

**Université de Mons**  
**Faculté des Sciences**  
**Laboratoire de Zoologie**

Variation de la qualité des ressources florales  
des abeilles en milieu agricole

Directeur de mémoire :

**Pr. Denis Michez**

Co-directrice de mémoire :

**Dr. Maryse Vanderplanck**

Mémoire de fin d'études présenté par

**Sara Palumbo**

En vue de l'obtention du grade de

**Maître en Sciences Biologiques**

Année académique 2018-2019

**Palumbo S. (2019).** *Variation de la qualité des ressources florales des abeilles en milieu agricole.* Mémoire en Sciences Biologiques – Biologie des Organismes et Ecologie à finalité approfondie, Université de Mons, 96 pp.

### Résumé :

Le déclin des abeilles est un fait certifié depuis ces dernières décennies. Celui-ci est causé par plusieurs facteurs parmi lesquels nous retrouvons l'intensification des pratiques agricoles par l'utilisation de produits agrochimiques en milieu agricole qui modifie le paysage et diminue notamment l'abondance et la diversité des espèces florales. Le pollen constitue une ressource florale d'importance primordiale pour la survie des abeilles, puisqu'il leur fournit les nutriments essentiels à leur développement, leur résistance au stress et aux maladies ainsi que leur reproduction. Parmi l'ensemble des éléments contenus dans le pollen, nous retrouvons entre autres les acides aminés et les lipides. Cette ressource varie en quantité et en qualité selon l'espèce florale et selon sa proportion en nutriments, les abeilles sont influencées en termes de choix floraux afin de se procurer un régime alimentaire approprié. Cependant, nous ignorons encore l'impact de substances chimiques comme les pesticides sur la composition et la concentration des nutriments du pollen.

Dans le cadre de ce mémoire, nous nous sommes intéressés dans un premier temps à l'étude de deux gammes de molécules : les acides aminés, indispensables pour la synthèse protéique, et les stérols, essentiels dans la construction des membranes lipidiques et dans la synthèse d'hormone comme l'ecdysone. Nous avons émis l'hypothèse que la composition et la teneur de ces nutriments varient dans un paysage fortement exposé aux pesticides. Pour étudier cela, nous avons considéré deux sites d'échantillonnage : un milieu « sain », préservé de tout produit chimique et un milieu agricole conventionnel. Différentes espèces florales ont été sélectionnées sur ces deux sites : *Achillea millefolium*, *Centaurea cyanus*, *Helianthus annuus*, *Malva sylvestris*, *Papaver rhoeas*, *Phacelia tanacetifolia* et *Zea mays* pour lesquelles le pollen a été récolté et analysé. Dans un second temps, des visites florales ont été relevées afin de déterminer l'abondance et la diversité des insectes utilisant ces plantes. Des traits écologiques comprenant les comportements de nidification ont également été étudiés dans le but de déceler l'influence du paysage agricole sur le choix floral et le mode de vie des abeilles.

Les résultats obtenus confirment la variabilité de la quantité et de la composition du pollen en termes d'acides aminés et de stérols des ressources florales. De plus, les teneurs en acides aminés des espèces *Helianthus annuus*, *Malva sylvestris* et *Zea mays* sont significativement plus élevées dans un paysage exposé à l'agriculture intensive. Parallèlement, l'étude démontre que la proportion de visiteurs floraux nichants au-dessus du sol est significativement supérieure dans un milieu agricole.

Sur base de ces résultats, nous démontrons l'impact des intrants azotés sur le pollen des ressources florales, influençant probablement lui-même la nutrition des pollinisateurs apiformes.

**Mots-clés :** Acides aminés – Environnement agricole – Qualité chimique du pollen – Pesticides – Pollinisateurs – Stérols – Visites florales

# Remerciements

---

*A travers ces quelques mots, je tiens à remercier celles et ceux ayant contribué, de près ou de loin, à l'élaboration de ce travail.*

*Pour commencer, je remercie le Professeur Pierre Rasmont pour son accueil au sein de son laboratoire. Son enseignement pédagogique m'a transmis sa passion pour l'écologie et la zoologie.*

*J'aimerais également remercier le Professeur Denis Michez pour ses compétences et son expérience scientifique. Sa confiance m'a permis de gagner en autonomie et de développer mon esprit critique.*

*Je souhaiterais témoigner toute ma gratitude et mes remerciements envers le Docteur Maryse Vanderplanck pour son encadrement. Sa patience, son soutien ainsi que ses précieux conseils m'ont été indispensables lors de la construction de ce travail.*

