir de miel pur auquel de l'eau est ajoutée. Ces concentrations sont les suivantes et le pourcentage est exprimé en fraction volumique. Il s'agit de solution de miel pur, de solution de miel 90.2%, miel 65%, miel 46.6%, miel 22.5% et miel 2%. Ces solutions présentent une viscosité qui varie de 10.1 Pa/s à 1 mPa/s.

Le capillaire rempli est présenté au bourdon. La phase de mesure commence dès que le proboscis entre en contact avec la solution sucrée testée à l'intérieur du microcapillaire. La solution est maintenue au contact du bourdon avec l'aide d'une seringue branchée en amont du microcapillaire. Une caméra numérique est placée à 5 cm au-dessus de l'extrémité du tube et du microcapillaire afin de filmer la prise de solution sucrée par le bourdon (Figure 10). Les 6 concentrations seront testées sur chacune des ouvrières choisies et des réplicas seront également réalisés. L'essai sera annulé si le bourdon ne se nourrit pas dans les 5 minutes.

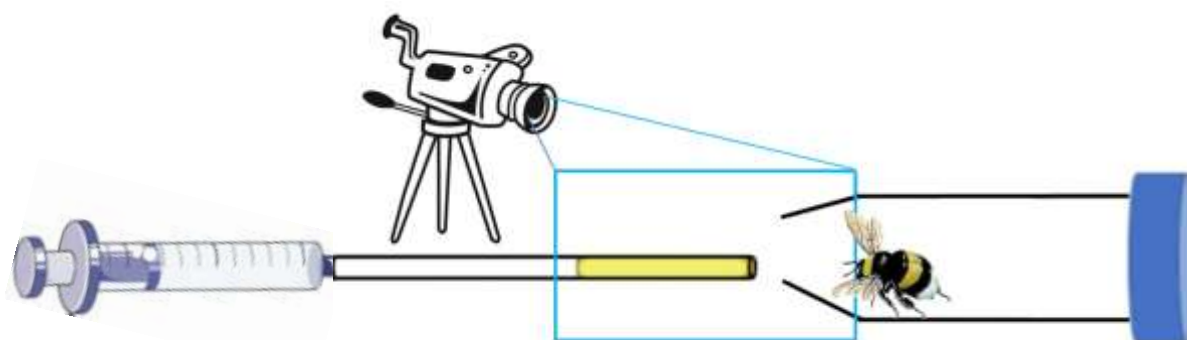


Figure 11 : Dispositif expérimental pour la mesure de prise de nectar

Finalement, un scan du capillaire est réalisé s'il y a eu une consommation afin de déterminer le volume de solution consommé. Cette détermination est faite avec l'aide du logiciel ImageJ (version 1.8.0), un logiciel de traitement d'image ainsi qu'en utilisant la formule :

$$\frac{(100\mu\text{L} \cdot x_1) - (100\mu\text{L} \cdot x_2)}{\alpha}$$

Où α est la longueur du microcapillaire et où x_1 et x_2 sont les longueurs mesurées du liquide à l'intérieur du tube microcapillaire respectivement avant et après la phase d'essai.

Les ouvrières numérotées qui ont été testées sont tuées une fois que toutes les données sur la prise de sirop à différentes concentrations en sucre ont été enregistrées. Les proboscis sont alors retirés des spécimens pour en connaître la taille et les distances inter-tegulae sont aussi mesurées pour standardiser le jeu de données.

Avec cette méthode, il a été possible de capturer 120 heures de vidéos qui ont été analysées pour en tirer toute une série d'informations complémentaires aux scans des microcapillaires. Ainsi, il a été possible de mesurer différents paramètres comme la quantité de nectar prise, le nombre de coup de langue nécessaire à cette consommation, la quantité de nectar absorbée par lapée et aussi la vitesse du coup de langue.

3.4. Analyses morphologiques

Pour déterminer si la longueur du proboscis a une influence sur la prise de nectar, la longueur du prémentum et de la glosse de chacun des individus ayant pris du nectar a été mesurée (Heinrich 1976).

Pour décrire la morphologie des pièces buccales, 3 ouvrières ($n=3$) testées lors des expériences décrites dans le point précédent sont prélevées des colonies de *B. terrestris*, *B. lucorum*, *B. hypnorum*, *B. pascuorum* et *B. terrestris* de chez Biobest. Les proboscis sont ensuite extraits, mesurés et préparés pour la microscopie électronique à balayage. Les premières étapes de fixation des échantillons sont identiques à celles de la réalisation de coupes histologiques en allant du bain de Bouin au bain d'éthanol absolu. La seule différence réside ici dans la composition du Bouin qui ne contient pas d'acide acétique. Après cela, les proboscis sont prêts pour le séchage en réalisant un passage par le point critique du CO_2 (Terrana & Eeckhaut 2017).

Une fois séchées, les langues de bourdon sont posées sur un support recouvert d'un papier adhésif double face. Ensuite, elles sont recouvertes d'une mince couche d'or par pulvérisation cathodique afin d'avoir une bonne source d'électrons sur l'échantillon analysé (Zhao 2015 ; Zhu 2016). Finalement, les proboscis sont observés au SEM et des clichés sont pris.

Sur ces clichés, différents paramètres pouvant influencer la prise de nectar sont mesurés (Figure 12). Ces mesures sont celles de la longueur des soies de la glosse à différents niveaux de celle-ci car leur grandeur varie en fonction de leur position sur la langue (Wu 2015). De même, la distance entre deux soies est également mesurée. Les autres mesures prises se trouvent sur les palpes labiaux et les galea. En effet, ces pièces buccales présentent une striation de leur face interne qui aide à réduire les forces de frottement lors de la prise de nectar plus visqueux (Li 2015). La distance entre deux crêtes et leur nombre sur une distance de 100 μm sont calculés.

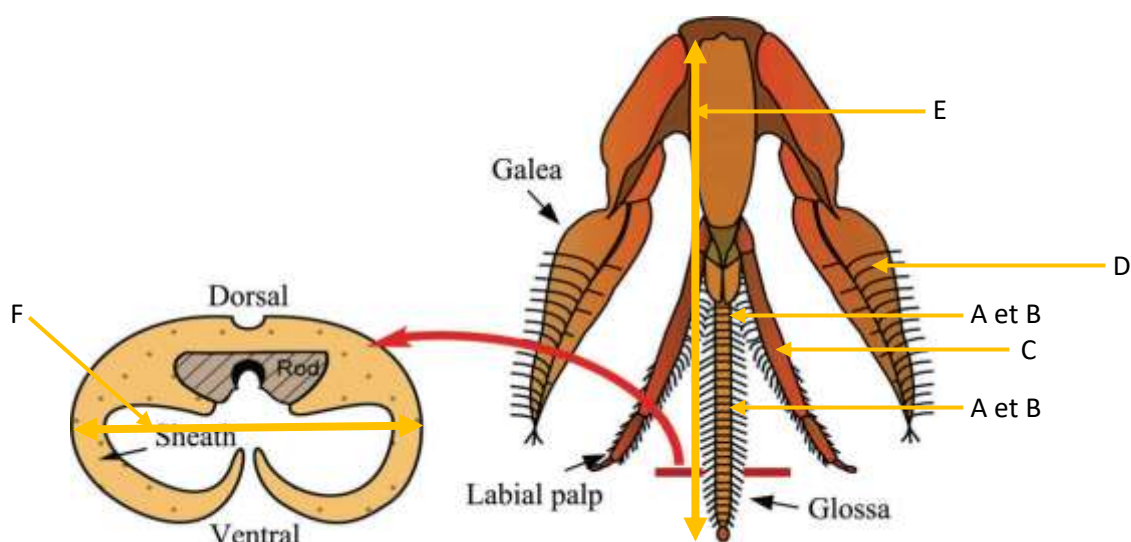


Figure 12 : Dessin des pièces buccales de bourdon montrant les endroits où les paramètres suivant sont mesurés : **A.** Longueur des soies de la glosse **B.** Distance entre 2 soies de la glosse **C.** Distance entre 2 crêtes des palpes labiaux **D.** Distance entre 2 crêtes de la face intérieure des galea **E.** Longueur de la glosse **F.** Diamètre de la glosse

Pour les analyses histologiques, des ouvrières de *B. terrestris* (n=5), *B. lucorum* (n=2), *B. hypnorum* (n=4) et *B. pascuorum* (n=6) sont prélevées dans la nature. Les individus analysés ne sont donc pas ceux élevés au laboratoire car les proboscis analysés doivent être les plus frais possible, sans détérioration. Les langues sont dès lors retirées des ouvrières fraîchement décapitées et elles sont placées dans des cassettes en plastiques. Le protocole qui

suit a été mis au point dans le laboratoire d'Histologie de l'Université de Mons par le Professeur D. Nonclercq.

Les échantillons sont ensuite rapidement plongés dans du liquide de Bouin qui est un fixateur biologique composé de formol, d'alcool, d'acide acétique, d'acide picrique et d'eau distillée et ce, pendant une période de 24 heures. Après ce laps de temps, les cassettes sont transférées dans une solution d'éthanol 70%. Plusieurs bains successifs d'éthanol de plus en plus concentré sont réalisés avec un changement de solution toutes les 2 heures environ. Les cassettes sont finalement placées dans un bain de butanol durant une période de 24 heures.

Une fois ces étapes réalisées, les proboscis sont placés dans de la paraffine liquide conservée dans une étuve. Un changement de paraffine est réalisé toutes les 24 heures pour un total de 3 fois. Ensuite, les échantillons sont sortis des cassettes et enrobés dans la paraffine. Pour les coupes longitudinales, la face latérale du proboscis est orientée vers le bas de la cassette en métal pour être dans le bon plan de coupe après démoulage. Pour les coupes transversales, le côté apical du proboscis est orienté vers le bas de la cassette métallique pour être aussi dans le bon plan de coupe lors du démoulage.

Après 2 jours, les blocs de paraffine sont démoulés et tous découpés avec une épaisseur de 5 microns à l'aide d'un microtome Leica RM2145. A chaque découpe, les lamelles de paraffine contenant une coupe de l'échantillon sont transférées une à une à l'aide d'un pinceau humide sur des lames microscopiques comportant une goutte d'eau. Ces lames microscopiques sont posées sur une plaque chauffante à 37°C jusqu'à ce qu'elles soient sèches. Elles sont ensuite placées dans un raque pour les étapes de déparaffinage, pour la coloration au trichrome de Masson et pour les derniers bains nécessaires au montage.

Le montage des lames microscopiques se fait directement après un dernier bain de toluène. Des lamelles sont recouvertes d'une solution de montage mélangée à du vernis et sont rapidement déposées à la surface des lames microscopiques afin de ne pas laisser ces lames trop longtemps à l'air libre. En effet, cela risquerait d'assécher et d'abîmer le tissu. Après quelques heures, elles peuvent être observées à l'aide d'un microscope optique et des clichés des coupes peuvent être pris. Ces observations et ces clichés sont pris à divers grossissements afin de pouvoir déterminer les différentes structures visibles dans les tissus.

Le but de ces différents clichés est d'observer plusieurs structures internes des pièces buccales de bourdon qui peuvent influencer la prise de nectar. De plus, des mesures sur la glosse peuvent être prises tels que : - le diamètre de la glosse

- le nombre de soies constituant un anneau
- la distance séparant 2 soies
- le diamètre des soies

3.5. Analyses statistiques

Tous les tests statistiques ont été effectués avec le logiciel R, version 3.5.0.

Les paramètres d'étude des données ont été analysés au moyen d'une analyse de la variance (ANOVA). Ce test permet de comparer les moyennes de plus de deux échantillons. Les données ont préalablement été testées pour la normalité des résidus (vérifiée par test de Shapiro-Wilk, H_0 = distribution normale) et pour l'homoscédasticité (vérifiée par test de Bartlett, H_0 = égalité des variances) mais aussi transformées (transformation logarithmique) pour respecter les conditions d'application de ces tests si cela est nécessaire. Lorsque ces conditions ne sont pas rencontrées même après transformation des données, l'équivalent non-paramétrique du test (i.e. Kruskal-Wallis) a été effectué.

Lorsque ces tests d'hypothèses ont détecté des différences significatives au sein d'un paramètre donné, un test post hoc a permis de structurer les données en précisant où résidaient ces différences. Ce test effectue des comparaisons multiples paires par paire. Les résultats ont été visualisés au moyen de boîtes à dispersion et les résultats de ces comparaisons y ont été compilés au moyen d'indices lettrés placés au-dessus des boîtes par ordre alphabétique, la lettre A ayant été associée par convention à la valeur la plus basse d'une variable donnée. Deux boîtes partageant un indice lettré en commun ne sont pas significativement différentes ($\alpha=0.05$).

Finalement, un test de corrélation est utilisé pour évaluer une relation entre deux variables. Le calcul du coefficient de corrélation est effectué en utilisant la méthode de corrélation de Pearson.

4. Résultats

4.1. Prise de nectar

4.1.1. Volume prélevé par lapée en fonction de la viscosité

Les résultats de la comparaison des prises de nectar de *Bombus* (*Bombus*) *terrestris*, *B. (Bombus) lucorum*, *B. (Pyrobombus) hypnorum* et *B. (Thoracobombus) pascuorum* ainsi que leurs descriptions sont présentés ci-dessous. Les résultats obtenus à partir des mesures prises sur *B. (Pyrobombus) pratorum* et sur *B. (Melanobombus) lapidarius* ne sont pas illustrés graphiquement car le nombre d'individu testé ayant pris du sirop est trop faible (n=4 et n=5).

Chez *B. terrestris* (n=10), il est observé des différences significatives entre les moyennes des quantités de sirop prises par lapée pour différentes concentrations en sucre testées dans le sirop. En effet, les moyennes des quantités de sirop prises par lapée pour les concentrations en miel de 46% et de 65% sont significativement différentes de la moyenne des quantités prises pour la concentration en miel de 100% (Figure 13 A).

Chez les individus de l'espèce *B. terrestris* provenant de la firme Biobest (n=10), il est également observé des différences significatives entre les moyennes des quantités de sirop prises par lapée pour différentes concentrations en sucre testées dans le sirop mais elles sont différentes. Les moyennes des quantités de sirop prises par lapée pour les concentrations en miel de 22.2%, 46% et de 65% sont significativement différentes de la moyenne des quantités prises pour la concentration en miel de 100% (Figure 13 B). La moyenne des valeurs pour la concentration en miel de 22.2% est aussi significativement différente que celle pour la concentration en miel de 90.2%.

Pour la seconde espèce appartenant au sous-genre *Bombus*, *Bombus lucorum* (n=8), il est observé des différences significatives entre les moyennes des quantités de sirop prises par lapée pour les concentrations en miel dans le sirop de 46% et de 65% par rapport aux concentrations en miel de 2% et de 22.2% (Figure 13 C).

Chez *B. hypnorum* (n=8), les mesures n'ont pas pu être prises pour une concentration en miel de 2% car la colonie s'est effondrée. Cependant, les moyennes des quantités de sirop prises par lapée pour les concentrations en miel de 22.2%, 46.6% et 65% sont

significativement différentes de la moyenne de la quantité de sirop prise par coup de langue pour la concentration en miel de 100% (Figure 13 D).

Pour l'espèce *B. pascuorum* (n=8), les moyennes des quantités de sirop prises par lapée pour les concentrations en miel de 2% et de 22.2% sont significativement différentes des moyennes des quantités prises pour les concentrations en miel de 65%, 90.2% et de 100% (Figure 13 E). Il peut également être remarqué que les quantités prises de nectar par coup de langue pour cette espèce est inférieur aux valeurs des autres espèces testées.

Durant les expériences filmées, il a également été remarqué que les proboscis des espèces étudiées (qui sont considérés comme des longues langues) se tordaient de plus en plus en même temps que l'augmentation de la viscosité. Pour éviter cela, *B. pascuorum* et dans une plus faible mesure *B. lucorum* ne sortaient que l'extrémité de la glosse dans les solutions composées de miel pur.

Lorsque sur ces mêmes données des nuages de points sont réalisés et que des tests de corrélation de Spearman sont menés, il est montré que *B. terrestris* sauvage et que *B. lucorum* possèdent des valeurs plus élevées pour les concentrations intermédiaires (Figure 14 A et C). Il n'y a donc aucune relation linéaire entre l'augmentation de la concentration et le maximum de prise de sirop en une lapée. Par contre, en ce qui concerne les espèces *B. hypnorum* et *B. pascuorum*, il y a de nettes relations entre l'augmentation de la concentration et le maximum de prise de sirop en une lapée (Figure 14 D et E). Dans le premier cas, elle est négative et plus la concentration augmente, moins il y a de sirop qui est pris par coup de langue (valeur de $p = 0.00004$ et coefficient de corrélation de -0.63). Chez l'autre espèce, la corrélation est positive et plus la concentration augmente, plus il y a de sirop qui est capté par coup de langue (valeur de $p = 0.0004$ et coefficient de corrélation de 0.53). En ce qui concerne la souche de Biobest de *B. terrestris*, les résultats du test de Pearson montrent qu'il y a également une corrélation linéaire négative mais les moyennes comparées pour cette corrélation sont quand même peu différentes les unes des autres (Figure 14 B).

En résumé, il peut être dit que *B. terrestris* et que *B. lucorum* ont des optima en prise de nectar aux concentrations intermédiaires en miel. Ces concentrations en miel de 46.6% et 65% possèdent une viscosité de 0.04 Pa.s et de 0.2 Pa.s pour des concentrations en sucre de 39 et 54%. Pour *B. pascuorum*, l'optimum de prise de nectar par coup de langue se trouve parmi les 3 concentrations en miel les plus élevées alors que pour *B. hypnorum*, la concentration optimale en sucre dans le sirop est l'une des plus faibles testées (i.e. 22.2 % de miel en solution pour une concentration en sucre de 19%).