*Je remercie respectueusement les membres du jury et mes promoteurs Denis Michez et Maryse Vanderplanck qui ont accepté de relire ce travail.*

*Je remercie cordialement MM. Albert Michez et Stijn Zelderloo pour m'avoir permis de réaliser mes relevés sur leur propriété respective.*

*Je tiens tout particulièrement à remercier Dimitri Evrard pour sa gentillesse, sa disponibilité et son dévouement qu'il m'a accordé tout au long de cette année.*

*Je remercie également Isabelle Vandevreken et Steven Mascrez pour leur aide technique apportée lors du travail de laboratoire effectué à Gembloux.*

*Je voudrais remercier Pierre-Laurent Zerck pour sa contribution et son temps consacré dans la maîtrise des méthodes réalisées en laboratoire à Mons.*

*Ensuite, je remercie l'ensemble des membres du service pour leurs conseils et leur bonne humeur.*

*Je tiens évidemment à remercier mes collègues de bureau : Kimberly, Mathilde, Purdey et Xavier pour leur compagnie et leur soutien ainsi que tous mes collègues de promotion avec lesquels j'ai passé 5 merveilleuses années.*

*Je remercie chaleureusement Aurora et Sara pour leur amitié qui m'est précieuse et indispensable.*

*J'aimerais remercier sincèrement mes parents et ma famille qui m'ont toujours soutenue, encouragée et sans qui, ce travail n'aurait pas lieu d'être. Vous m'avez transmis les valeurs importantes de travail et de persévérance.*

*Pour terminer, je remercie profondément Maximilien qui m'accompagne jour après jour depuis plus de 3 ans. Ta présence à mes côtés m'a fourni le courage et la force d'aller jusqu'au bout de ce périple.*

*Merci à vous tous et à toutes les personnes que je n'ai pas pu citer mais qui ont tout de même participé à ce travail par leurs connaissances et leurs encouragements.*

# Table des matières

---

<b>I.</b>	<b>Introduction.....</b>	<b>7</b>
1.1.	Ressources florales.....	7
1.1.1.	Pollinisation.....	7
1.1.2.	Choix floraux.....	8
1.1.3.	Pollen et nectar.....	9
1.1.3.1.	Structure du grain de pollen.....	10
1.1.3.2.	Composition chimique.....	10
1.1.3.2.1.	Métabolites primaires.....	11
1.1.3.2.1.1.	Les acides aminés.....	12
1.1.3.2.1.2.	Les stérols.....	14
1.1.3.2.2.	Métabolites secondaires.....	14
1.2.	Visiteurs floraux.....	15
1.2.1.	Diversité.....	15
1.2.1.1.	Classification phylogénétique.....	15
1.2.1.2.	Abeilles généralistes et spécialistes.....	16
1.2.1.3.	Mode de vie.....	17
1.2.2.	Conservation.....	17
1.3.	Perturbation du réseau de pollinisation.....	20
1.3.1.	Facteurs globaux et leur impact sur les ressources florales.....	20
1.3.2.	Les pesticides et leur impact sur les ressources florales.....	21
<b>II.</b>	<b>Objectifs.....</b>	<b>25</b>
<b>III.</b>	<b>Matériel et méthodes.....</b>	<b>26</b>
3.1.	Description des zones étudiées.....	26
3.1.1.	Zone peu impactée par les pesticides.....	26
3.1.1.1.	Université de Mons.....	27
3.1.1.2.	Erbisooul.....	28
3.1.2.	Zone exposée aux pesticides.....	28
3.2.	Sélection des modèles floraux.....	29
3.3.	Echantillonnage de terrain.....	35
3.3.1.	Récolte du pollen.....	35
3.3.2.	Caractérisation du site et de la communauté de visiteurs floraux.....	36

3.4.	Analyses chimiques.....	38
3.4.1.	Analyse des acides aminés.....	38
3.4.2.	Analyse des stérols.....	40
3.5.	Encodage des données et analyses statistiques.....	44
3.5.1.	Etude de la qualité des ressources florales.....	44
3.5.2.	Etude des visites florales.....	45
<b>IV.</b>	<b>Résultats.....</b>	<b>47</b>
4.1.	Caractérisation du profil chimique du pollen.....	47
4.1.1.	Analyses de la composition stérolique totale du pollen pour l'ensemble des espèces florales étudiées.....	47
4.1.2.	Analyses de la composition en acides aminés totaux et essentiels du pollen pour l'ensemble des espèces florales étudiées.....	49
4.2.	Caractérisation générale des principaux visiteurs floraux.....	54
4.2.1.	Communautés de visiteurs associés aux plantes.....	54
4.2.2.	Communautés d'abeilles associées aux plantes .....	56
4.2.2.1.	Diversité et intensité des visites florales.....	56
4.2.2.2.	Comparaison des visites florales sur les sites via des traits écologiques fonctionnels...	58
<b>V.</b>	<b>Discussion.....</b>	<b>63</b>
5.1.	Caractérisation du profil chimique du pollen.....	63
5.1.1.	Composition en stérols.....	63
5.1.2.	Composition en acides aminés.....	65
5.2.	Caractérisation des visiteurs floraux.....	67
<b>VI.</b>	<b>Conclusion.....</b>	<b>71</b>
<b>VII.</b>	<b>Perspectives.....</b>	<b>73</b>
<b>VIII.</b>	<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>74</b>
<b>IX.</b>	<b>Annexes.....</b>	<b>92</b>

# I. Introduction

---

## 1.1. Ressources florales

### 1.1.1. Pollinisation

La pollinisation est un processus apparu depuis le Mézozoïque, d'abord avec l'avènement des Gymnospermes à la fin du Trias (252-201 Ma) et ensuite avec l'extension de la diversité des premières plantes à fleurs ou groupe des Angiospermes lors du Crétacé (145-66 Ma) (Grimaldi, 1999 ; Peñalver *et al.* 2012).

Cette vaste diversité donne lieu à deux principaux modes de reproduction : l'autogamie et l'allogamie. L'autogamie est un mécanisme mis en place par la plante elle-même afin de se reproduire toute seule. L'allogamie, quant à elle, fait intervenir un facteur externe à la plante pour permettre sa reproduction. Les vecteurs de cette fécondation croisée sont variés, nous retrouvons essentiellement l'anémogamie (pollinisation par le vent), l'hydrogamie (par l'eau) et la zoogamie (par les animaux).

La zoogamie consiste en l'interaction des plantes avec un autre groupe large d'êtres vivants : les pollinisateurs (Waser, 1986 ; Bawa, 1990 ; Kearns & Inouye, 1998). Dans la plupart des cas, ces deux groupes sont intimement liés par leur dépendance l'un envers l'autre (Berry & Calvo, 1991). En vérité, une relation mutualiste existant entre eux, leur permet de tirer des bénéfices l'un de l'autre (Barrett & Harder, 1996 ; Aizen, *et al.* 2006). Ce mutualisme a été reconnu par Darwin (1859) comme fondamental et indispensable à la survie des communautés (Gibernau, 1997 ; Kearns & Inouye, 1997 ; Vaissière, 2002 ; Ollerton, *et al.* 2011). L'ensemble de ces interactions se regroupe en réseaux de pollinisation (Popic, *et al.* 2013).

Les éléments clés reliant les plantes et les pollinisateurs sont les ressources nutritives florales (Seifan, *et al.* 2014). Celles-ci sont expliquées plus en détails plus loin (point 1.1.3.). De manière générale, les pollinisateurs s'alimentent de la nourriture produite par les plantes, communément le pollen (poudre fine stockée au niveau des anthères de la fleur et relarguée à la déhiscence de celle-ci) et le nectar (liquide sucré) (Simpson, 1986 ; Lawrence, 1993). En contrepartie, les visiteurs floraux transportent le pollen (partie reproductrice mâle) en voyageant d'une plante à l'autre et déposent inconsciemment des grains sur la structure florale réceptive de la partie femelle (Thomson, 1986). Quand le pollen déposé sur un individu provient de la même espèce florale, alors il peut y avoir la germination du grain formant le tube pollinique à

l'intérieur du gynécée (structure femelle) (Kandasamy, *et al.* 1994 ; Cheung, 1996). Le noyau reproducteur atteint ainsi l'ovule et féconde l'oosphère, ce qui, à terme, permet la formation du fruit, puis d'une graine permettant la reproduction de la plante (Kearns & Inouye, 1997).

La majorité des espèces florales sont fréquemment pollinisées par des insectes, dont les ordres des coléoptères (carabes), diptères (mouches), lépidoptères (papillons) mais principalement par celui des hyménoptères (abeilles) (Hu, *et al.* 2008). Par exemple, la plante de citrouille (*Cucubita pepo*) est exclusivement pollinisée par l'abeille des ruches et les bourdons (Phillips & Gardiner, 2015 ; Pfister, *et al.* 2017). En fonction des plantes qu'ils visitent, les pollinisateurs seront qualifiés de généralistes ou spécialistes (plus d'informations au point 1.2.1.2.).