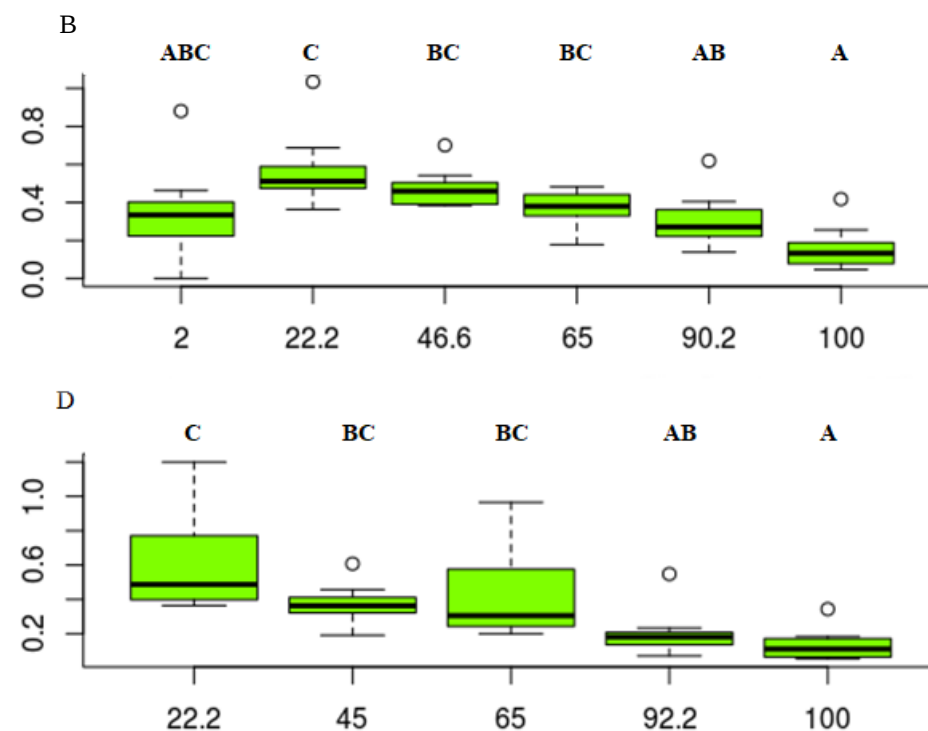
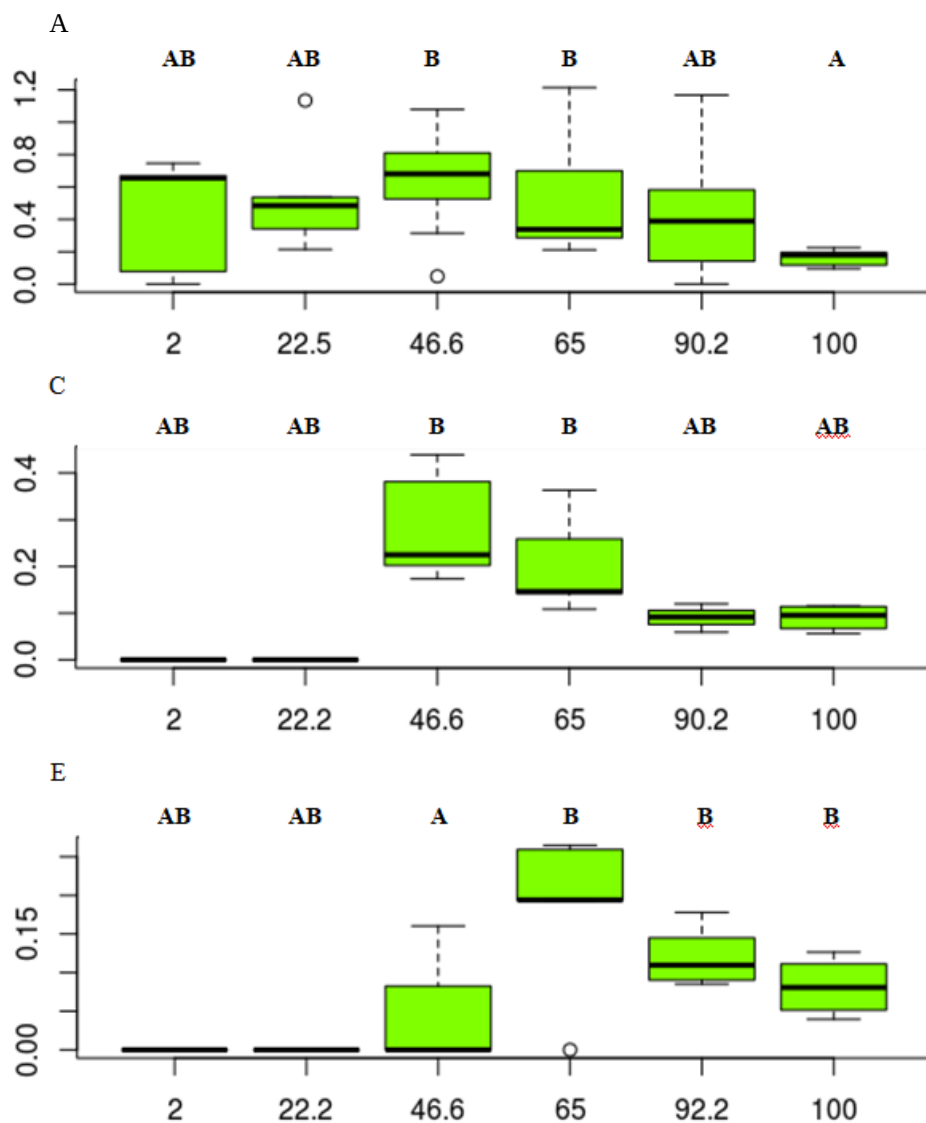


Figure 13 : **A.** Comparaison des moyennes des valeurs de la quantité prise de sirop par lapée à différentes concentration en miel chez *Bombus terrestris* (n=10) **B.** Comparaison des moyennes des valeurs de la quantité prise de sirop par coup de langue à différentes concentration en miel chez *Bombus terrestris* de la firme Biobest. (n=10) **C.** Comparaison des moyennes des valeurs de la quantité prise de sirop par lapée à différentes concentration en miel chez *Bombus lucorum* (n=8) **D.** Comparaison des moyennes des valeurs de la quantité prise de sirop par coup de langue à différentes concentration en miel chez *Bombus hypnorum* (n=8) **E.** Comparaison des moyennes des valeurs de la quantité prise de sirop par lapée à différentes concentration en miel chez *Bombus pascuorum* (n=8). Pour rappel, les indices lettrés placés au dessus des boites représentent les résultats de ces comparaisons et la lettre A ayant été associée à la valeur la plus basse.

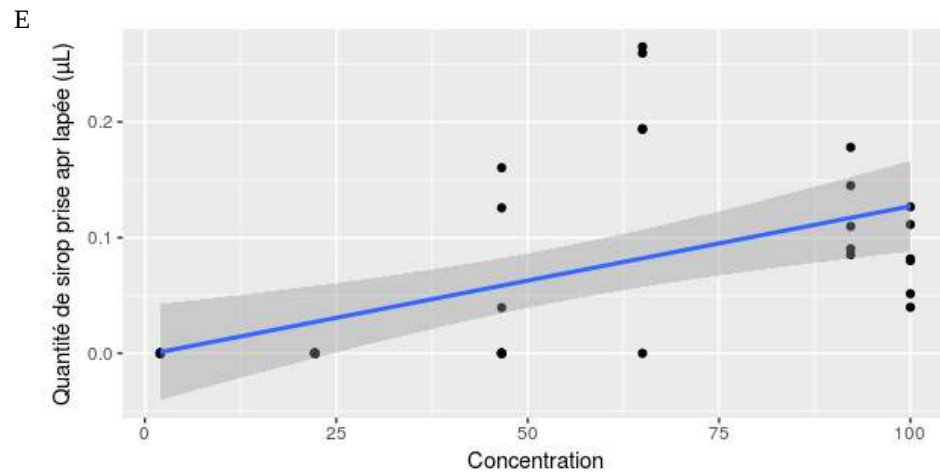
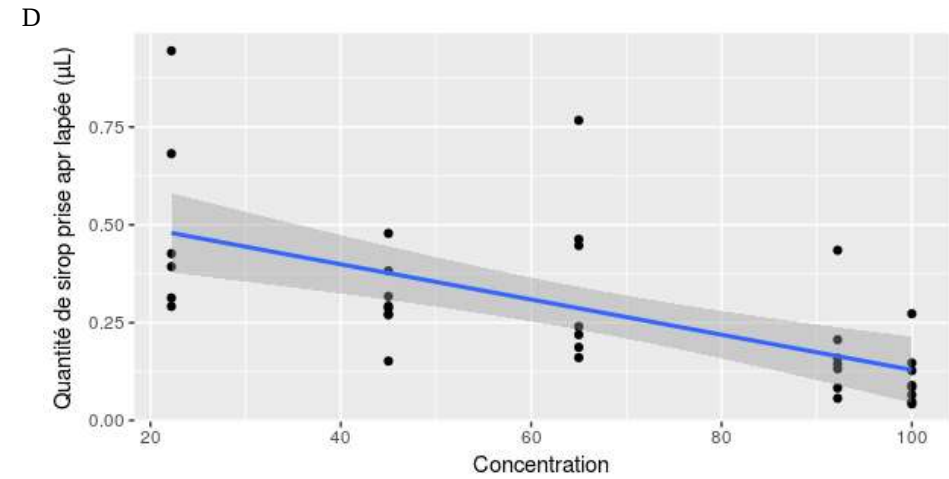
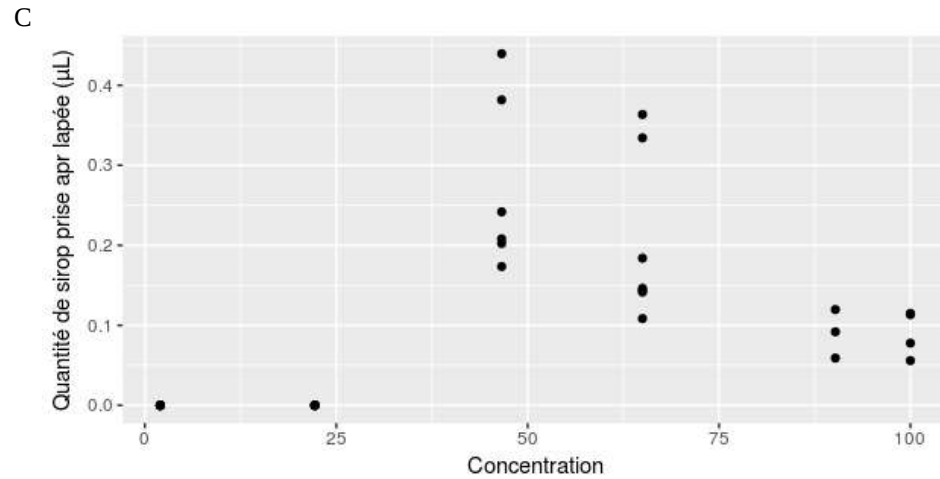
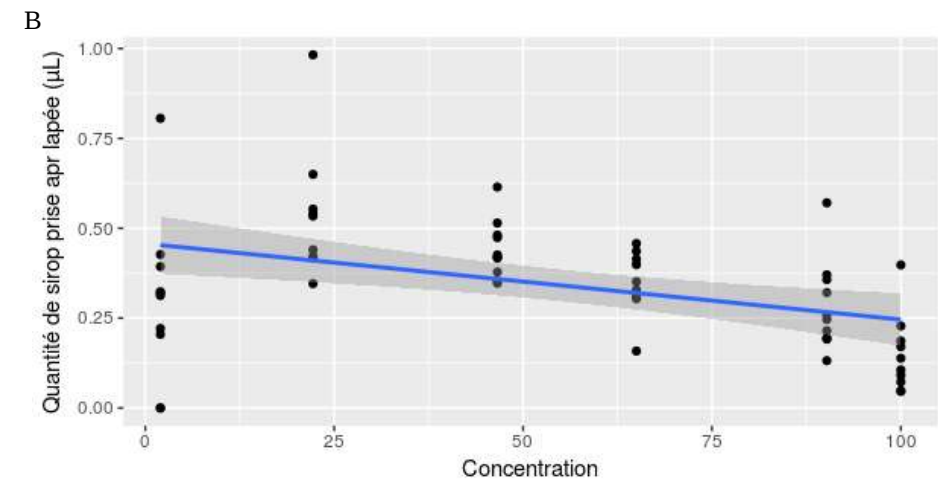
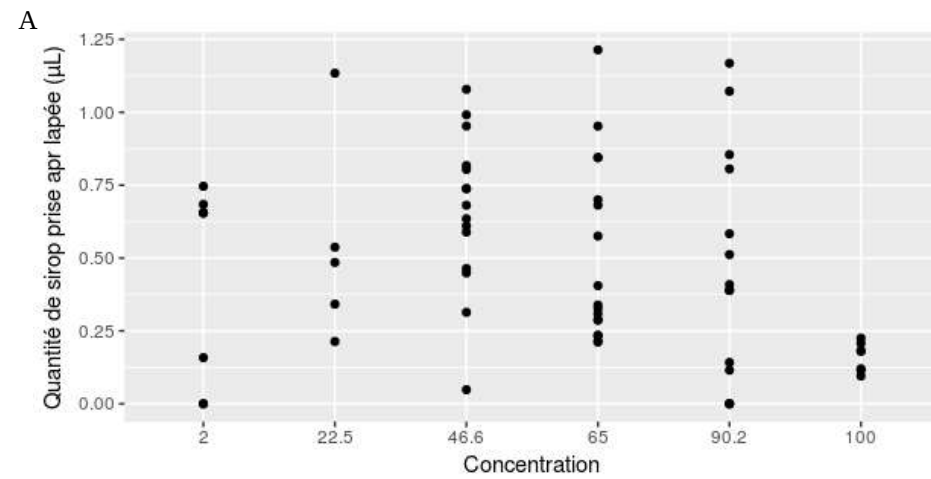


Figure 14 : **A.** Quantité de sirop prise par lapée (μL/lapée) en fonction de la concentration en miel chez *Bombus terrestris* (n=10) **B.** Quantité de sirop prise par lapée (μL/lapée) en fonction de la concentration en miel chez *Bombus terrestris* de la firme Biobest (n=10) **C.** Quantité de sirop prise par lapée (μL/lapée) en fonction de la concentration en miel chez *Bombus lucorum* (n=8) **D.** Quantité de sirop prise par lapée (μL/lapée) en fonction de la concentration en miel chez *Bombus hypnorum* (n=8) **E.** Quantité de sirop prise par lapée (μL/lapée) en fonction de la concentration en miel chez *Bombus pascuorum* (n=8).

4.1.2. Nombre de lapée en fonction de la viscosité

Pour le nombre de coup de langue, des différences significatives entre les moyennes ont été observées chez *B. terrestris*. Les moyennes du nombre de lapée pour les concentrations en miel de 46.6%, 65%, 90.2% et de 100% sont significativement différentes de la moyenne du nombre de coup de langue pour la concentration en miel de 2%. De plus, les valeurs pour les concentrations en miel de 65% et de 100% sont significativement différentes de les moyennes du nombre de coup de langue pour les concentrations en miel de 22.2% et 46.6% (Figure 15 A).

Chez les individus de l'espèce *B. terrestris* provenant de la firme Biobest, les moyennes du nombre de lapée pour les concentrations en miel de 22.2%, 46.6%, 65%, 90.2% et de 100% sont significativement différentes de la moyenne du nombre de coup de langue pour la concentration en miel de 2%. Il s'agit là de la seule différence significative (Figure 15 B).

Pour la souche sauvage du bourdon terrestre, il est observé que le nombre de lapée augmente progressivement pour atteindre un plateau aux 3 concentrations en miel les plus élevées. Pour les individus provenant de chez Biobest, C'est différent et le nombre de coup de langue est constant quelque soit la concentration en sucre de la solution testée à l'exception de la solution à 2% de miel. En effet, celle-ci ne contient que 1.7% de sucre et le nombre de lapée pour prélever ce sirop est très bas.

Chez le bourdon des forêts, le nombre de coup de langue augmente progressivement en même temps que la concentration en carbohydrate dans la solution (Figure 15 C). D'ailleurs, les moyennes du nombre de lapée pour les concentrations en miel de 2% et de 22.2% sont significativement différentes de la moyenne du nombre de coup de langue pour la concentration en miel de 90.2%.

Chez *B. hypnorum*, il n'est pas observé de différences significatives entre les différentes concentrations en sucre testées dans le sirop pour le nombre de lapée. Cependant, un plus grand nombre de coup de langue est quand même observé à une concentration en miel dans le sirop de 22.2% (Figure 15 D). En opposition, le nombre maximal de lapée est atteint pour les fortes concentrations en miel en solution chez *B. pascuorum*. En effet, c'est pour le miel pur que le plus de différence significative parmi les moyennes calculées est observé et c'est également lui qui possède la valeur la plus élevée (Figure 15 E).

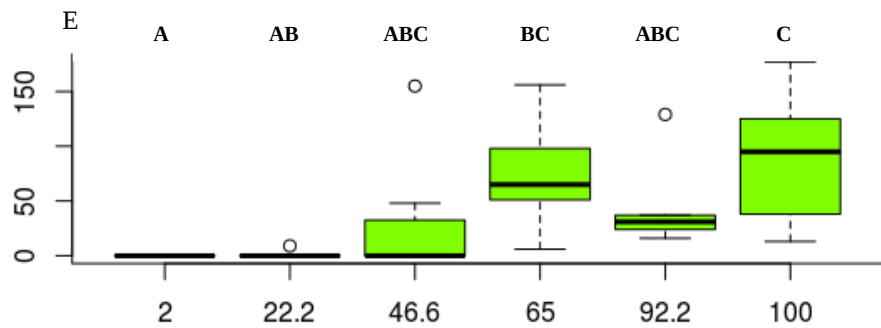
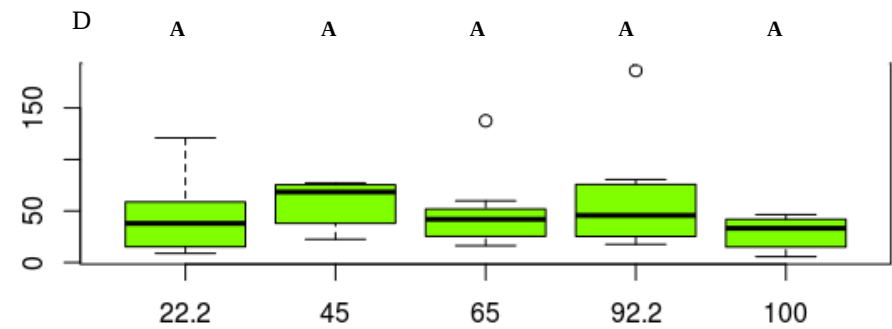
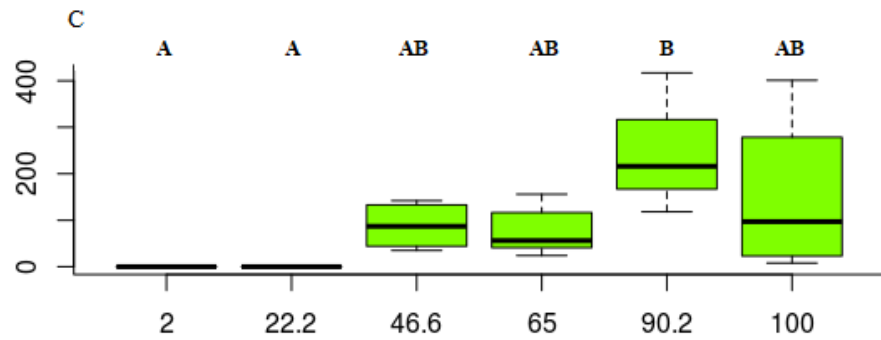
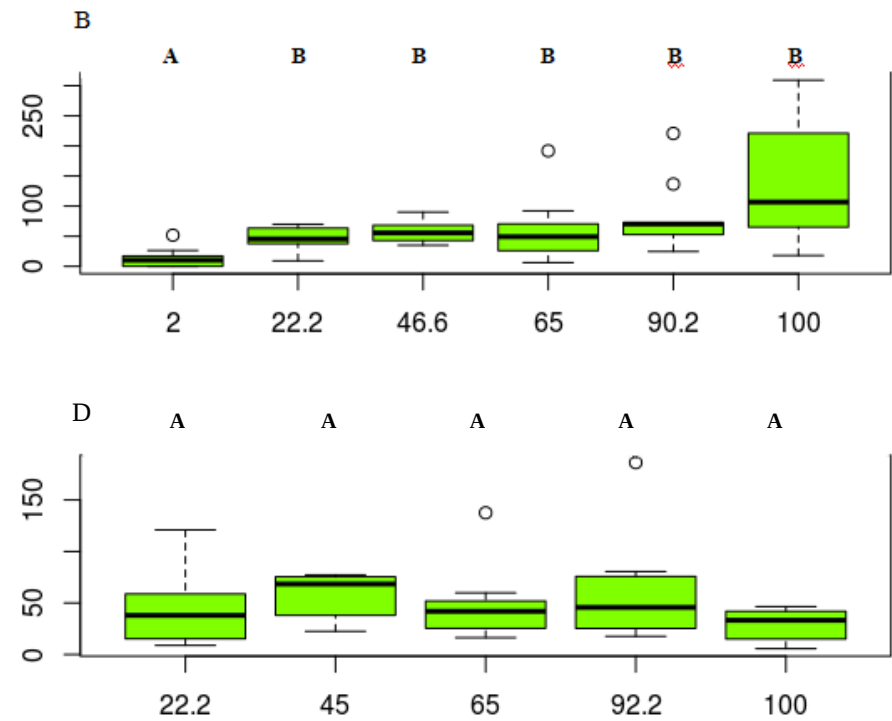
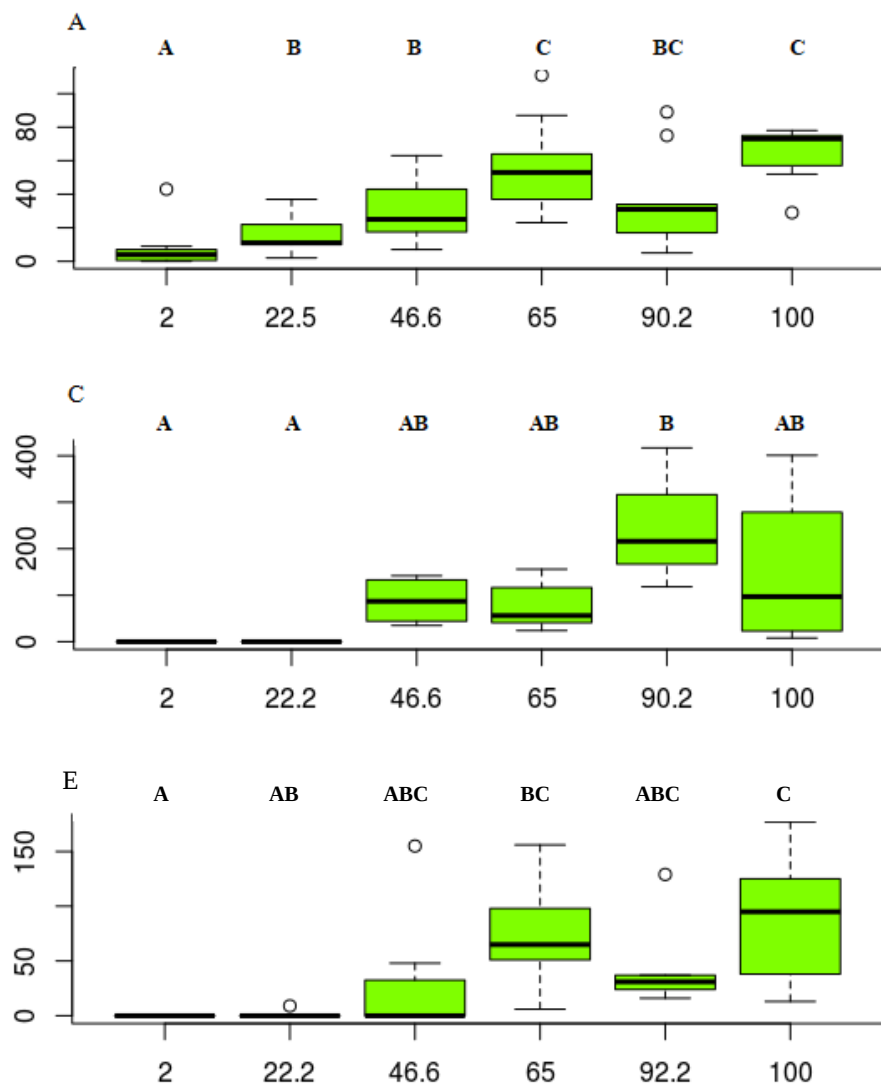


Figure 15 : **A.** Comparaison des moyennes du nombre de lapée effectuée pendant les enregistrements vidéo pour prendre une solution à différentes concentration en miel chez *Bombus terrestris* (n=10) **B.** Comparaison des moyennes du nombre de lapée effectuée pour prendre une solution à différentes concentration en miel chez *B. terrestris* de la firme Biobest (n=10) **C.** Comparaison des valeurs du nombre de lapée effectuée pour prendre une solution à différentes concentration en miel chez *Bombus lucorum* (n=8) **D.** Comparaison des valeurs du nombre de lapée effectuée pour prendre une solution à différentes concentration en miel chez *Bombus hypnorum* (n=8) **E.** Comparaison des moyennes des valeurs du nombre de lapée effectuée pour prendre une solution à différentes concentration en miel chez *Bombus pascuorum* (n=8)

4.1.3. Quantité de sirop totale prélevée en fonction de la viscosité

Pour la quantité de sirop totale consommée chez *B. terrestris*, des différences significatives entre les moyennes ont été observées. Les moyennes de la quantité totale bue par les bourdons pour les concentrations en miel de 65% sont significativement différentes des moyennes des quantités totales bues des sirops aux concentrations en miel de 2%, 22.5% et 90.2%. La moyenne des valeurs pour la concentration en miel de 46.6% est aussi significativement différente que celle pour la concentration en miel de 2% (Figure 16 A).

Pour *B. terrestris* provenant de la firme Biobest, des différences significatives entre les moyennes ont également été observées. Les moyennes de la quantité totale bue par les bourdons pour les concentrations en miel de 2% sont significativement différentes des moyennes des quantités totales bues des sirops aux concentrations en miel de 22.5%, 46.6%, 65% et 90.2%. La moyenne des valeurs pour la concentration en miel de 46.6% est aussi significativement différente que celle pour la concentration en miel de 100% (Figure 16 B).

Chez *B. lucorum*, les moyennes de la quantité totale bue par le bourdon pour les concentrations en miel de 46.6% et 90.2% sont significativement différentes que les moyennes des valeurs pour les concentrations en miel de 2 et 22.2% (Figure 16 C) alors que chez *B. hypnorum*, ce sont les moyennes de la quantité totale bue pour les concentrations en miel de 22.2%, 46.6% et 65% qui sont significativement différentes et plus élevées que la moyenne de la quantité totale bue pour la concentration en miel de 100% (Figure 16 D).

Pour la quantité de sirop totale consommée chez *B. pascuorum*, la moyenne de la quantité totale bue par les bourdons pour les concentrations en miel de 2% qui est très basse est significativement différente des moyennes des quantités totales bues des sirops aux concentrations en miel de 65%, 90.2% et 100% qui ont des valeurs plus élevées (Figure 16 E). Il en est de même pour la concentration en miel de 22.2% par rapport à celle à 65%.

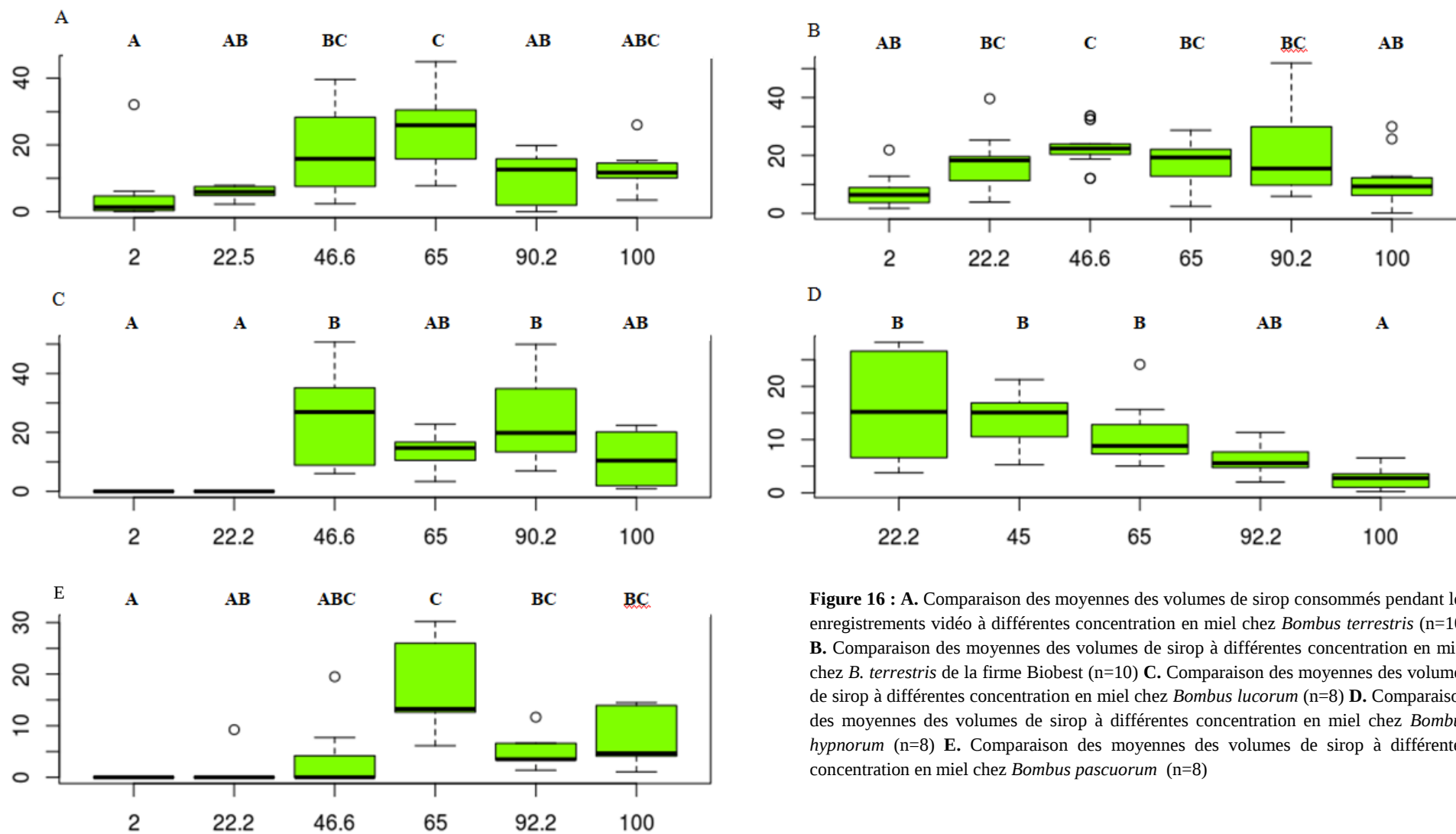


Figure 16 : A. Comparaison des moyennes des volumes de sirop consommés pendant les enregistrements vidéo à différentes concentration en miel chez *Bombus terrestris* (n=10) B. Comparaison des moyennes des volumes de sirop à différentes concentration en miel chez *B. terrestris* de la firme Biobest (n=10) C. Comparaison des moyennes des volumes de sirop à différentes concentration en miel chez *Bombus lucorum* (n=8) D. Comparaison des moyennes des volumes de sirop à différentes concentration en miel chez *Bombus hypnorum* (n=8) E. Comparaison des moyennes des volumes de sirop à différentes concentration en miel chez *Bombus pascuorum* (n=8)

4.1.4. Comparaison des espèces étudiées

Si on regarde les valeurs obtenues pour les 4 des espèces étudiées pour la quantité de nectar prise par coup de langue, la quantité totale de sirop consommée et le nombre de lapée, *B. terrestris* sauvage possède pour plusieurs concentrations testée une moyenne différente et plus élevée que celles des autres espèces.

La souche sauvage possède des moyennes différentes pour la quantité de sirop prise par lapée à une concentration de 100%, 90.2% (Figure 17 A) et 65% en miel. Dans ces comparaisons là, la souche de Biobest possède la deuxième moyenne la plus élevée.

La souche de Biobest possède quant à elle une moyenne plus élevée lors de la comparaison des moyennes des valeurs de la quantité totale de sirop consommée pour une solution d'une concentration en miel de 90.2% (Figure 17 B). Cette moyenne est même différente de celle obtenue par des sous-espèces différentes.

Dans les autres comparaisons qu'il est possible de faire, il n'y a aucune moyenne significativement différente (Figure 18 A) même si les valeurs des moyennes du nombre de coup de langue pour les 2 plus hautes concentrations en miel sont élevées chez *B. lucorum*, *B. pascuorum* et la souche de Biobest (Figure 18 B).

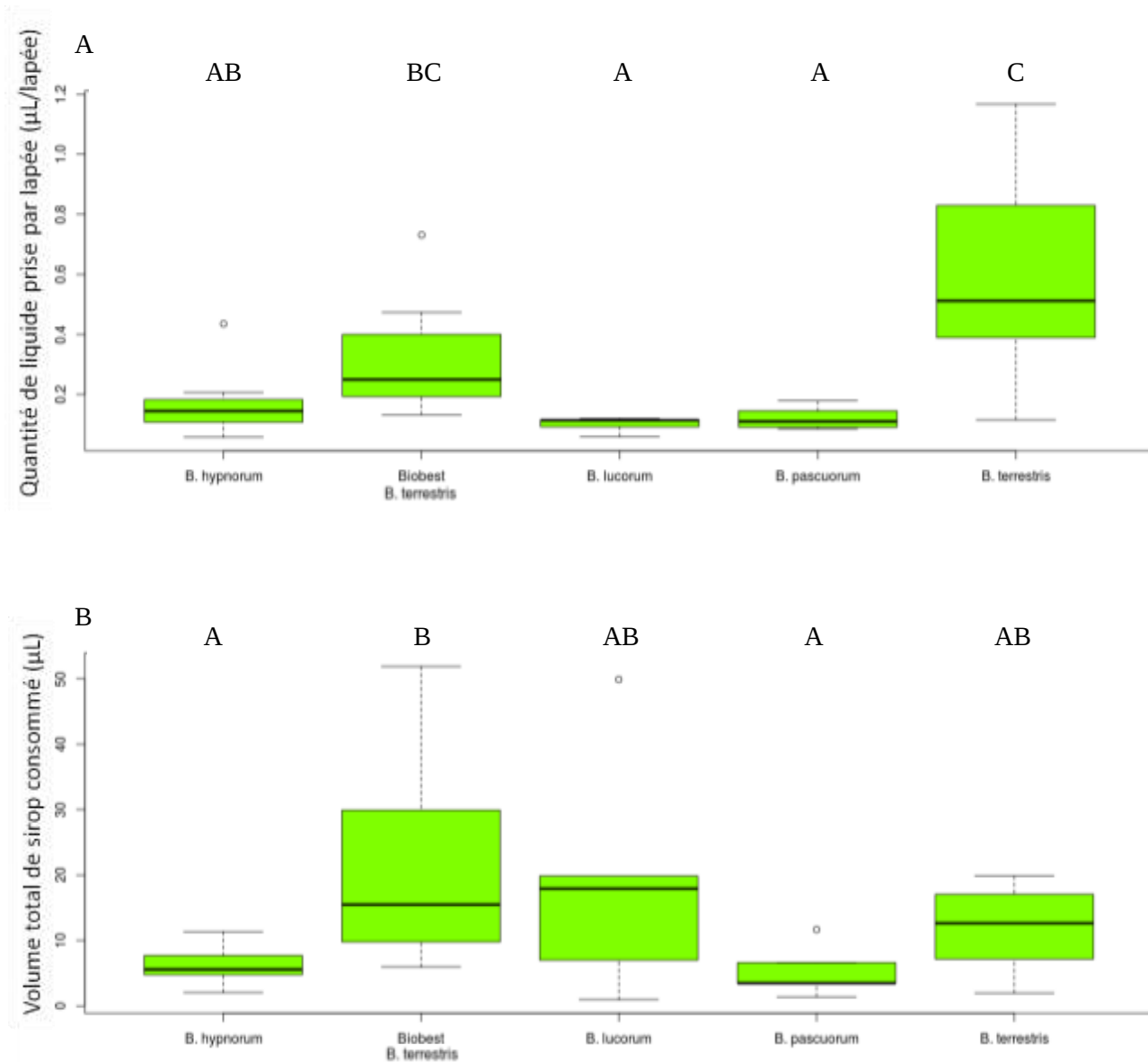


Figure 17 : A. Comparaison des moyennes des valeurs de la quantité prise de sirop par lapée pour une solution d'une concentration en miel de 90.2% chez *Bombus hypnorum* (n=8), *B. lucorum* (n=8), *B. pascuorum* (n=8) et les deux souches de *B. terrestris* (n=10) **B.** Comparaison des moyennes des valeurs de la quantité totale de sirop consommée pour une solution d'une concentration en miel de 90.2% chez *Bombus hypnorum* (n=8), *B. lucorum* (n=8), *B. pascuorum* (n=8) et les deux souches de *B. terrestris* (n=10)

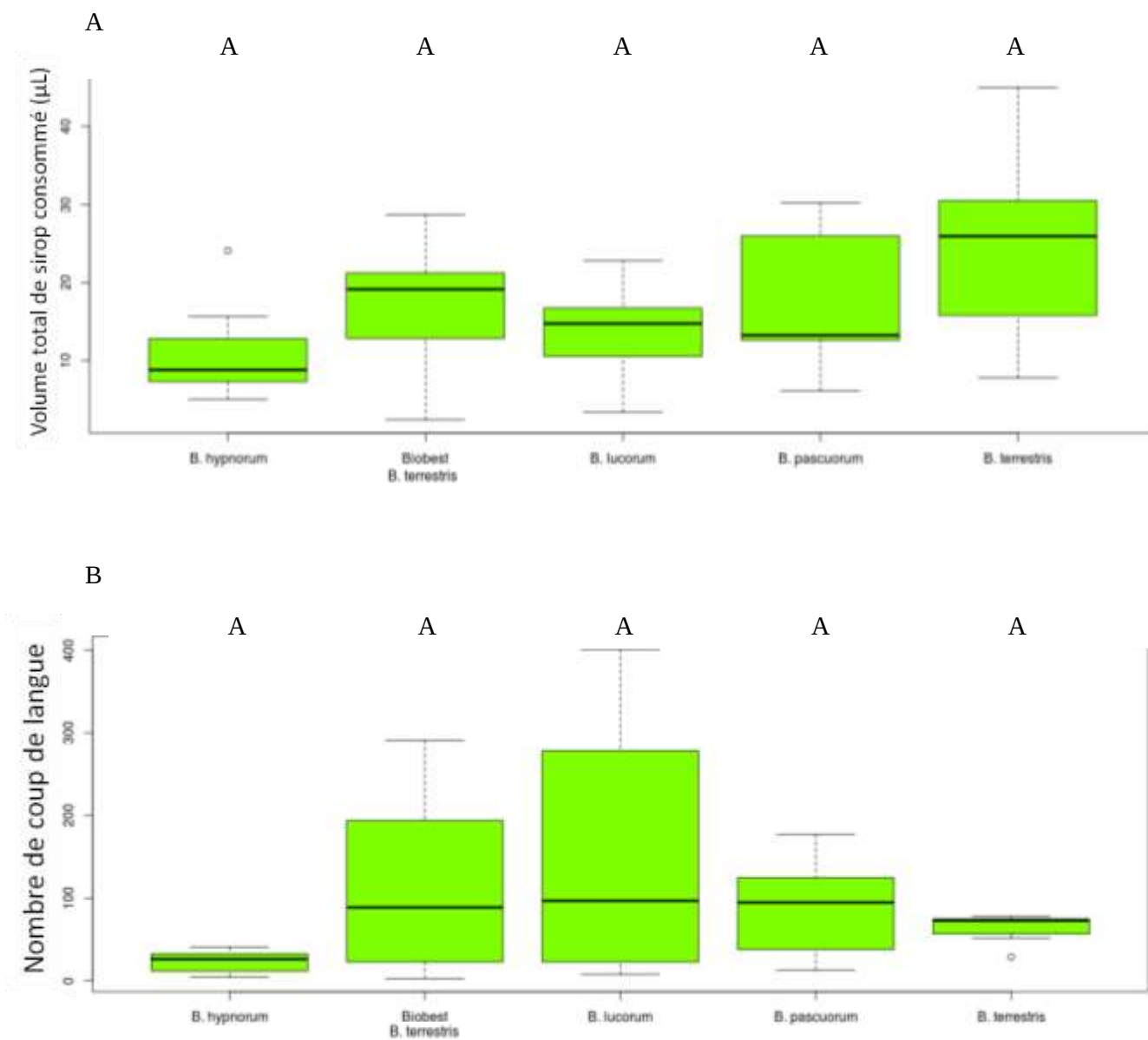


Figure 18 : A. Comparaison des moyennes des valeurs de la quantité totale de sirop consommée pour une solution d'une concentration en miel de 65% chez *Bombus hypnorum* (n=8), *B. lucorum* (n=8), *B. pascuorum* (n=8) et les deux souches de *B. terrestris* (n=10) **B.** Comparaison des moyennes des valeurs du nombre de lapée effectuée pour prendre une solution pour une solution d'une concentration en miel de 100% chez *Bombus hypnorum* (n=8), *B. lucorum* (n=8), *B. pascuorum* (n=8) et les deux souches de *B. terrestris* (n=10)

4.2. Analyses morphologiques

L'objectif de cette partie n'est pas de décrire entièrement le proboscis des 4 espèces de bourdon mais de réaliser une comparaison de différents caractères mesurables sur la glosse, les palpes labiaux ou les galea qui peuvent influencer la prise de nectar. Pour chacune des espèces étudiées et des souches étudiées, le nombre de proboscis était de trois.