### 1.1.2. Choix floraux

Le choix floral des pollinisateurs influence le succès reproductif des plantes (Laverty, 1992 ; Molina-Montenegro, *et al.* 2008). Pour ce faire, les plantes doivent être attractives aux pollinisateurs (Sih & Baltus, 1987 ; Laverty, 1992 ; Molina-Montenegro, *et al.* 2008). Cette sélection dépend principalement de la diversité florale disponible (Clegg & Durbin, 2000 ; Klinkhamer, *et al.* 2001 ; Fründ, *et al.* 2010) de la densité florale et de la répartition spatiale de la plante dans son milieu. Ces deux dernières sont corrélées au taux de visite (Ghazoul, 2005 ; Hegland & Boeke, 2006 ; Dauber, *et al.* 2010 ; Seifan, *et al.* 2014). Plus le nombre de visites florales est élevé, et plus cela favorise la fécondation et la propagation de la plante (Pfister, *et al.* 2017).

De manière très succincte, les animaux et typiquement les abeilles possèdent des systèmes sensoriels, visuels et olfactifs (variables selon l'espèce) (Masuhr & Menzel, 1972 ; Gerber & Smith, 1998 ; Dyer, *et al.* 2010) leur servant à percevoir les caractéristiques phénotypiques des plantes (Renoult, *et al.* 2013). Pour cela, d'autres critères stratégiques existent pour les attirer : la période de floraison, la structure de la fleur (couleur, forme, parfum), la récompense florale, l'abondance des amas de pollen, etc. (Lehrer, *et al.* 1995 ; Hu, *et al.* 2008 ; Kulahci, *et al.* 2008 ; Leonard, *et al.* 2011 ; Wilmer, 2011). Une étude a montré que les bourdons peuvent distinguer des variantes de coloration chez *Centaurea cyanus* et sélectionner les fleurs à butiner sur base d'un schéma chromatique (Eckhart, *et al.* 2006 ; Renoult, *et al.* 2013).

Il faut noter que le régime des pollinisateurs est différent en fonction de leurs besoins nutritifs (Free, 1993 ; Chaplin-Kramer, *et al.* 2014). De ce fait, la source de nourriture est variable et hétérogène, et par adaptation évolutive, cela mène à une divergence florale (Wilson & Thompson, 1996). Des compétitions florales existent donc sur base de leur capacité à attirer les pollinisateurs, ce qui désavantage les plantes moins adaptées (Becerra & Lloyd, 1992 ; Yang, *et al.* 2011 ; Muchhala & Thomson, 2012). Cependant, la diversité d'espèces florales est corrélée à celle des pollinisateurs (Fründ, *et al.* 2010).

La pollinisation des animaux est cruciale pour la production de cultures mondiales destinées à l'alimentation humaine (Mc Gregor, 1976 ; Crane & Walker, 1984 ; Free, 1993 ; Williams, 1994). L'abondance et la diversité des abeilles varient par rapport aux variations naturelles de l'habitat (Hoehn, *et al.* 2008) mais constituent des critères à conserver dans un écosystème agricole pour un bon maintien des espèces florales (Ricou, *et al.* 2014). En effet, la pollinisation (principalement des abeilles) est responsable d'environ un tiers de la production alimentaire destinée à l'espèce humaine (O'Toole, 1993 ; Greenleaf & Kremen, 2006 ; Klein, *et al.* 2007 ; Eilers, *et al.* 2011 ; Willmer, 2011). Nonobstant, l'abondance des abeilles domestiques et sauvages (Burd, 1994 ; Kearns, *et al.* 1998 ; Larson & Barrett, 2000 ; Ashman, *et al.* 2004) diminue fortement avec les années et met en danger les écosystèmes agricoles (Corbet, 1991 ; Williams, 1994 ; Kearns & Inouye, 1997 ; Allen-Wardell, *et al.* 1998 ; Klein, *et al.* 2007).

Une section sera consacrée au déclin des abeilles au point 1.3. (Perturbation du réseau de pollinisation).