4.2.1. Analyse du proboscis de *Bombus terrestris*

Sur une majeure partie de la glosse du bourdon terrestre (Figure 19), les soies sont séparées entre elles par une distance de 8 μm en moyenne pour une longueur qui varie de 129 à 144 μm (Figure 27 A). Du côté basal de la glosse, les soies semblent plus courtes et beaucoup plus rapprochées entre elles. C'est effectivement le cas car les mesures prises sur les soies décroissent de 102 μm à 42 μm en se rapprochant de la base de la glosse. De plus, la distance séparant deux soies n'est plus que de 5 μm (Figure 27 B).

Dans la partie terminale de la glosse, les soies changent d'aspect, deviennent aplaties et les dernières placées à proximité immédiate du flabellum sont très courtes et perpendiculaires à la glosse (Figure 28 A et B). A cause de leur aspect et de leur nombre, il est impossible de prendre des mesures sur une langue non-protractée.

Les palpes labiaux sont constitués de 5 articles. Les articles 2 et 3 peuvent être divisés en 2 parties. La première de ces parties est lisse l'autre est quant à elle striée. Cette partie est celle qui rentre en contact avec le nectar et la glosse lors de la prise de nectar. Chez les individus testés, cette partie des palpes présente 8 à 9 crêtes parallèles pour une distance de 100 μm . Ces stries sont séparées les unes des autres par une distance allant de 8 à 10 μm (Figure 26 A).

La glosse des 3 ouvrières de *B. terrestris* provenant de la firme Biobest ont également été observées et aucunes différences significatives n'ont été observées par rapport aux valeurs mesurées sur les proboscis de 3 ouvrières

4.2.2. Analyses du proboscis de *Bombus lucorum*

Sur une majeure partie de la glosse du bourdon des forêts (Figure 19), les soies sont séparées entre elles par une distance de 11 μm chez un individu et 9 μm chez l'autre. Cependant, les soies de l'individu 1 étaient semi-érigées pouvant fausser les résultats. A cause de cette érection, la longueur des soies n'a pas pu être prise.

Du côté basal de la glosse, les soies sont également plus courtes et plus rapprochées entre elles. La distance séparant deux soies n'est plus que de 7 ou de 8 μm en fonction de l'individu testé. Les mesures prises sur les soies décroissent d'une centaine de μm à 39 μm en se rapprochant de la base de la glosse.

Dans la partie terminale de la glosse, les soies changent d'aspect, deviennent aplaties et les dernières placées à proximité immédiate du flabellum sont très courtes et perpendiculaires à la glosse (Figure 28 C et D). Comme une partie des soies sont érigées, il est possible de prendre des mesures dans la partie terminale de la glosse. Les soies mesurent entre 137 et 154 μm pour un espacement moyen de 11 μm .

Chez les individus testés, les palpes labiaux présentent 8 à 10 crêtes parallèles pour une distance de 100 μm . Ces stries sont séparées les unes des autres par une distance allant de 9 à 11 μm (Figure 26 B).

La cuticule de glosse est faite d'une couche mince de chitine (Figure 21A). Elle forme une série d'ondulations qui sont les anneaux de soies. Les soies dont la longueur ne peut être mesurée ici sont séparées entre elles d'une distance de 11 μm comme observé sur les clichés de microscopie électronique (Figure 21 C). Par contre, le diamètre de la glosse peut être mesuré et il fait 144 μm chez l'un des individus testés.

4.2.3. Analyse du proboscis de *Bombus hypnorum*

Les soies de la glosse du bourdon des arbres sont assez fines (Figure 20). Du côté basal de la glosse, les soies sont plus courtes comme chez les autres espèces et plus rapprochées entre elles. La distance séparant deux soies est de 11 μm . Les mesures prises sur les soies montre une décroissance allant d'environ 170 μm à 130 μm en se rapprochant un maximum de la base de la glosse.

Dans la partie terminale de la glosse, les soies changent d'aspect, deviennent aplaties et les dernières placées à proximité immédiate du flabellum sont très courtes et perpendiculaires à la glosse (Figure 28 E et F). A cause de leur aspect et de leur nombre, il est impossible de prendre des mesures sur une langue non-protractée.

La microscopie optique montre que la gaine de glossa tout comme les palpes labiaux est faite d'une couche de chitine. La longueur des soies ne peut être mesurée ici mais elles semblent assez fines, comme observé sur les clichés de microscopie électronique (Figure 25 B).

Les palpes labiaux présentent chez les individus testés 5 à 7 crêtes parallèles sur une distance de 100 μm . Ces stries sont séparées les unes des autres par une distance de 14 μm en moyenne (Figure 26 C).

4.2.4. Analyse du proboscis de *Bombus pascuorum*

Sur une majeure partie de la glosse du bourdon des champs (Figure 20), les soies sont séparées entre elles par une distance de 10 μm en moyenne pour une longueur qui varie de 156 à 176 μm . Du côté basal de la glosse, les soies semblent plus courtes et beaucoup plus rapprochées entre elles. C'est effectivement le cas car les mesures prises sur les soies décroissent de 99 μm à 30 μm en se rapprochant de la base de la glosse. De plus, la distance séparant deux soies n'est plus que de 4 à 5 μm .

Dans la partie terminale de la glosse, les soies changent d'aspect, deviennent aplaties et les dernières placées à proximité immédiate du flabellum sont très courtes et perpendiculaires à la glosse (Figure 29). A cause de leur aspect et de leur nombre, il est impossible de prendre des mesures sur une langue non-protractée. Cependant, l'extrémité de la glosse est dépourvue de soies (Figure 29).

Les palpes labiaux sont constitués de 5 articles et chez les individus testés, les palpes présentent souvent 6 crêtes parallèles sur une distance de 100 μm sur leur face en contact avec la glosse. Ces stries sont séparées les unes des autres par une distance variant de 7 à 11 μm (Figure 26 D).

Les clichés de microscopie optique indiquent que la gaine de la glosse est faite d'une couche de chitine tout comme les palpes labiaux. La longueur des soies ne peut pas être mesurée sur ces clichés mais elles semblent assez fines (Figure 24 C). Le palpe présente une série de crêtes sur sa face intérieure dont la distance entre elles varie de 8 μm à 20 μm (Figure 25 A).

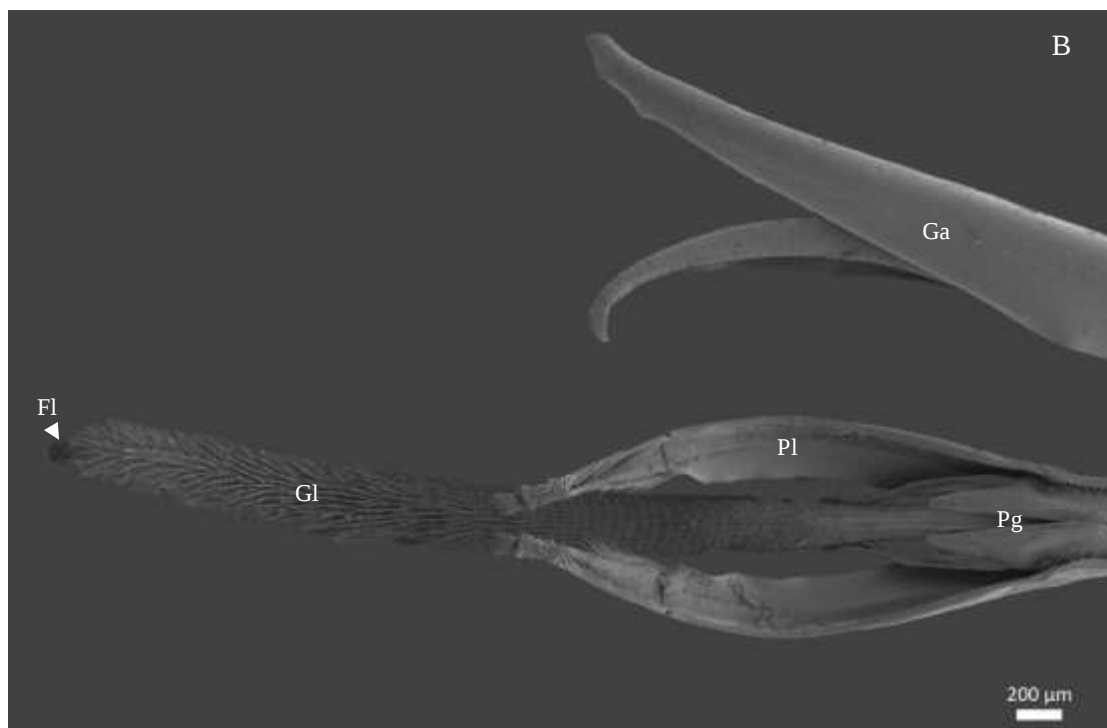


Figure 19 : **A.** Proboscis de *Bombus terrestris* qui est composé d'une paire de palpes labiaux (Pl), d'une glosse (Gl) recouverte de soies et d'un flabellum (Fl) et d'une paire de paraglosse (Pg) **B.** Proboscis de *Bombus lucorum* qui est composé d'une paire de palpes labiaux (Pl) d'une paire de galea (Ga), d'une glosse (Gl) recouverte de soies et d'un flabellum (Fl) et d'une paire de paraglosse (Pg) Légende : Fl = flabellum ; Ga = galea ; Gl = glosse ; Pl = palpe labial ; Pg = paraglosse (Images : Depris J)

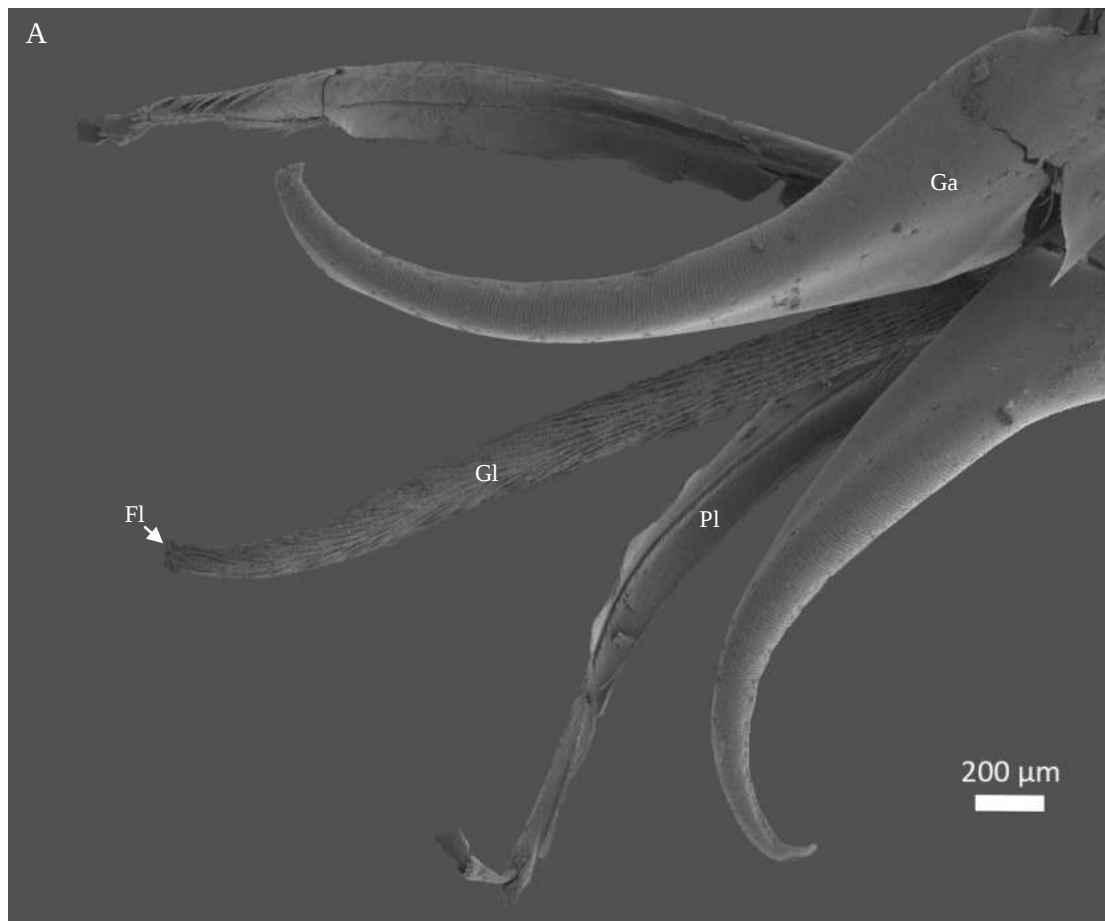


Figure 20 : **A.** Proboscis de *Bombus hypnorum* qui est composé d'une paire de palpes labiaux (Pl) d'une paire de galea (Ga), d'une glosse (Gl) recouverte de soies et d'un flabellum (Fl) et d'une paire de paraglosse (Pg) **B.** Proboscis de *Bombus pascuorum* qui est composé d'une paire de palpes labiaux (Pl), d'une glosse (Gl) recouverte de soies et d'un flabellum (Fl) et d'un prémentum. Légende : Fl = flabellum ; Ga = galea ; Gl = glosse ; Pl = palpe labial ; Pm = prémentum (Images : Depris J.)

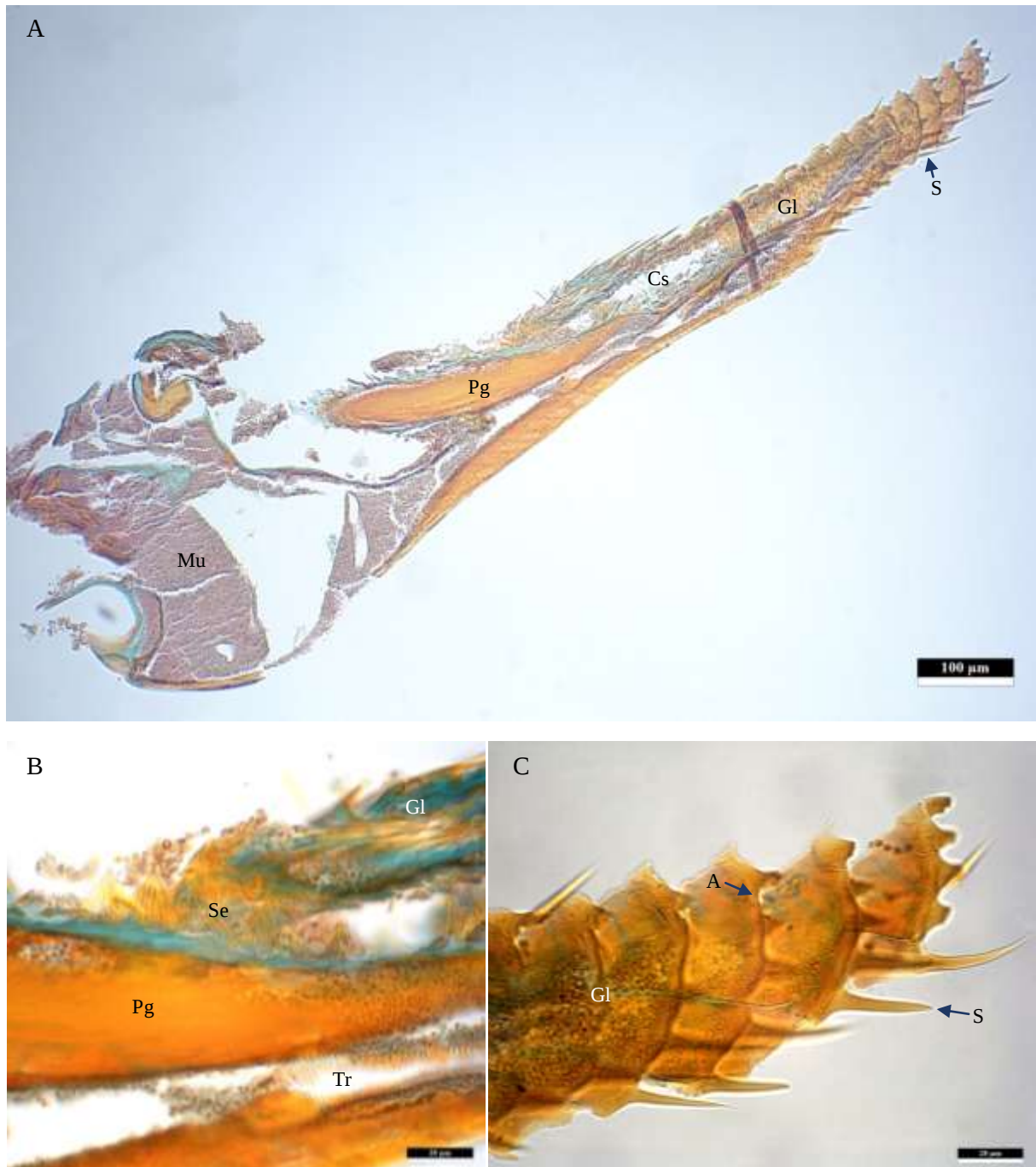


Figure 21 : A. Coupe Longitudinale dans une proboscis de *Bombus lucorum*. Les structures chitinisées (coloration orangée) correspondent à la glosse (Gl) qui porte des anneaux de soie (S) et à la paraglosse (Pg) qui portent des plaques de sensille **B.** Structure de la paraglosse (Pg) de *Bombus lucorum* montrant les sensilles (Se) de la plaque cuticulaire. Une trachée (Tr) est observable sous la paraglosse. Elle permet l'apport d'oxygène aux muscles de la glosse. **C.** Agrandissement de la glosse (Gl) montrant la cuticule qui forme à intervalle régulier des anneaux de soies (S) permettant la prise de nectar