### 1.1.3. Pollen et nectar

Les ressources florales sont des substances produites par les plantes et indispensables pour l'alimentation des abeilles. Leurs sources principales de nourriture sont le pollen et le nectar (Màrgàroan, *et al.* 2010). Très succinctement, le nectar est un liquide sucré, produit à la surface des nectaires des plantes à fleurs (Gonnet, 1982). Il est particulièrement riche en eau mais comporte également des nutriments comme des acides aminés, des huiles essentielles et des sucres (fructose, glucose et saccharose dans différentes proportions), des polysaccharides tels que le glucose et l'amylose, des acides organiques, des enzymes, des vitamines ou des substances aromatiques (Ziegler, *et al.* 1968 ; Melin, 2002 ; Nabil, 2010 & Heil, 2011).

Dans cette étude, nous nous focalisons uniquement sur le pollen qui est une structure assez complexe par rapport aux autres ressources de nourriture.

### 1.1.3.1. Structure du grain de pollen

La structure générale du grain de pollen est la même pour tous les Angiospermes (Figure 1a) (Màrgàroan, *et al.* 2010). Un grain mesure en moyenne plusieurs dizaines de micromètres de diamètre (Willmer, 2011). Il se compose de deux couches : une interne (intine) et l'autre externe (l'exine). Cette microspore a souvent deux noyaux haploïdes, dont le plus grand est la cellule végétative qui comprend la deuxième cellule ou cellule reproductrice (Jalouzot, 1969). Le grain de pollen (simple ou multiple) (Figure 1b) diffère essentiellement par différentes caractéristiques telles que la couleur, l'épaisseur, la forme (généralement ronde à ovoïde), la porosité et la taille. Les conditions environnementales, particulièrement la qualité du sol, influencent le nombre de grains, la performance et la taille du pollen (Lau & Stephenson, 1993).

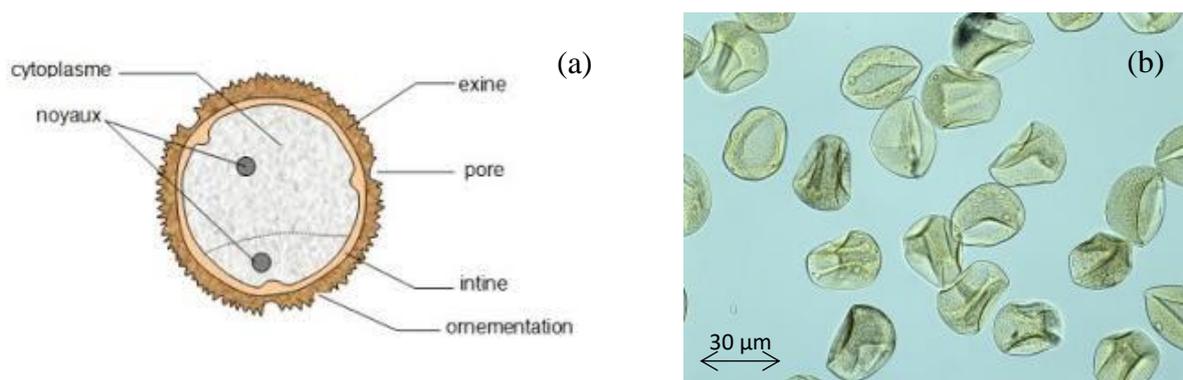


Figure 1. (a). Structure générale d'un grain de pollen. (b) Schéma théorique d'un grain de pollen (vue en coupe), grossissement microscopique (x100) de grains de pollen séchés de maïs (*Zea mays*). Photographies anonymes.

### 1.1.3.2. Composition chimique

Le pollen est une ressource d'importance capitale pour les abeilles. Une colonie d'ouvrières d'*Apis mellifera* consomme en moyenne entre 3,4 et 4,3 mg de pollen par jour (Crailsheim, *et al.* 1992). Tous les pollens ne sont pas équivalents. La composition peut varier entre espèces florales et au sein même d'une espèce en fonction de différents paramètres tels que : l'espèce de la plante, les conditions météorologiques, le sol sur lequel poussent les plantes ou encore la saison au cours de laquelle elles se développeront (Pons, 1958 ; Crailsheim, *et al.* 1992). En

effet, des études ont montré que certaines conditions abiotiques comme la sécheresse d'un milieu peuvent entraîner un stress pour la plante qui produirait à ce moment un pollen appauvri en nutriments (Alqudah, *et al.* 2010), ce qui conduirait à une production de graines moins élevée (Young & Stanton, 1990). A contrario, un sol riche en phosphore permet aux plantes qui s'y développent de produire un pollen enrichi en cet élément chimique, ce qui augmenterait la capacité de conception des graines (Lau & Stephenson, 1994).

Le pollen est composé de métabolites primaires et secondaires permettant leur développement et celui de leur descendance (Thorp, 1979 ; Willmer, 2011).

#### 1.1.3.2.1. Métabolites primaires

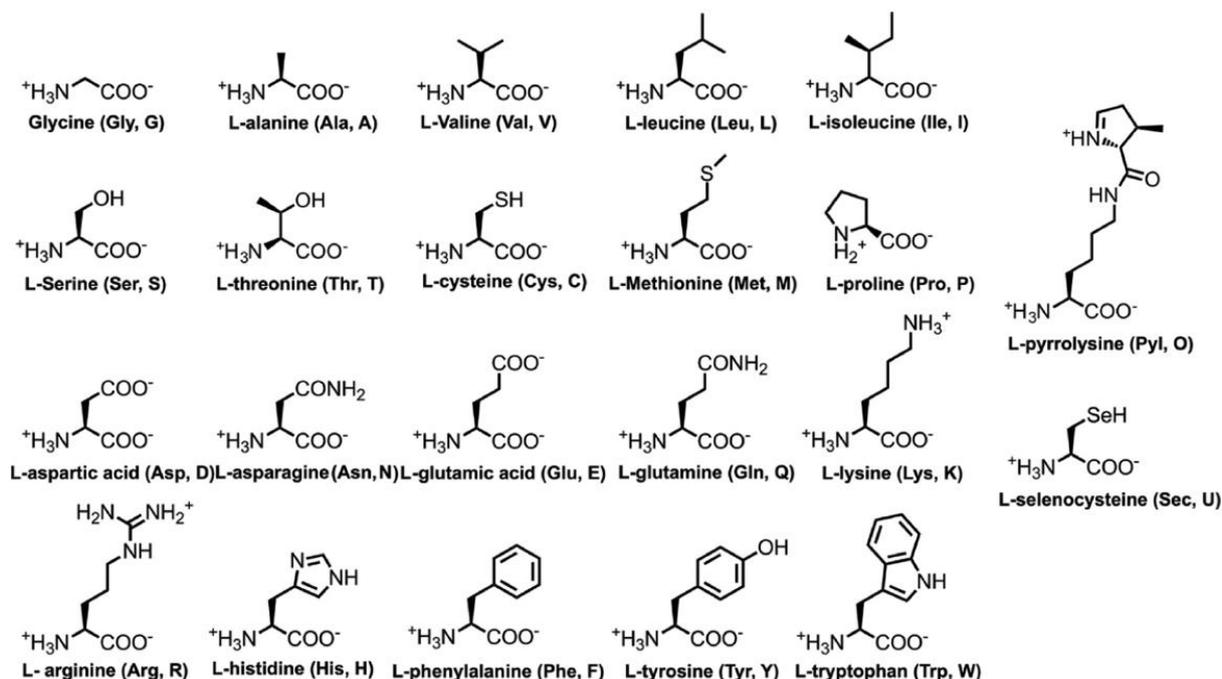
Le pollen est constitué de toute une série de composants (Roulston & Goodell, 2011). Les métabolites primaires du pollen consistent en des composés directement impliqués dans le développement et la physiologie de l'abeille. Les protéines sont un type de nutriments principal retrouvé dans le pollen. En effet, un régime pauvre en protéines réduit la masse des larves pour une abeille et affaiblit leur immunité (Roger, *et al.* 2017). Leur taux dans le pollen varie entre 2,5 à 61% (Buchmann, 1986 ; Roulston *et al.* 2000) composés d'acides aminés. Ensuite, les lipides avec un taux moyen compris entre 0,8% et 18,9% dans le pollen (Roulston & Cane, 2000), regroupent surtout les acides gras et les stérols (Yang, *et al.* 2013). Les autres composants regroupent des sucres (essentiels pour le vol) (Beenackers, *et al.* 1984 ; Suarez, *et al.* 1996) avec un pourcentage compris entre 30 et 50% (Iilika, 1990), de l'amidon (0 à 22%) (Roulston & Cane, 2000 ; Roulston, *et al.* 2000), de l'eau avec un taux de 18% (Bogdanov, 2004) et environ 5% de minéraux (Stanley, 1971 ; Loper, *et al.* 1980).