Légende : A = anneau de soie ; Cs = cavité salivaire ; Gl = glosse ; Mu = muscles ; Pg = paraglosse ; S = soies ; Se = Sensille ; Tr = trachée

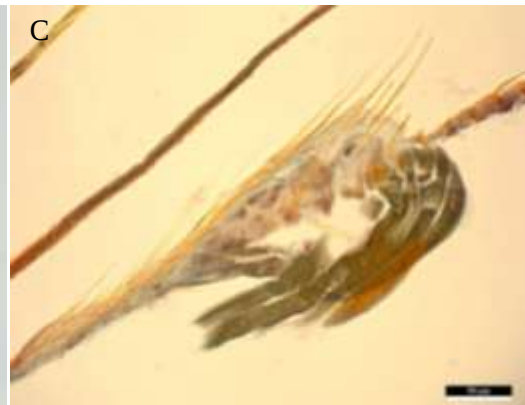
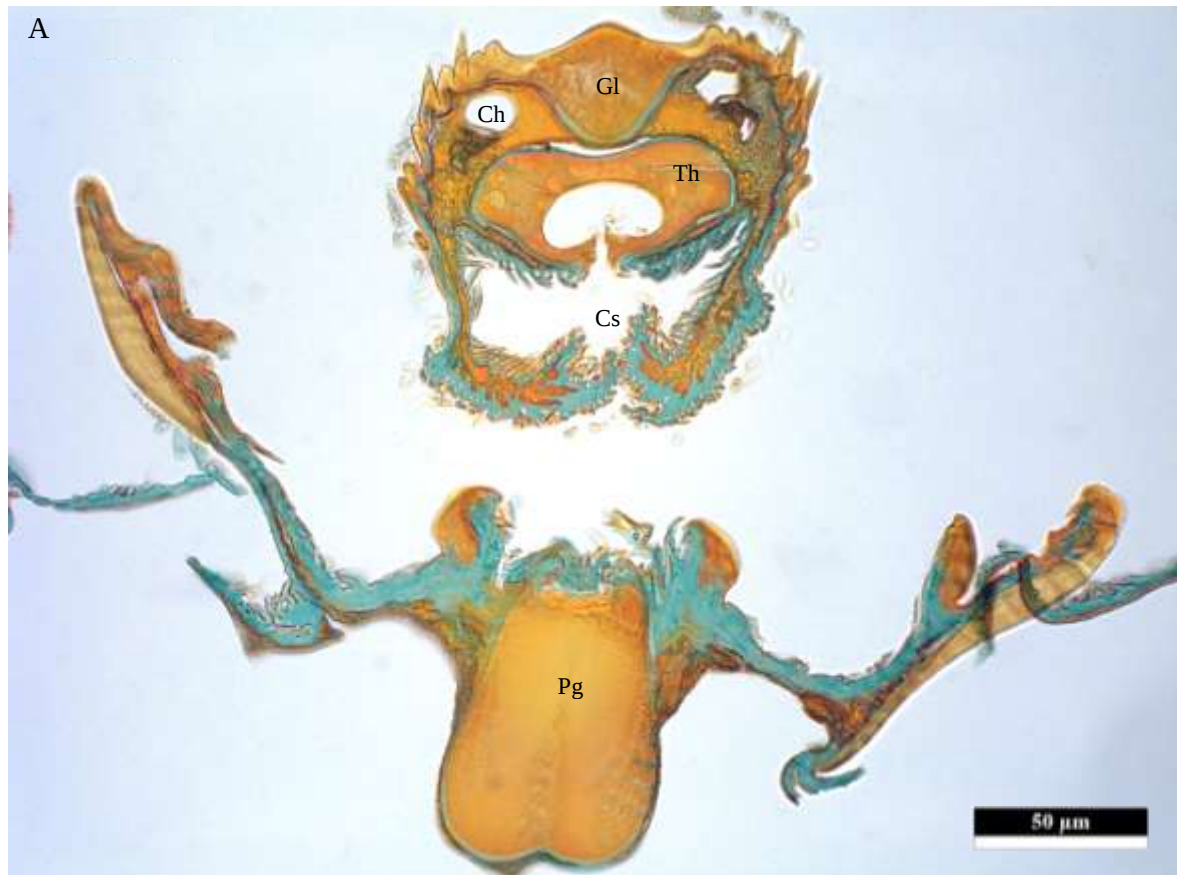


Figure 24 : **A.** Coupe transversal dans un proboscis de *Bombus lucorum*. La glosse est constituée d'une fine couche de chitine et d'une tige hyaline en son centre. Entre les deux se trouve des cavités à hémolymph permettant la protraction de la glosse. Le côté ventral de la tige hyaline est canalisé par une rainure. Sous cette tige hyaline, une grande cavité est également présente. Il s'agit du canal salivaire qui est bordé de soies plus fines que celles du côté extérieur de la glosse. Sous la glosse se trouve des portions des paraglosses car la coupe a été réalisée sur une partie très basale du proboscis **B.** Extrémité d'un palpe labial (Pl) de *Bombus pascuorum* qui présente des crêtes sur la face tournée vers la glosse. **C.** Agrandissement de la glosse (Gl) de *Bombus pascuorum* montrant les soies (S) permettant la prise de nectar

Légende : Ch = cavité à hémolymph ; Cs = cavité salivaire ; Gl = glosse ; Mu = muscles ; Pg = paraglosse ; Pl = palpe labial ; S = soies ; Th = tige hyaline

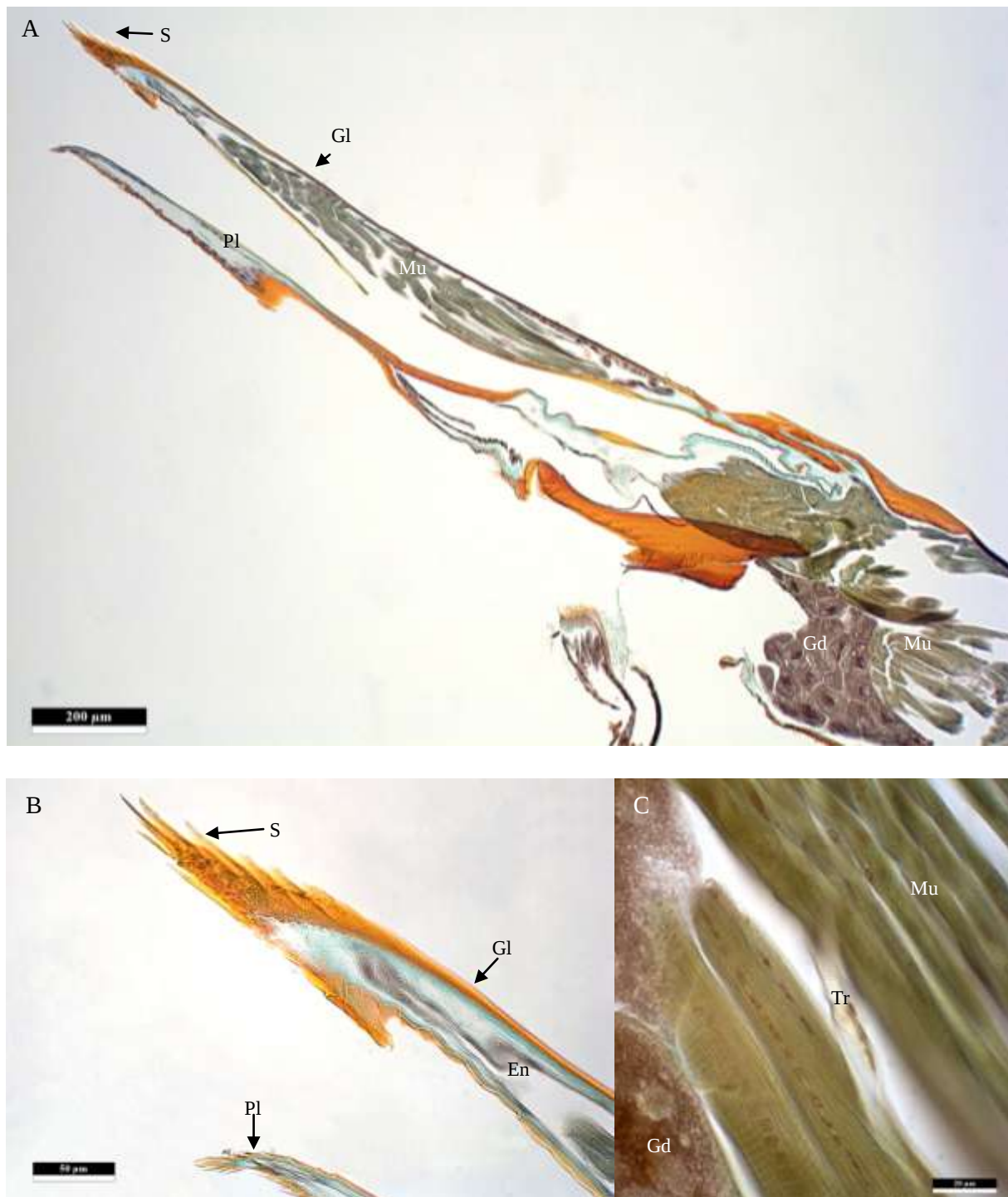


Figure 25 : A. Coupe Longitudinale dans une proboscis de *Bombus hypnorum*. Les structures chitinisées (coloration orangée) correspondent à la glosse (Gl) qui porte des soies (S) et à un palpe labial (Pl). Le palpe présente sur sa face extérieure des sensilles et une légère ondulation sur sa face intérieure. Les crêtes de ces ondulations sont peu saillantes. Intérieurement, le palpe ne renferme qu'un fin endothélium. La glosse possède contrairement aux palpes une forte musculature striée squelettique et des trachées pour y amener l'oxygène. Ces muscles sont des syncytiums dont les noyaux sont centraux. La base du proboscis est également fortement musculueuse et glanduleuse **B.** Détail de la glosse de *Bombus hypnorum* montrant les soies qui la composent et l'endothélium intérieur. En dessous, une partie d'un palpe labial avec d'un côté des sensilles et de l'autre une légère striation **C.** Muscles striés squelettiques de la base du proboscis avec une trachée pour leur oxygénation. A côté se situent des cellules glanduleuses.

Légende : En = endothélium ; Gl = glosse ; Gd = glande ; Mu = muscles ; Pl = palpe labial ; S = soies ; Tr = trachée

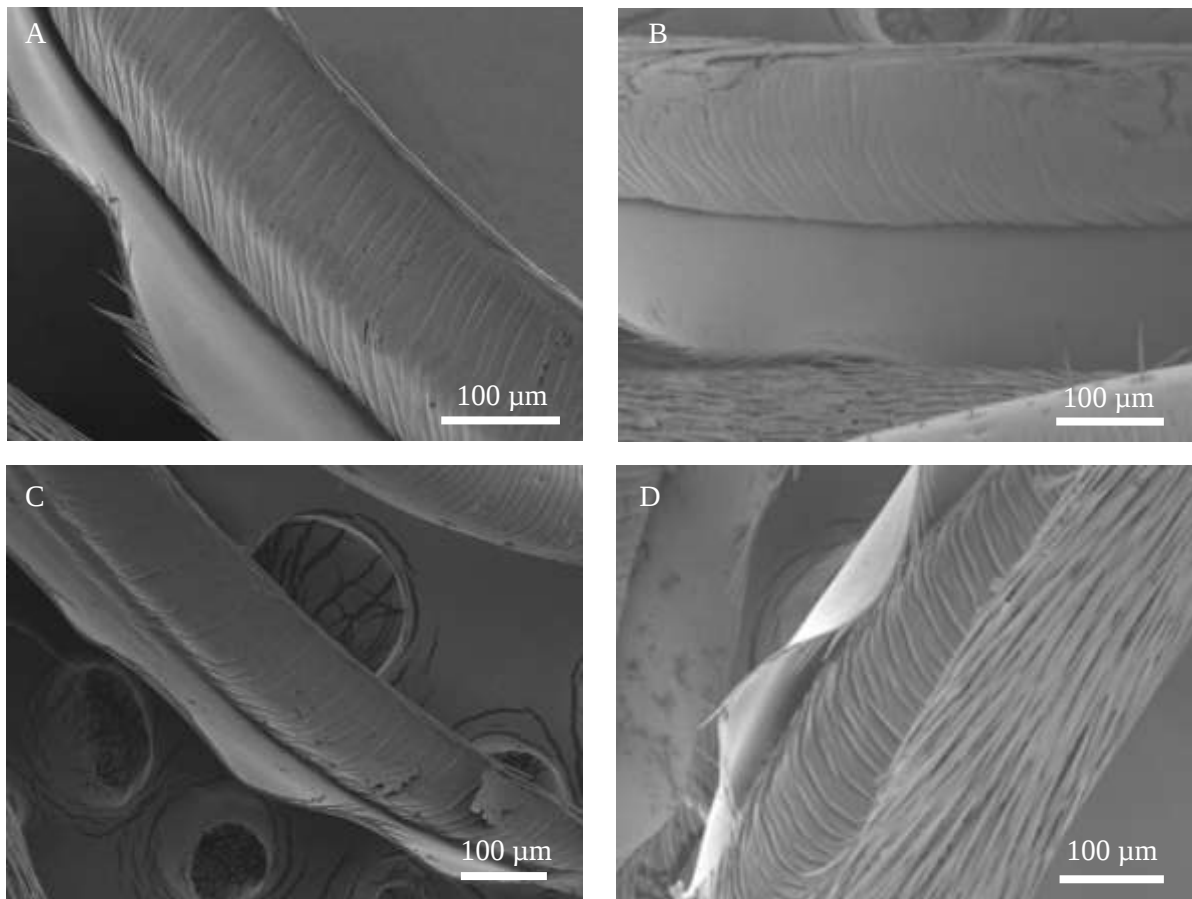


Figure 26 : Surface interne des palpes labiaux qui présentent des crêtes **A.** *Bombus terrestris* **B.** *Bombus lucorum* **C.** *Bombus hypnorum* **D.** *Bombus pascuorum*

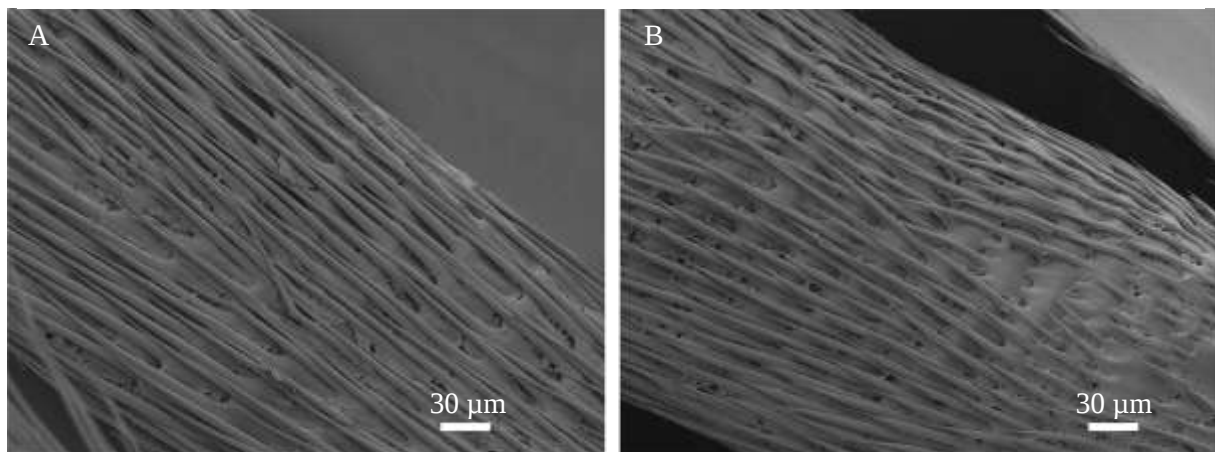


Figure 27 : **A.** Glosse de *Bombus terrestris* montrant à sa surface des anneaux de soies **B.** Base de la glosse de *Bombus terrestris* montrant à sa surface des anneaux de soies plus courtes qu'aux autres niveaux de la glosse. Ces soies sont également plus rapprochées entre elles.