Ces nutriments favorisent la longévité et la santé des larves et des adultes ainsi que la productivité de la colonie pour *Apis mellifera* (Brodschneider & Crailsheim, 2010). Effectivement, un régime diversifié serait plus adéquat que la consommation d'un pollen monofloral car cela apporte les différents nutriments requis pour l'abeille, dilue les toxines, permet d'éviter d'éventuelles carences alimentaires (Schmidt, *et al.* 1995) et améliore le système immunitaire chez *Apis mellifera* (Alaux, *et al.* 2010 ; Nicolson, 2011). Les classes de nutriments qui vont nous intéresser dans ce cadre sont les acides aminés et les stérols car ils

sont indispensables pour les abeilles et ne peuvent être fournis en quantité suffisante que par la ressource de pollen.

### 1.1.3.2.1.1. Les acides aminés

Premièrement, les acides aminés représentent une des fractions les plus importantes à propos des besoins nutritionnels (De Groot, 1953). En effet, la synthèse de protéines en dépend (Crailsheim, *et al.* 1992). Les acides aminés aident au développement larvaire (Haydak, 1970 ; Michener, 2007 ; Altaye, *et al.* 2010), à la longévité et reproduction des spécimens adultes et peut aussi jouer un rôle dans la résistance de maladies (De Groot, 1953 ; Standifer, *et al.* 1960 ; Herbert, *et al.* 1977 ; Iwasaki, *et al.* 1988 ; Dourmad, *et al.* 1994 ; Pirk, *et al.* 2010 ; Helm, *et al.* 2017). Parmi les acides aminés (représentation à la Figure 2), nous distinguons les acides essentiels qui sont indispensables car ils ne peuvent être synthétisés à partir d'autres métabolites. Chez l'abeille domestique, ces acides aminés essentiels sont : l'arginine, l'histidine, l'isoleucine, la leucine, la lysine, la méthionine, la phénylalanine, la thréonine, le tryptophane et la valine (De Groot, 1953). Comme l'indique leur nom, ils sont essentiels chez l'organisme pour maintenir une bonne synthèse protéique (Behmer 2009). Il a même été prouvé que dans le cas où les abeilles ont le choix entre deux pollens, elles ont tendance à choisir celui avec le taux en acides aminés essentiels le plus élevé (Cook, *et al.* 2003).



On considère qu'un pollen présentant un taux élevé en acides aminés est de bonne qualité (Vanderplanck, *et al.* 2014 ; Moerman, *et al.* 2015). Comme pour la composition du pollen, sa qualité va dépendre en partie de l'espèce florale (Hanley, *et al.* 2008 ; Praz, *et al.* 2008 ; Haider, *et al.* 2013). Par exemple, *Sorbus aucuparia* et *Cytisus scoparius* contiennent du 24-méthylènecholestérol ainsi qu'un taux en acides aminés haut, permettant aux ouvrières de *B. terrestris* de mieux se reproduire (Vanderplanck, *et al.* 2014). Par contre, le pollen de tournesol est d'une qualité moindre pour les abeilles car sa teneur en protéines n'est seulement de 15% (Pernal & Currie, 2000 ; Somerville & Nicol, 2006 ; Nicolson & Human, 2013). Cependant, certaines plantes comme l'eucalyptus (*Eucalyptus globulus*) fournissent un pollen avec un taux protéique relatif à 25% mais déficient pour un acide aminé (isoleucine) ; de la même manière, Yang, *et al.* (2013) montre que pour 12 variétés de plantes, la lysine a été détecté comme facteur limitant et inférieur au seuil requis par la FAO. Cela apporte à nouveau la preuve qu'un pollen provenant exclusivement d'une plante n'est pas forcément la solution pour contribuer aux besoins d'un pollinisateur (Loper & Cohen, 1987 ; Somerville & Nicol, 2006).

De plus, les larves d'*Apis mellifera* sont extrêmement dépendantes de cette concentration en acides aminés (Haydak, 1970), des chercheurs ont été jusqu'à affirmer que cette espèce était capable de réduire sa production de juvéniles pour éviter d'affaiblir la descendance (Brodschneider & Crailsheim, 2009). D'autres pollinisateurs ont réussi à adopter différentes stratégies en sélectionnant leurs ressources florales (Vanderplanck, *et al.* 2014). Si l'on prend le cas de *B. terrestris*, des scientifiques ont montré qu'il peut distinguer certains acides aminés (asparagine, cystéine, lysine, phénylalanine, sérine, etc.) et peut également faire la distinction entre différentes concentrations en lysine et cela, uniquement grâce à des récepteurs situés à l'apex de ses antennes. Il possède donc un avantage considérable à pouvoir sélectionner un pollen de qualité avant de l'ingérer (Ruedenauer, *et al.* 2019).