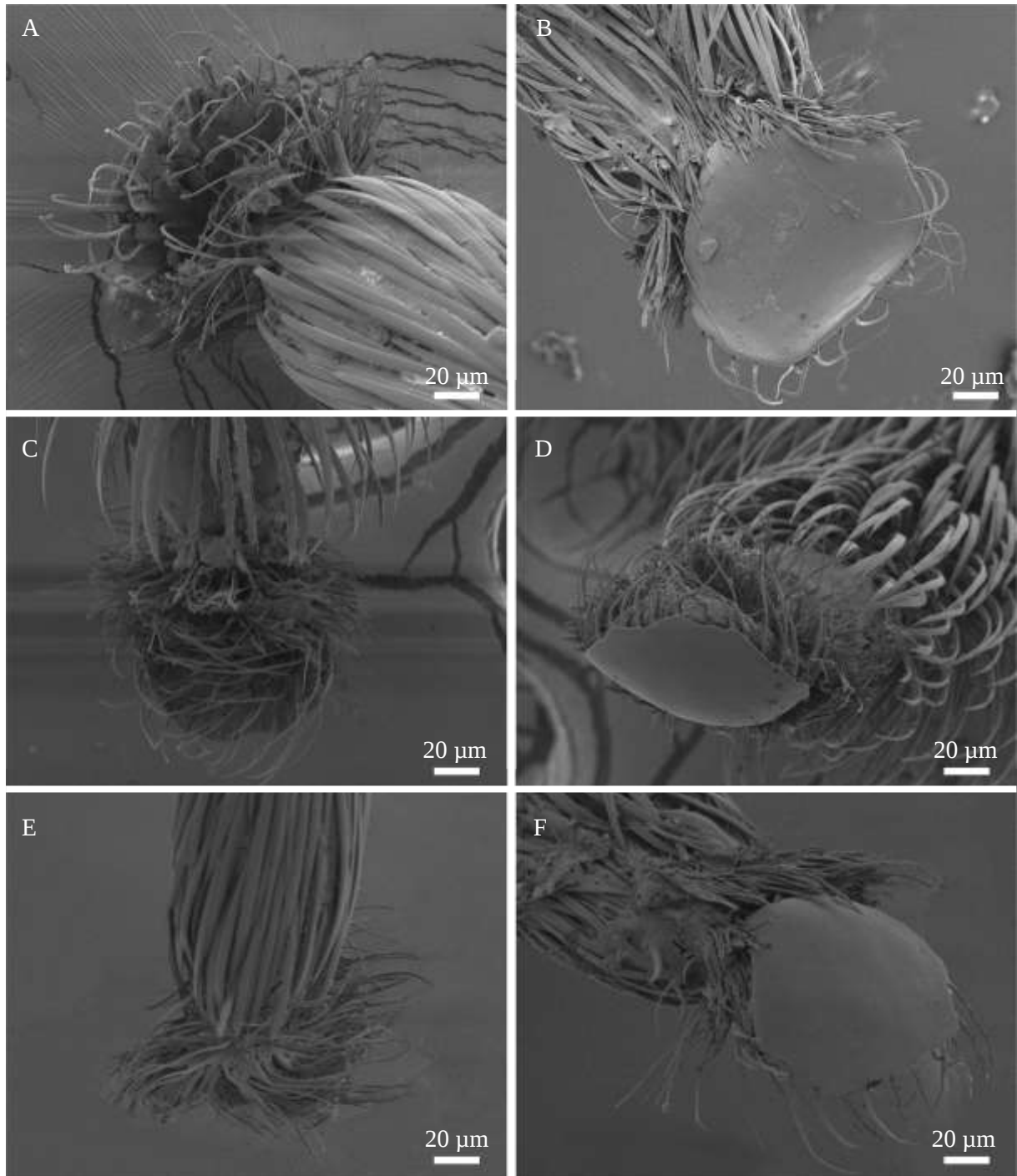


Figure 28 : **A.** Vue dorsale de l'extrémité de la glosse de *B. terrestris* avec son flabellum **B.** Vue ventrale de l'extrémité de la glosse de *B. terrestris* avec son flabellum **C.** Vue dorsale de l'extrémité de la glosse de *B. lucorum* avec son flabellum qui semble posséder plus de soi que celui du bourdon terrestre **D.** Vue ventrale de l'extrémité de la glosse de *B. lucorum* avec son flabellum **E.** Vue dorsale de l'extrémité de la glosse de *B. hypnorum* avec son flabellum **F.** Vue ventrale de l'extrémité de la glosse de *B. hypnorum* avec son flabellum

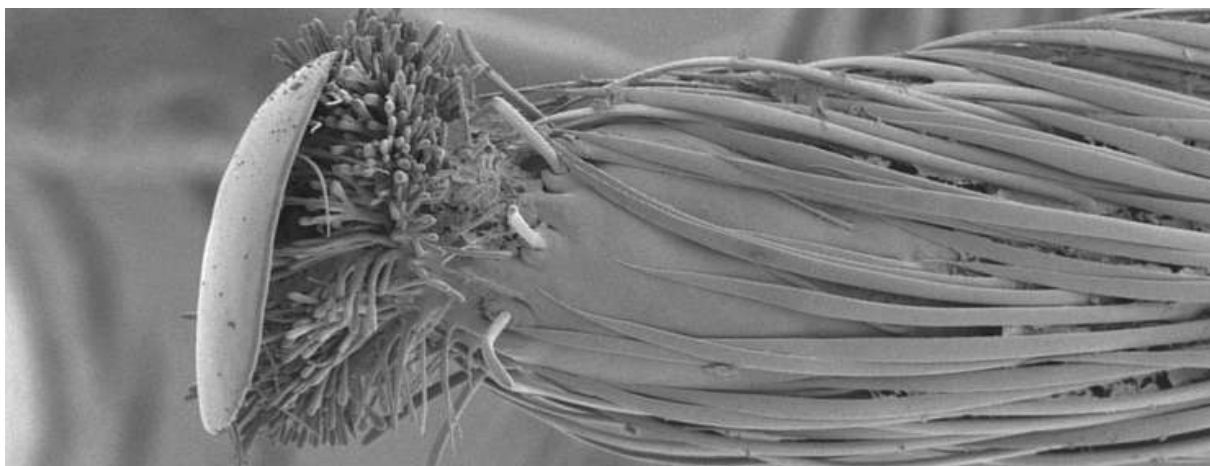


Figure 29 : Vue dorsale de l'extrémité de la glosse de *B. pascuorum* avec son flabellum qui possède des soies plus courtes que celles des autres espèces étudiées.

4.3. Relation entre morphologie et prise de nectar

Ci-dessous, le tableau 1 résume pour chacune des espèces de bourdon étudiées les mesures prises sur les différents caractères morphologiques cités dans ce chapitre 4.2. mais aussi la longueur moyenne du proboscis des ouvrières élevées et testées. A partir de ces mesures, des tests de corrélation vont être fait afin d'observer s'il existe une influence de ces caractères sur l'efficacité de la prise de nectar. Le tableau reprenant toutes les longueurs en mm des proboscis des individus testés se trouve en annexe (Annexe 6).

Tableau 1 : Récapitulatif des valeurs mesurées chez les différentes espèces. Les valeurs **en gras** sont des moyennes et toutes les valeurs sont faites sur un nombre d'individu n=3 à l'exception des moyennes des longueurs des proboscis où respectivement n=10, 10, 8 et 8

Espèce	<i>B. terrestris</i>	<i>B. lucorum</i>	<i>B. hypnorum</i>	<i>B.pascuorum</i>
Longueur du proboscis	8.87 mm ±0.7	8.08 mm ±0.7	8.01 mm ±0.7	9.2 mm ±0.7
Distance entre 2 soies (partie médiane)	8 µm ±0.6	10µm ±0.7	/	10 µm ±0.8
Distance entre 2 soies (côté basal)	5 µm ±0.3	8 µm ±0.5	11 µm ±0.9	5 µm ±0.3
Longueur d'une soie (partie médiane)	129 à 144 µm	137 à 154 µm	/	156 à 176 µm
Longueur d'une soie (côté basal)	102 à 42 µm	100 à 39 µm	130 à 170 µm	99 à 30 µm
Nombre de crêtes sur 100 µm	8 à 9	8 à 10	5 à 7	6
Distance entre 2 crêtes	8 à 10 µm	9 à 11 µm	14 µm	7 à 11 µm

Tableau 2 : Résultats des différents tests de corrélation réalisés entre les différents caractères mesurés et les quantités de sirop prélevées en une lapée

	Quantité de sirop concentré à 2% prise par lapée	Quantité de sirop concentré à 22,2% prise par lapée	Quantité de sirop concentré à 46,6% prise par lapée	Quantité de sirop concentré à 65% prise par lapée	Quantité de sirop concentré à 90,2% prise par lapée	Quantité de sirop concentré à 100% prise par lapée
Longueur du proboscis	Aucune corrélation	Aucune corrélation	Aucune corrélation	Aucune corrélation	Aucune corrélation	Aucune corrélation
Distance entre 2 soies (partie médiane)	Aucune corrélation	Aucune corrélation	Aucune corrélation	Aucune corrélation	Aucune corrélation	Aucune corrélation
Distance entre 2 soies (côté basal)	Aucune corrélation	Aucune corrélation	Aucune corrélation	Aucune corrélation	Aucune corrélation	Aucune corrélation
Longueur d'une soie (partie médiane)	Aucune corrélation	Aucune corrélation	Aucune corrélation	Aucune corrélation	Corrélation P= 0.004	Corrélation P=0.035
Longueur d'une soie (côté basal)	Aucune corrélation	Aucune corrélation	Aucune corrélation	Aucune corrélation	Aucune corrélation	Aucune corrélation
Nombre de crêtes sur 100 µm	Aucune corrélation	Aucune corrélation	Aucune corrélation	Aucune corrélation	Aucune corrélation	Aucune corrélation
Distance entre 2 crêtes	Aucune corrélation	Aucune corrélation	Aucune corrélation	Aucune corrélation	Aucune corrélation	Aucune corrélation

Le premier test de corrélation effectué montre qu'il n'existe pas de corrélation entre la longueur du proboscis et la quantité de sirop prise par lapée. Cela pour toutes les viscosités. Le graphique en nuage de points suivant le montre pour du sirop composé de miel pur. La quantité de liquide prise par lapée n'est pas influencée par la longueur de la glosse et du prementum (Figure 30).

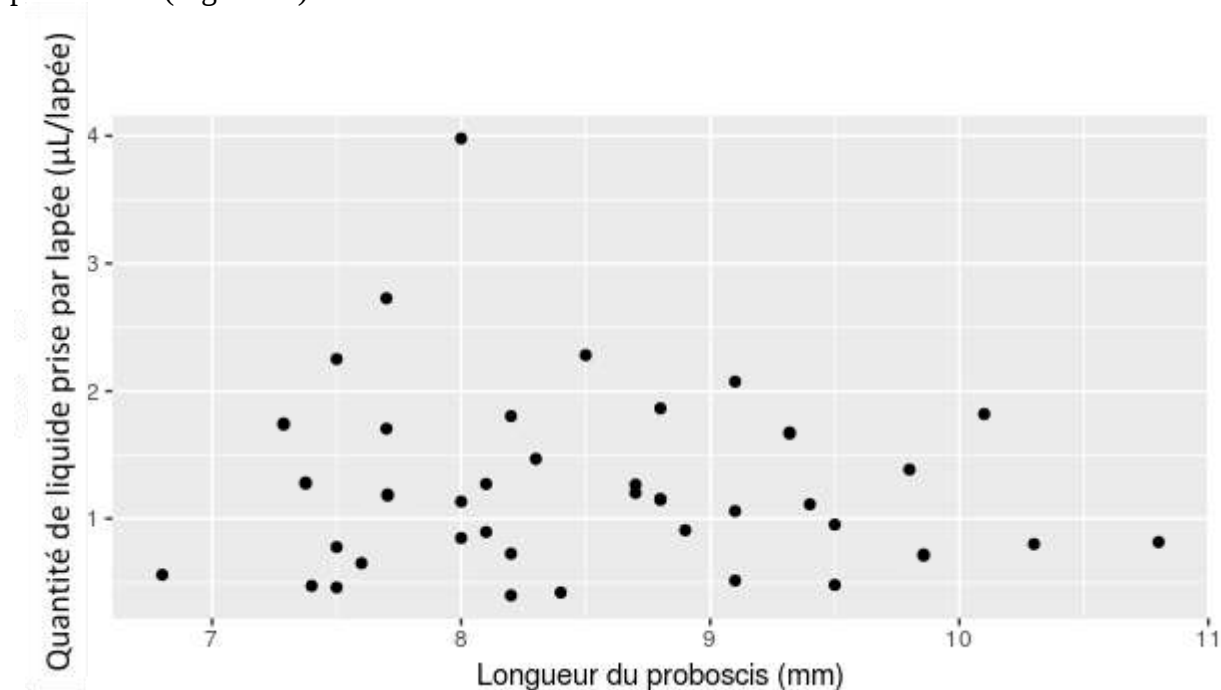


Figure 30 : Quantité de sirop prise par coup de langue (µL/lapée) en fonction de la longueur en mm du proboscis de *B. terrestris*, *B. lucorum*, *B. hypnorum* et *B. pascuorum* pour un sirop de miel pur.

Deux autres tests qui ne montrent aucune corrélation pour chacune des valeurs en sucre testées sont celui de la quantité prise de nectar (µL/lapée) qui pourrait être appelée efficacité de la glosse en fonction de la longueur en µm des soies de la base de la glosse ainsi que celui de l'efficacité de la prise de nectar (µL/lapée) en fonction de la distance (en µm) qui sépare 2 soies à la base de la glosse (Tableau 2).

En revanche, le test de Pearson réalisé afin d'observer s'il existait une corrélation entre la longueur des soies de la glosse (mesures prises au niveau de sa mi-longueur) et l'efficacité de la prise de nectar montre qu'il y a une corrélation négative entre ces 2 paramètres. En effet, les résultats du test donnent une valeur de p de 0.035, un coefficient de corrélation de -0.54 et cette corrélation est visible sur un graphique en nuage de points (Figure 31).

Cependant, les valeurs des résultats donnés par le test de Pearson pour cette même corrélation diminuent en même temps que la concentration en miel dans le sirop diminue. En effet, la corrélation négative est maximale pour la solution de miel pur, la solution la plus visqueuse, mais elle disparaît dès la concentration en miel de 65% (Tableau 2).

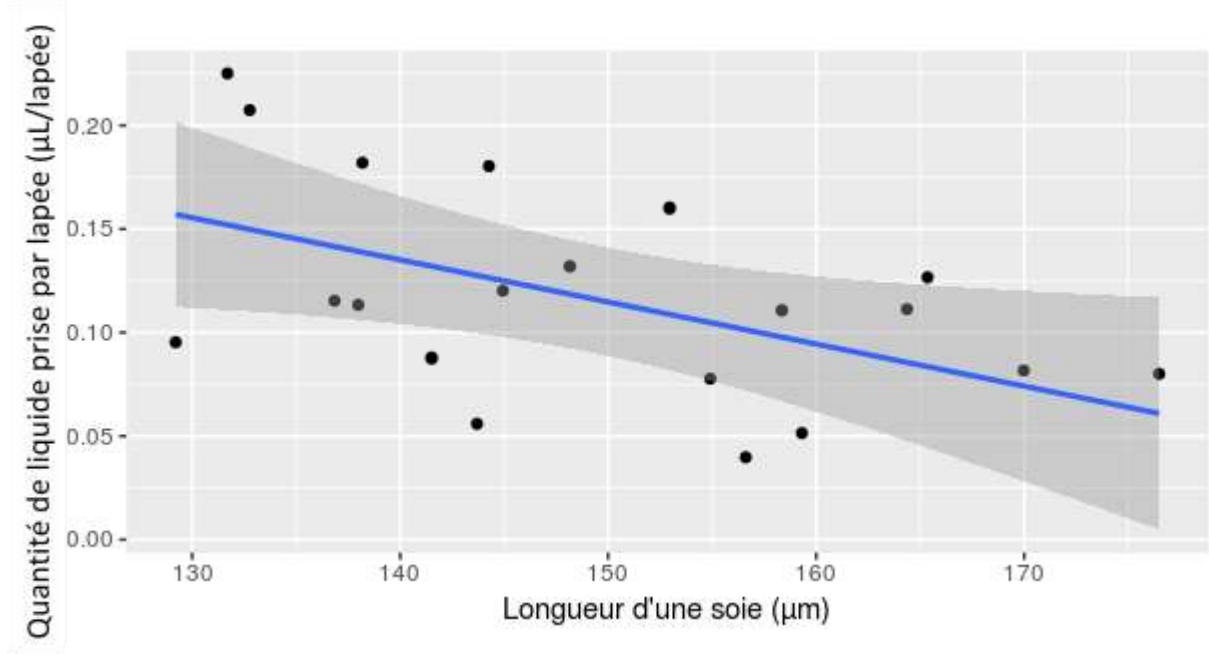


Figure 31 : Volume de sirop pris en une lapée ($\mu\text{L}/\text{lapée}$) en fonction de la longueur en μm des soies de la glosse de *B. terrestris*, *B. lucorum* et *B. pascuorum* pour un sirop de miel pur.

Le dernier test de Pearson réalisé qui permet d'observer s'il existait une corrélation entre la distance qui sépare 2 soies de la glosse (mesures prises au niveau de sa mi-longueur) et l'efficacité de la prise de nectar montre qu'il n'y a aucune corrélation négative entre ces 2 paramètres.

5. Discussion

5.1. Prise de nectar

Ce travail a montré que les ressources en nectar prises par les bourdons étaient variables d'une espèce à une autre et fonction de la viscosité du nectar.

En effet, les concentrations en sucre du sirop qui permettent les prises de solution les plus efficaces chez *B. terrestris* et de *B. lucorum* sont des dilutions de miel qui possèdent une viscosité de 0.04 Pa.s et de 0.2 Pa.s. Il a été calculé que ces 2 sirops testés détiennent des concentrations en sucre de 39 et 54% (Figure 11 A et 12 A). Ces valeurs semblent donc être les optima pour une bonne efficacité de prise de nectar chez ces 2 espèces de bourdon.

En plus de posséder une viscosité qui semble optimum, ces solutions sont celles qui présentent des quantités élevées de sirop total consommé. Par conséquent, leurs concentration en carbohydrate doivent être les valeurs recherchées pour *B. terrestris* et de *B. lucorum*. Si les nectars de *Trifolium repens*, *Impatiens glandulifera* et *Rubus sp.* qui font partie des principaux choix floraux de *B. terrestris s.l.* (Kleijn & Raemakers 2008 ; Rasmont 1988) sont comparés avec ces valeurs de 46.6 et 65% mises en avant par les expériences de prise de nectar, leurs concentrations en sucre sont identiques. La balsamine de l'Himalaya possède en moyenne 49% de sucre dans son nectar et *Rubus fruticosus* et *R. idaeus* ont une concentration en sucre dans le nectar qui varie respectivement de 38.1 à 46.6% et de 38 à 59% (Simidchiev 1976 ; Vervoort *et al* 2011). Pour *Trifolium repens*, la concentration en sucre dans le nectar est légèrement plus élevée et elle varie de 59.3 à 64.6%.

Pour *B. hypnorum*, la concentration qui semble être son principal choix est l'une des concentrations les plus faibles testée car c'est à une concentration en solution de 22.2% de miel qu'il y a la plus grande consommation totale. Cette concentration de 22.2 % de miel en solution qui représente une concentration en sucre de 19% permet la prise de solution la plus efficace (Figure 12 B). Ensuite, si les concentrations en sucre de ces principaux choix floraux sont comparées aux solutions de miel qui ont été mises en évidence dans ce travail (Kleijn & Raemakers 2008 ; Rasmont 1988), leurs concentrations en sucre se rejoignent. En effet, *Pyrus communis* (Rosaceae) sécrète un nectar avec une teneur en sucre de 12.8% en moyenne avec des pics pouvant atteindre 25.5% (Konarska 2005). *Malus domestica* (Rosaceae) sécrète un nectar avec une teneur en sucre de 32% en moyenne mais cette teneur peut descendre à 20%

en fonction de la période de floraison de l'arbre (Weryszko-Chmielewska & Dmitruk 2009). Et finalement, plusieurs espèces du genre *Ribes* (Grossulariaceae) secrètent un nectar avec en moyenne 29.5 et 26.7% de carbohydrate (Dalton & Hummer 2007).

Cependant, certaines de ces plantes ne se retrouvent plus dans les principaux choix floraux de *B. hypnorum* car l'abondance de ces espèces a diminué récemment (Kleijn & Raemakers 2008). Ils ont donc été remplacés par d'autres espèces comme la ronce ou le framboisier. Ces espèces possèdent un nectar qui varie respectivement de 38 à 59% et de 38.1 à 46.6% (Simidchiev 1976) mais cela ne correspond pas à la concentration en sucre qui a été mise en évidence dans ce travail. Ce changement de choix pourrait donc se suivre par une sélection naturelle. D'ici quelques dizaines d'années, des modifications morphologiques de la glosse nécessaire à une prise plus efficace de nectar plus visqueux pourraient être observées (Miller-Struttmann 2015). D'autre part, cette espèce de bourdon visite peut-être ces plantes non pas pour y prélever le nectar mais pour y chercher du pollen qui permet un meilleur développement du couvain (Roger *et al* 2017).

Les concentrations en sucre du sirop qui permettent les prises de solution les plus efficaces chez *B. pascuorum* sont les 3 concentrations en miel les plus élevées. L'optimum de prise de nectar par coup de langue se trouve donc dans le sirop de 65%, 90.2% et 100%. Cela le différencie des optima de *B. terrestris s.l.* même si la valeur à la moyenne la plus haute chez ces espèces est souvent la concentration en miel à 65%. Ces valeurs semblent donc être les optima pour une bonne efficacité de prise de nectar mais si les concentrations en sucre des principaux choix floraux de *B. pascuorum* sont comparées à celles qui ont été mises en évidence dans ce travail (Kleijn & Raemakers 2008 ; Rasmont 1988), il apparaît des discordances. En effet, les choix floraux du bourdon des champs sont principalement *Trifolium*, *Vicia*, *Rubus* et *Symphytum* qui possèdent des nectars aux concentrations bien différentes. *Trifolium pratense* et *T. repens*, les deux premiers choix floraux de cette espèce, secrètent un nectar avec en moyenne 68 et 70% de sucre (Jakobsen 1994 ; Shuel 1952). Cela confirme donc les préférences de *B. pascuorum* envers les hautes valeurs en sucre trouvées dans ce mémoire. Ensuite, les autres choix floraux montrent des valeurs en sucre dans leur nectar qui varient de 56% pour *Vicia sepium* à 30% pour *Vicia villosa*, 46.6% pour *Rubus idaeus* et 28.6% pour la consoude (Simidchiev 1976 ; Stpiczynska 1999 ; Stpiczynska 2002).

Une hypothèse qui pourrait expliquer ces choix floraux qui ne concordent pas avec nos résultats serait que *B. pascuorum* visite ces fleurs non pas pour le nectar mais pour une autre

ressource florale qui est le pollen. En effet, le pollen du framboisier est connu pour être riche en nutriments qui permettent le développement de larve plus grande avec une plus haute immunocompétence (Roger *et al* 2017 ; Vogelweith *et al* 2013).

L'autre hypothèse vient du mode de nutrition de ce bourdon. Cette espèce de bourdon est dite « pocket-maker ». C'est-à-dire que les ouvrières de cette espèce ne font pas de réserve de pollen mais qu'elles le donnent directement aux larves (Alford 1975 ; Heinrich 1979). Les butineuses doivent dès lors récolter à la fois du nectar et du pollen en n'ayant aucune information sur l'état des besoins de la colonie alors que pour les « pollen-storers », ces informations sont disponibles en fonction des stocks et les butineuses adaptent leurs choix floraux en fonction des réserves de pollen et de nectar. Cela n'est pas le cas ici et les ouvrières ramènent des ressources le plus rapidement possible, sans perdre trop d'énergie. Elles doivent sans doute récolter les premières ressources qu'elles trouvent et cela influence alors leur choix (Alford 1975 ; Doye 1999).

A côté de cette mise en avant de la variabilité des ressources florales pour chacune des espèces étudiées, il a aussi été possible de montrer dans ce mémoire que la souche sauvage de *Bombus terrestris* est un bourdon plus compétitif que les autres espèces. C'est également le cas de la souche provenant de Biobest mais dans une moindre mesure. En effet, si on regarde les valeurs obtenues par les 4 espèces pour différents paramètres étudiés et ce, pour la même concentration, *B. terrestris* possède dans plusieurs cas une moyenne différente et plus élevée que chez les autres espèces. Et cela, indépendamment de la concentration. Son proboscis lui permet une prise de nectar plus efficace et c'est peut-être cela qui lui permet d'être très généraliste dans ces choix floraux (Kleijn & Raemakers 2008 ; Rasmont 1988). De plus, ces volumes de nectar pris par lapée lui permet sans doute d'être plus compétitif et

Quant à la souche de Biobest qui est actuellement en train d'envahir de nouvelles zones géographiques, elle possède des performances légèrement plus faibles que la souche sauvage. Cependant, les moyennes obtenues par cette souche de *Bombus* (*Bombus*) *terrestris* sont supérieures et différentes que celles obtenues par les autres sous espèces. Cela pourrait expliquer son caractère invasif dans des régions où il n'est pas présent naturellement (Carcamo 2017 ; Goulson 2010). Elle doit également tirer son avantage du fait que son proboscis capte la même quantité de nectar quelque soit la viscosité du nectar (Figure 12 B).

5.2. Analyse morphologique

Les résultats de cette analyse montrent que la longueur du proboscis n'a pas d'influence sur la valeur de nectar prélevée. En effet, la figure 30 montre avec l'aide d'un test de Pearson qu'il n'y a aucune corrélation entre les deux paramètres. De plus, la torsion de la glosse qui apparaît en même temps que l'augmentation de la viscosité réduisait encore plus la quantité prise de nectar par lapée. Dès lors, plus le proboscis est long, moins le nectar doit être visqueux (Nicolson 2007 ; Vaudo 2015).

Un moyen mis en place par l'abeille et observé durant ces expériences pour contrecarrer ce phénomène de torsion était d'étendre beaucoup moins le proboscis et de réaliser de plus petites lapées. La longueur du proboscis influence donc la prise de nectar en permettant d'atteindre le fond de la corolle de la fleur (Kleijn & Raemakers 2018 ; Ranta 1983) mais ce caractère ne permet pas d'en prélever d'avantage.

Avec les tests réalisés sur les différentes mesures de la base de la langue, il peut être dit que la base du proboscis n'a pas d'influence sur la prise de liquide. Cependant, il semblerait que les soies de la base du proboscis s'érigerait aussi pendant la prise de nourriture chez *Apis mellifera* (Wu 2015). Ce fait ne se trouve peut être pas chez les bourdons.

La prise de liquide est par contre influencée par la longueur des soies. En effet, il a été montré par un test de corrélation que plus les soies sont de grande taille chez une espèce, moins la prise de nectar est efficace. Cela pourrait s'expliquer par le fait que l'extrémité des soies ne s'érige pas de manière correcte et empêche le nectar de s'infiltrer entre les soies. Cependant, cette corrélation négative n'est peut-être pas la bonne corrélation car les longueurs des soies de *B. hypnorum* n'ont pas pu être mesurées pour le test. La relation entre les deux paramètres pourrait être différente.

Ensuite, la corrélation qui relie la distance entre deux soies et l'efficacité de prise de sirop est quant à elle surprenant. En effet, aucune corrélation n'est obtenue alors que la logique voudrait que plus la distance entre 2 parois augmente, plus les liquides visqueux y passent facilement. De plus, Wu (2016) a étudié la prise de nectar chez *Apis mellifera* et il a déduit de ses travaux une formule qui permet de calculer la valeur théorique de nectar prise par une abeille. Dans cette formule, la distance entre 2 soies intervient (sous la forme de densité de soies) et montre que cette distance influence la prise de liquide. Or, ce n'est pas le

cas ici. Il est aussi intéressant de remarquer que les 2 espèces qui possèdent les distances les plus grandes entre 2 soies (i.e. *Bombus lucorum* et *Bombus pascuorum*) montrent des préférences pour des concentrations en sucre plus élevées dans le nectar, pour des sirops plus visqueux. Donc, le fait qu'ils possèdent des distances plus grandes et qu'ils montrent un choix plus évident vers des concentrations plus visqueuses devrait être corrélée.

5. Conclusion

Cette étude confirme l'existence d'une variabilité interspécifique de prise de nectar chez les bourdons.

Toutes les espèces testées montrent des efficacités différentes lors de la prise des sirops imitant le nectar à diverses concentrations en sucre. *Bombus (Pyrobombus) hypnorum* boit de plus grandes quantités de solutions moins riches en sucre et par conséquent moins visqueuses. D'ailleurs, son proboscis montre plus d'efficacité, c'est-à-dire qu'il charge plus de liquide par coup de langue, lors de la prise de sirop faiblement concentré en sucre.

Bombus (Bombus) terrestris et *B. (Bombus) lucorum* boivent préférentiellement des solutions avec des concentrations en miel variant de 46.6% à 90.2% car c'est à ces valeurs que de plus grandes quantités de sirop sont prélevées. C'est également à ces valeurs que leur proboscis capte le plus de sirop par lapée. Cependant, une petite différence existe entre ces deux espèces appartenant au même sous-genre de bourdon. Les valeurs optimales pour le bourdon terrestre sont à une concentration en miel en solution de 65% alors que celles du bourdon des bois sont à une concentration de 90.2%. Cette différence se remarque par des structures morphologiques légèrement différentes sur les palpes et la glosse.

B. (Thoracobombus) pascuorum prélève quant à lui préférentiellement des sirops avec des concentrations en sucres élevées (i.e. 65%, 90.2% et 100% de miel en solution) car c'est à ces valeurs que de plus grandes quantités de nectar artificiel sont prélevées et que le proboscis prend le plus de liquide sucré.

Les analyses morphologiques des pièces buccales mettent en avant que les espèces étudiées présentent des différences sur certains caractères comme le nombre de crêtes sur les palpes labiaux ou la longueur moyenne des soies. Certaines de ces variations morphologiques ont des influences sur la quantité de nectar prise par coup de langue avec par exemple des soies plus longues qui diminuent le volume de nectar pris en une lapée.

Ce mémoire de master montre aussi que *Bombus terrestris* est un bourdon plus compétitif que les autres espèces car il possède des moyennes différentes et plus élevées que les autres espèces de bourdon pour la quantité de nectar prise par lapée à de faibles ou de hautes concentrations.

Perspectives

Premièrement, il est nécessaire de réaliser les expériences filmées de prise de nectar sur un nombre plus important de colonies afin de confirmer si les variations observées quant à la prise de nectar sont bien des variations interspécifiques car à ce moment, il n'est pas exclu que la variabilité observée soit une variabilité intraspécifique.

Deuxièmement, il serait intéressant d'élargir l'étude de la variabilité de prise de nectar aux mâles des espèces étudiées pour observer des préférences qui pourraient différer des choix des ouvrières. En effet, les mâles n'ont pas les mêmes besoins que les femelles et il serait aussi intéressant de tester d'autres espèces des mêmes sous-genres testés pour voir si les préférences et les caractères morphologiques changent ou restent identiques pour une même sous-espèce.

Ensuite, des caractères morphologiques variables sur les proboscis des espèces de bourdons étudiées ont pu être observés mais sur un faible nombre d'individu. Il serait donc intéressant de réaliser des analyses microscopiques sur beaucoup plus d'ouvrières pour avoir des résultats beaucoup plus solides.

De plus, la méthode utilisée pour la microscopie optique doit être modifiée. Il serait bien de plonger les proboscis fraîchement disséqués dans un bain de KOH pour ramollir les tissus chitinisés et éviter des effritements des pièces buccales lors de la coupe des échantillons au microtome. Ce bain d'hydroxyde de potassium devrait aussi être utilisé pour nettoyer de leurs impuretés les proboscis des bourdons servant à la microscopie électronique.

Références :

- Bellmann, H. (1999). *Guide des abeilles, bourdons, guêpes et fourmis d'Europe. L'identification, le comportement, l'habitat*. Delachaux et Niestlé.
- Briant T.J. (1884) On the anatomy and functions of the tongue of the honey-bee (worker). *J. Linn. Soc. Lond., Zool.* 17, 408–417.
- Brodscheider R., Crailsheim K. (2010) Nutrition and health in honey bees. *Apidologie*, 41 : 278-294.
- Cardinal S., & Danforth BN. (2013) *Bees diversified in the age of eudicots* (Vol. 280). Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences.
- Chwil M. (2009) flowering biology and nectary structure of *Melissa officinalis* L. *Acta Agrobotanica*, 62(2) : 23-30.
- Cnaani, J., Thomson, J.D., Papaj, D.R. (2006) Flower choice and learning in foraging bumblebees: effects of variation in nectar volume and concentration. *Ethology* 112, 278–285
- Coppée, A. et al. (2008) Intraspecific variation of the cephalic labial gland secretions in *Bombus terrestris* (L.) (Hymenoptera: Apidae). *Chemistry & biodiversity*, 5 (12), 2654–2661.
- Corbet, S. A., Unwin, D. M., & Prys-Jones, O. E. (1979) Humidity, nectar and insect visits to flowers, with special reference to *Crataegus*, *Tilia* and *Echium*. *Ecological Entomology* 4, 9–22.
- Corbet, S.A. (2003) Nectar sugar content: estimating standing crop and secretion rate in the field. *Apidologie* 34, 1–10.
- Cruden, R.W., Hermann, S.M., Peterson, S. (1983) Patterns of nectar production and plant-pollinator coevolution. *The biology of nectaries*, Columbia University Press, 80–125.
- Cruden, R.N., Hermann, S.M. (1983) Studying nectar? Some observations on the art. *The biology of nectaries*, Columbia University Press, 223–242.
- Danforth B.N., Cardinal S., Praz C., Almeida E. A.B., & Michez D. (2013) The impact of Molecular Data on Our Understanding of Bee Phylogeny and Evolution. *Annu. Rev. Entomol*, 58 : 57-78.

- Danforth B.N., Sipes S., Fang J, Brady S.G. (2006) The history of early bee diversification based on five genes plus morphology. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*, 103 (41) : 15118-15123.
- Dalton, D.T., Hummer, K.E. (2010) Ribes Bloom Phenology: Section Botrycarpum and Ribes. *Journal of American Pomological Society*. 64(3):140-150.
- Génissel, A., Aupinel, P., Bressac, C., Tasei, J.-N., Chevrier, C. (2002). Influence of pollen origin on performance of *Bombus terrestris* micro-colonies. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 104:329–336.
- Gonzalez-Teuber, M., Heil, M. (2009) Nectar chemistry is tailored for both attraction of mutualists and protection from exploiters. *Plant Signal. Behav.* 4, 809–813.
- Goulet, H., Huber, J.T. (1993) *Hymenoptera of the World: An Identification Guide to Families*. Research Branch, Agriculture Canada, 680p.
- Goulson, D., Darvill, B. (2004) Niche overlap and diet breadth in bumblebees; are rare species more specialized in their choice of flowers? *Apidologie*, 35:55–63.
- Goulson, D., Hanley, M.E., Darvill, B., Ellis, J.S., Knight, M.E. (2005). Causes of rarity in bumblebees. *Biological conservation* 122 (1), 1-8.
- Goulson D. (2010) *Bumblebees behaviour, ecology, and conservation Second Edition*. Oxford University Press.
- Harder, L.D. (1986) Effects of nectar concentration and flower depth on flower handling efficiency of bumble bees. *Oecologia* 69, 309–315
- Harper, C.J., Swartz, S.M., Brainerd, E.L. (2013) Specialized bat tongue is a hemodynamic nectar mop. *Proc Natl Acad Sci* 110:8852–8857
- Heinrich, B. (1976) Resource partitioning among some eusocial insects: Bumblebees. *Ecology*, 57: 874-899.
- Heinrich, B. (1979) “Majoring” and “Minoring” by foraging bumblebees, *Bombus vagans* : an experimental analysis. *Ecology*, 60: 245-255.
- Heinrich, B. (2004) *Bumblebee Economics*. Harvard University Press.

- Inouye, D. (1978) Resource partitioning in bumblebees : experimental studies of foraging behavior. *Ecology*, 59(4):672-678.
- Jakobsen, H. B., Krittjánsson, K. (1994) Influence of Temperature and Floret Age on Nectar Secretion in *Trifolium repens* L. *Annals of Botany*, 74(4) : 327–334.
- Karolyi, F., Colville, J.F., Handschuh, S., Metscher, B.D., Krenn, H.W. (2014) One proboscis, two tasks: Adaptations to blood-feeding and nectar-extracting in long-proboscid horse flies (Tabanidae, Philoliche). *Arthropod Struct Dev*, 43:403–413.
- Kearns, C. A., Thompson, J. D. (2001) *The natural history of bumblebees, a sourcebook for investigations*, University Press of Colorado.
- Kim, W., Gilet, T., Bush, J.W.M. (2011) Optimal concentrations in nectar feeding. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108, 16618–16621.
- Kleijn, D. and Raemakers, I. (2008) A retrospective analysis of pollen host plant use by stable and declining bumble bee species. *Ecology*, 89, 1811–1823.
- Konarska, A. (2007) The comparison of nectaries structure of some varieties of ornamental apple. *Acta Agrobot.* 60 (1): 35-43.
- Krenn, H.W., Plant, J.D., Szucsich, N.U. (2005) Mouthparts of flower-visiting insects. *Arthropod Structure & Development*, 34, 1–40.
- Lake, J.C., Hughes, L. (1999). Nectar production and floral characteristics of *Tropaeolum majus* L. grown in ambient and elevated carbon dioxide. *Annals of Botany* 84: 535–541.
- Leppik, E.E. (1957). Evolutionary relationship between entomophilars plants and anthophilars insects. *Evolution*, 11 : 466-481.
- Lhomme, P., Sramkova, A., Kreuter, K., Lecocq, T., Rasmont, P., Ayasse, M. (2013). A method for year-round rearing of cuckoo bumblebees (Hymenoptera: Apoidea: Bombus subgenus Psithyrus). *Ann. Soc. Entomol. Fr.* 49 (1), 117-125.
- Löken, A. (1973). Studies on Scandinavian bumblebees (Hymenoptera, Apidae). *Norsk Ent. Tidsskr.*, 20 (1) : 1-218.
- Medler, J.T. (1962). Morphometric Studies on Bumble Bees. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 55, 212-218.

Michener, C.D. (2007). *The bees of the world*. Johns Hopkins University Press, Baltimore, 913pp.

Michez, D. (2007). La nouvelle classification des abeilles (Hymenoptera, Apoidea, Apiformes) ou la chute de l'abeille mellifère (*Apis mellifera* L.) de son piédestal. *OSMIA*, 1 : 23–26.

Michez D., Eardley C. (2007). Monographique revision of the bee genus *Melitta* Kirby 1802 (Hymenoptera: Apoidea: Melittidae). *Annales de la Société entomologique de France (n.s.)*, 43 (4) : 379-440.

Monaenkova, D., Lehnert, M.S., Andruk, T., Beard, C.E., Rubin, B., Tokarev, A., Lee, W.P., Adler, H., Kornev, K.G. (2012). Butterfly proboscis: combining a drinking straw with a nanosponge facilitated diversification of feeding habits. *J. R. Soc. Interface* 9, 720-726.

Nicolson, S.W. (2011). Bee food: the chemistry and nutritional value of nectar, pollen and mixtures of the two. *Afr. Zool.* 46, 197–204.

Ollerton, J., Winfree, R., Tarrant, S. (2011). How many flowering plants are pollinated by animals? *Oikos* 120, 321–326.

Percival, M.S. (1961). Types of nectar in Angiosperms. *New Phytol.* 60, 235–281.

Ponchau, O. *et al.* (2006). Is the caste-ratio of the oligolectic bumblebee *Bombus gerstaeckeri* Morawitz (Hymenoptera: Apidae) biased to queens? *Annales de la Société Entomologique de France*, 42 (2), 207–214.

Pouvreau A. (2004). *Les insectes pollinisateurs*. Delachaux et Niestlé.

Proctor, M., Yeo, P., Lack, A. (1996). *The natural history of pollination*, HarperCollins.

Prys-Jones, O. E., Corbet, S. A. (1991) *Bumblebees*. Cambridge University Press. 68pp.

Ranta, E. (1983) Foraging differences in bumblebees. *Ann. Ent. Fenn*, 49: 17-22.

Raguso, R.A. (2004). Flowers as sensory billboards: progress towards an integrated understanding of floral advertisement. *Curr. Opin. Plant Biol.* 7, 434–440.

- Rasmont, P. (1988). Monographie écologique et zoogéographique des Bourdons de France et de Belgique (Hymenoptera, Apidae, Bombinae). *Thèse de doctorat, Faculté des Sciences Agronomiques de l'Etat, Gembloux*, 309 + LXII pp.
- Rasmont, P., Coppée, A., Michez, D., De Meulemeester, T. (2008). An overview of the *Bombus terrestris* (L. 1758) subspecies (Hymenoptera: Apidae). *Annales de la Société Entomologique de France*, 44, 243-250.
- Rasmont, P., Scholl, A., De Jonghe, R., Obrecht, E., Adamski, A. (1986). Identité et variabilité des mâles de bourdons du genre *Bombus* Latreille sensu stricto en Europe Occidentale et Centrale (Hymenoptera, Apidae, Bombinae). *Revue suisse de Zoologie*, 93(3): 661-682.
- Rasmont, P., Terzo, M. (2010). Catalogue et clé des sous-genres et espèces du genre *Bombus* de Belgique et du nord de la France (Hymenoptera, Apoidea). Laboratoire de Zoologie, Université de Mons, 28 p.
- Rasmont, P. & Iserbyt, I. (2012). Atlas of the European Bees: genus *Bombus*. STEP Project. Atlas Hymenoptera. Mons.
- Roberson, C. (1925). Heterotrophic bees. *Ecology*, 6 : 412-436.
- Roger, N., Moerman, R., Carvalheiro, L. G., Aguirre-Gutiérrez, J., Jacquemart, A.-L., Kleijn, D., Michez, D. (2017). Impact of pollen resources drift on common bumblebees in NW Europe. *Global Change Biology*, 23(1), 68–76.
- Roseler, P.F. (1985). A technique for year-round rearing of *Bombus terrestris* (Apidae, Bombini). Colonies in captivity. *Apidologie* 16:165 – 170.
- Scheuchl, E., Willner, W. (2016). *Taschenlexikon der Wildbienen Mitteleuropas - Alle Arten im Porträt*. Quelle & Meyer Verlag, ISBN 978-3-49401-653-5: 920 Seiten
- Schlindwein, C., Wittmann, D., Martins, C.F., Hamm, A., Siqueira, J.A., Schiffler, D., Machado, I.C. (2005). Pollination of *Campanula rapunculus* L. (Campanulaceae): how much pollen flows into pollination and into reproduction of oligolectic pollinators? *Plant Syst. Evol.*, 250, 147–156.
- Simidchiev, T. (1976). Studies of nectar and honey production in raspberry (*Rubus idaeus* L.) and blackberry (*Rubus fruticosus* L.). *Gradinar. Lozar. Nauk.*, 13, 42-49.

- Somme, L. *et al.* (2015). Pollen and nectar quality drive the major and minor floral choices of bumble bees. *Apidologie*, 46(1), pp.92–106.
- Snodgrass R.E. (1984). *Anatomy of the Honey Bee*. Cornell University Press, London, UK.
- Stpiczyńska, M. (2003). Nectar secretion in the flowers of comfrey (*Symphytum officinale* L.) and nectar chemistry. *Acta Agrobot.*, 56: 37-36.
- Shuel, R.W. (1952). Some factors affecting nectar secretion in red clover. *Plant Physiology*, 27: 95-110.
- Tan, K., Latty, T., Hu, Z., Wang, Z., Yang, S., Chen, W., Oldroyd, B.P. (2014). Preferences and tradeoffs in nectar temperature and nectar concentration in the Asian hive bee *Apis cerana*. *Behav. Ecol. Socio biol.*, 68, 13–20.
- Telis, V.R.N., Telis-Romero, J, Mazzotti, H.B., Gabas, A.L. (2007). Viscosity of aqueous carbohydrate solutions at different temperatures and concentrations. *Int. J. Food Prop.* 10, 185–195.
- Teräs, I. (1976). Flower visits of bumblebees, *Bombus* Latr. (Hymenoptera, Apidae), during one summer. *Ann. Zool. Fennici*, 13: 200-232.
- Vanderplanck, M., Declèves, S., Roger, N., Decroo, C., Caulier, G., Glauser, G., Gerbaux, P., Lognay, G., Richelle, A., Escaravage, N., Michez, D. (2018) "Is non-host pollen suitable for generalist bumblebees?" *Insect Science*, 25 : 259–272.
- Vaudo, A., Stabler, D., Patch, H.M., Tooker, J., Grozinger, C.M. Wright, A. (2016a). Bumble bees regulate their intake of the essential protein and lipid pollen macronutrients. *The Journal of experimental biology*. 219. 10.1242
- Vaudo, A. D., Patch, H. M., Mortensen, D. A., Tooker, J. F. and Grozinger, C. M. (2016b). Macronutrient ratios in pollen shape bumble bee (*Bombus impatiens*) foraging strategies and floral preferences. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 113, E4035-E4042..
- Velthuis, H.H.W., Van Doorn, A. (2006). A century of advances in bumblebee domestication and the economic and environmental aspects of its commercialization for pollination. *Apidologie*, Springer Verlag, 37(4), pp.421–451.

- Vervoort, A., Cawoy, V., Jacquemart, A.L. (2011). Comparative reproductive biology in co-occurring invasive and native *Impatiens* species. *International Journal of Plant Sciences*, 172(3): 366-377.
- Williams, P.H., Cameron, S.A., Hines, H.M., Cederberg, B., Rasmont, P. (2008). A simplified subgeneric classification of the bumblebees (genus *Bombus*). *Apidologie*, 39: 46-74.
- Williams, P.H., Brown, M.J.F., Carolan, J.C., An, J., Goulson, D., Aytekin, A.M., Best, L.R., Byvaltsev, A.M., Cederberg, B., Dawson, R., Huang, J., Ito, M., Monfared, A., Raina, R.H., Schmid-Hempel, P., Sheffield, C.S., Šima, P. and Xie, Z. (2012). Unveiling cryptic species of the bumblebee subgenus *Bombus* s. str. worldwide with COI barcodes (Hymenoptera: Apidae). *Systematics and Biodiversity* 10: 21-56.
- Weryszko-Chmielewska, E., Dmitruk, M. (2009). Characteristics of blooming, floral nectaries and nectar of *Malus sargentii* Rehd. *Acta Agrobot.*, 62(1): 17-25.
- Wu, J., Zhu, R., Yan, S. and Yang, Y. (2015). Erection pattern and section-wise wettability of a honeybee's glossal hairs in nectar feeding. *The Journal of experimental biology* jeb-111013
- Yang, Y., Wu, J., Zhu, R., Li, C., Yan, S. (2017). The honeybee's protrusible glossa is a compliant mechanism. *Journal of Bionic Engineering*, 14 : 607–615.
- Zhao, J., Wu, J., Yan, S. (2015). Erection mechanism of glossal hairs during honeybee feeding. *J. Theor. Biol.* 386, 62-68.
- Zhu, R., Lv, H., Liu, T. (2016). Feeding Kinematics and Nectar Intake of the Honey Bee Tongue. *J Insect Behav*, 29: 325-339.

Annexes

Annexe 1 : Valeurs des ouvrières de *B. terrestris* issues d'une colonie fondée par une reine sauvage (n=10) mesurées sur les scans et les vidéos prise lors des expériences filmées de prise de nectar.

Concentration en miel dans le nectar	Quantité de sirop prise par lapée (µL/lapée)	Nombre de coup de langue	Quantité totale de sirop consommée (µL)
100	0,09532601	273	26,024
100	0,18196053	76	13,829
100	0,1202069	29	3,486
100	0,18032258	62	11,18
100	0,22507692	52	11,704
100	0,20736486	74	15,345
100	0,11532051	78	8,995
90,2	1,16805882	17	19,857
90,2	0,58331579	19	11,083
90,2	0,51177419	31	15,865
90,2	0	32	0
90,2	0	75	0
90,2	0,14192135	89	12,631
90,2	1,07211765	17	18,226
90,2	0,38912821	5	1,94564103
90,2	0,38912821	34	13,230359
65	0,5754717	53	30,5
65	0,9525	36	34,29
65	0,84459459	37	31,25
65	0,7	43	30,1
65	0,4053125	64	25,94
65	0,84457143	35	29,56
65	0,68136364	66	44,97
65	1,2140625	32	38,85
65	0	0	0
65	0	0	0
65	0,2349661	59	13,863
65	0,21645205	73	15,801
65	0	0	0
65	0,32582456	57	18,572
65	0,28859016	61	17,604
65	0,30808	50	15,404
65	0,21168966	87	18,417
65	0,3386087	23	7,788
65	0,2866	45	12,897

65	0,23421622	111	25,998
46,6	0,7381875	32	23,622
46,6	1,0787	20	21,574
46,6	0,58911765	17	10,015
46,6	0,61028571	63	38,448
46,6	0,80392683	41	32,961
46,6	0	0	0
46,6	0,63476	25	15,869
46,6	0,9527619	21	20,008
46,6	0,81719565	46	37,591
46,6	0	0	0
46,6	0,991425	40	39,657
46,6	0,04842857	49	2,373
46,6	0,4644	10	4,644
46,6	0	0	0
46,6	0,73814286	7	5,167
46,6	0	0	0
46,6	0,68105556	18	12,259
46,6	0,31384444	45	14,123
46,6	0,449	7	3,143
22,5	0	0	0
22,5	0,34186364	22	7,521
22,5	0	0	0
22,5	0,485	10	4,85
22,5	0	0	0
22,5	0,53727273	11	5,91
22,5	0,21378378	37	7,91
22,5	0	0	0
22,5	0	0	0
22,5	1,134	2	2,268
2	0	0	0
2	0,68411111	9	6,157
2	0	0	0
2	0,1582	5	0,791
2	0	0	0
2	0	0	0
2	0,74611628	43	32,083
2	0,65511111	5	3,27555556
2	0,65511111	3	1,96533333
2	0,65511111	1	0,65511111

Annexe 2 : Valeurs des ouvrières de *B. terrestris* issues d'une colonie achetée chez Biobest (n=10) mesurées sur les scans et les vidéos prise lors des expériences filmées de prise de nectar.

Concentration en miel dans le nectar	Quantité de sirop prise par lapée (µL/lapée)	Nombre de coup de langue	Quantité totale de sirop consommée (µL)
100	0,04605411	231	10,6385001
100	0,04802062	194	9,31600009
100	0,39794706	17	6,7651
100	0,0725525	60	4,35315
100	0,17047391	23	3,9209
100	0,1059265	89	9,42745868
100	0,18640145	69	12,8617
100	0,22812673	108	24,6376868
100	0,09090986	110	10,0000849
100	0,13848202	283	39,1904122
90,2	0,2465625	24	5,9175
90,2	0,19423286	61	11,8482043
90,2	0,19162131	69	13,2218705
90,2	0,57083681	126	71,9254381
90,2	0,13172772	50	6,58638615
90,2	0,21485238	55	11,816881
90,2	0,35731706	70	25,0121944
90,2	0,25857309	24	6,20575411
90,2	0,3207992	68	21,8143456
90,2	0,37047963	202	74,8368853
65	0,30384276	6	1,82305656
65	0,35125887	13	4,5663653
65	0,39879172	45	17,9456275
65	0,30991143	177	54,8543229
65	0,45755099	67	30,6559165
65	0,41414858	47	19,4649834
65	0,43623333	56	24,4290666
65	0,15836381	23	3,64236754
65	0,31175617	87	27,1227864
65	0,32883431	33	10,8515321
46,6	0,37830938	66	24,9684188
46,6	0,61471026	79	48,5621102
46,6	0,48096667	39	18,7577
46,6	0,41938868	63	26,4214868
46,6	0,51453968	43	22,1252064
46,6	0,4258443	32	13,6270177
46,6	0,4172963	53	22,1167037
46,6	0,34711452	62	21,5211
46,6	0,47401628	54	25,5968791

46,6	0,35161364	39	13,7129318
22,2	0,53398889	47	25,0974778
22,2	0,41652277	41	17,0774337
22,2	0,34604807	40	13,8419228
22,2	0,43999294	18	7,91987299
22,2	0,98253125	42	41,2663125
22,2	0,54059976	64	34,5983849
22,2	0,55330246	37	20,4721912
22,2	0,42145308	8	3,37162461
22,2	0,64994724	60	38,9968343
22,2	0,41790981	64	26,746228
2	0,39347051	6	2,36082308
2	0,20491111	15	3,07366667
2	0,31299286	0	0
2	0,42695	13	5,55035
2	0	0	0
2	0	0	0
2	0,2212051	26	5,7513326
2	0,32327692	46	14,8707385
2	0,32018	4	1,28072
2	0,8059	13	10,4767

Annexe 3 : Valeurs des ouvrières de *B. lucorum* (n=10) mesurées sur les scans et les vidéos prise lors des expériences filmées de prise de nectar.

Concentration en miel dans le nectar	Quantité de sirop prise par lapée (µL/lapée)	Nombre de coup de langue	Quantité totale de sirop consommée (µL)
100	0,05594763	401	22,435
100	0,07771053	38	2,953
100	0,113375	8	0,907
100	0,11492949	156	17,929
100	0	0	0
100	0	0	0
90,2	0,11969065	417	49,911
90,2	0	0	0
90,2	0,05905085	118	6,968
90,2	0,09187963	216	19,846
65	0,33420513	39	13,034
65	0,14348214	56	8,035
65	0,14621154	156	22,809
65	0,1415	24	3,396
65	0,36353488	43	15,632
65	0	0	0
65	0,10838971	136	14,741
65	0,1838866	97	17,837
46,6	0,4394875	80	35,159
46,6	0	0	0
46,6	0,24180986	142	34,337
46,6	0	0	0
46,6	0,38173684	133	50,771
46,6	0,20802128	94	19,554
46,6	0,20229545	44	8,901
46,6	0,17348571	35	6,072
22,2	0	0	0
22,2	0	0	0
22,2	0	0	0
22,2	0	0	0
22,2	0	0	0
22,2	0	0	0
22,2	0	0	0
22,2	0	0	0
22,2	0	0	0
22,2	0	0	0
2	0	0	0
2	0	0	0
2	0	0	0
2	0	0	0

2	0	0	0
2	0	0	0
2	0	0	0
2	0	0	0
2	0	0	0
2	0	0	0

Annexe 4 : Valeurs des ouvrières de *B. hypnorum* (n=8) mesurées sur les scans et les vidéos prise lors des expériences filmées de prise de nectar.

Concentration en miel dans le nectar	Quantité de sirop prise par lapée (µL/lapée)	Nombre de coup de langue	Quantité totale de sirop consommée (µL)
100	0,27265417	24	6,5437
100	0,04728	5	0,2364
100	0,06504146	41	2,6667
100	0,14678966	29	4,2569
100	0,12718333	12	1,5262
100	0,04205	12	0,5046
100	0,08481176	34	2,8836
100	0,08955938	32	2,8659
92,2	0,15951549	71	11,3256
92,2	0,20632222	27	5,5707
92,2	0,131975	36	4,7511
92,2	0,14435	14	2,0209
92,2	0	0	0
92,2	0,43499375	16	6,9599
92,2	0,05649396	149	8,4176
92,2	0,08317368	57	4,7409
65	0,16061042	48	7,7093
65	0	0	0
65	0,44701429	35	15,6455
65	0,76699231	13	9,9709
65	0,24013333	21	5,0428
65	0,18685676	37	6,9137
65	0,21910818	110	24,1019
65	0,46306842	19	8,7983
45	0,28697458	59	16,9315
45	0,29217222	18	5,2591
45	0,31729104	67	21,2585
45	0,27135323	62	16,8239
45	0,27023548	62	16,7546
45	0,15170566	53	8,0404
45	0,47811786	28	13,3873
45	0,38256471	34	13,0072
22,2	0	0	0
22,2	0,94474286	7	6,6132
22,2	0,68183077	39	26,5914
22,2	0,29155773	97	28,2811
22,2	0,42626786	28	11,9355
22,2	0,39301702	47	18,4718
22,2	0,31308136	12	3,75697627

Annexe 5 : Valeurs des ouvrières de *B. pascuorum* (n=8) mesurées sur les scans et les vidéos prise lors des expériences filmées de prise de nectar.

Concentration en miel dans le nectar	Quantité de sirop prise par lapée (µL/lapée)	Nombre de coup de langue	Quantité totale de sirop consommée (µL)
100	0,08168362	177	14,458
100	0	0	0
100	0,08007692	13	1,041
100	0,111272	125	13,909
100	0,05147126	87	4,478
100	0,0397767	103	4,097
100	0,12665789	38	4,813
92,2	0,17808108	37	6,589
92,2	0,14504167	24	3,481
92,2	0,08525	16	1,364
92,2	0	0	0
92,2	0	0	0
92,2	0,09031008	129	11,65
92,2	0,10967742	31	3,4
65	1,0185	6	6,111
65	0	0	0
65	0,25952941	51	13,236
65	0,19364103	156	30,208
65	0	0	0
65	0	0	0
65	0,26495918	98	25,966
65	0,19413846	65	12,619
46,6	0,16039583	48	7,699
46,6	0	0	0
46,6	0	0	0
46,6	0,12572903	155	19,488
46,6	0	0	0
46,6	0	0	0
46,6	0,03947059	17	0,671
22,2	0	0	0
22,2	0	0	0
22,2	0	0	0
22,2	0	0	0
22,2	1,02488889	9	9,224
22,2	0	0	0
22,2	0	0	0
2	0	0	0
2	0	0	0

2	0	0	0
2	0	0	0
2	0	0	0
2	0	0	0
2	0	0	0

Annexe 6 : Longueur en mm du proboscis des individus testés. Les mesures sont faites sur le prémentum et la glosse de chacun des individus et elles sont mentionnées en mm.

<i>Bombus</i> (<i>Bombus</i>) <i>terrestris</i>	<i>Bombus</i> (<i>Bombus</i>) <i>lucorum</i>	<i>Bombus (Bombus)</i> <i>terrestris</i> <i>Biobest</i>	<i>Bombus</i> (<i>Pyrobombus</i>) <i>pratorum</i>	<i>Bombus</i> (<i>Pyrobombus</i>) <i>hypnorum</i>	<i>Bombus</i> (<i>Melanobombus</i>) <i>lapidarius</i>	<i>Bombus</i> (<i>Thoracobombus</i>) <i>pascuorum</i>
9.5	6.8	7.5	7.5	7.7	7.7	10.8
10.1	7.5	9.5	8	7.4	7.6	10.3
8.7	8.0	8.0	8.6	7.6	8.1	7.8
8.2	8.8	8.2	7.8	8.3	8.3	9.1
7.5	7.7	7.7	7.4	8.1	7.9	8.2
9.1	7.4	9.1	8.1	8.4	8.4	8.7
8.8	8.5	8.8		8.0	8	9.4
8.1	9.1	8.5		8.1		9.1
9.8	8.1	8.9		7.9		8.8
8.9	8.9	9.8		8.6		9.8
8.87	8.08	8.6	7.9	8.01	8	9.2