De ce fait, il n'est pas étonnant de savoir que les plantes se sont adaptées à la fréquence des visites au cours de l'évolution (Hanley, *et al.* 2008). Roulston, *et al.* (2000) confirme que « la teneur en protéines peut influencer sur le choix de l'hôte floral ». Les plantes étant pollinisées par des visiteurs floraux contiendraient une teneur en protéines plus élevée. Nonobstant, si le mutualisme est perturbé par d'éventuels facteurs, cela pourrait alors nuire aux deux communautés (Hanley, *et al.* 2008).

#### 1.1.3.2.1.2. Les stérols

Globalement, les lipides sont nécessaires pour la cire d'abeille (à base d'esters d'acides gras et d'alcools) (Bogdanov, 2004). Ils contribuent à la survie de la colonie notamment via l'amélioration de la construction du couvain (Toth, *et al.* 2005 ; Manning, *et al.* 2007). Les stérols sont indispensables pour la synthèse des hormones (hormone de mue) et au niveau cellulaire (expression de gènes et constituant membranaires) (Vanderplanck, *et al.* 2014). Leur concentration est importante au niveau de la nutrition des bourdons pour le développement de la colonie (Moerman, *et al.* 2017). L'abeille domestique obtient ses stérols exclusivement du pollen. Par ailleurs, les molécules de stérols produites par des ressources florales sont actives au sein même du métabolisme de la plante. Il a ainsi pu être démontré que le cholestérol peut être métabolisé à partir de phytostérols (Svoboda, *et al.* 1982).

#### 1.1.3.2.2. Métabolites secondaires

Les métabolites secondaires se composent de constituants minoritaires : des vitamines (hydro- et liposolubles) comme l'acide pantothénique, la thiamine ou encore la riboflavine (Roulston & Cane, 2000 ; Brodschneider & Crailsheim, 2010), des polyphénols, des pigments (flavonoïdes et caroténoïdes) (Roulston, *et al.* 2000 ; Mârgàroan, *et al.* 2010), de l'azote sous forme d'électrons libres, des substances bactériostatiques (pour fabriquer éventuellement du miel, de la gelée royale et d'autres types d'abeilles alimentaires) et du matériel enzymatique (pour accélérer la croissance du tube pollinique et, par la suite, pour induire le passage de l'ovaire dans le fruit) (Stanley, 1971 ; Yang, *et al.* 2013). Ils se manifestent également par l'intermédiaire d'agents externes, exclusivement bactéricides et insecticides. Ils permettent à la plante d'interagir avec son environnement en jouant souvent un rôle plutôt défensif contre les agents pathogènes et les herbivores (Bennett & Wallsgrove, 1994). Par exemple, le soja possède un mécanisme de défense lui permettant d'accumuler des phénylpropanoïdes lorsqu'il est menacé par des agents pathogènes (Kutchan, 2001).

Il existe d'autres cas, par exemple, le pollen peut être source de vitamines grâce aux bactéries provenant de l'acide lactique (Vasquez & Olofsson, 2009). Par ailleurs, il peut y avoir un effet positif pour les deux acteurs, c'est le cas de la relation entre les plantes toxiques et les insectes juvéniles (Nicole, 2002). Ces derniers se nourrissent de ces plantes toxiques et stockent des molécules (alcaloïdes, glycosides, etc.) qui les protègent par la suite tout au long de leur développement (Harmel, 2008) ; en contrepartie, ils offrent une meilleure pollinisation aux

espèces végétales (Nicole, 2002). De plus, les grands herbivores évitent les plantes toxiques, ce qui assure aux insectes juvéniles une double protection à tous les deux (Kutchan, 2001).

## **1.2. Visiteurs floraux**

### **1.2.1. Diversité**

Il existe de nombreuses espèces de pollinisateurs, cette diversité comprend en effet une multitude d'espèces de mammifères, d'oiseaux, de reptiles ou encore de rongeurs mais surtout un groupe indispensable constituant les insectes. Nous pouvons distinguer ces derniers en différents sous-groupes de pollinisateurs selon leur efficacité : les pollinisateurs majeurs regroupant principalement les abeilles et les bourdons qui sont très efficaces et les pollinisateurs mineurs prenant notamment en compte les guêpes, les mouches et les papillons avec une activité de pollinisation minimale (Zandonella, *et al.* 1981 ; Buchmann & Nabhan, 2012). A cela, s'ajoutent certains insectes floricoles comme les coléoptères et hémiptères. Si ceux-ci se nourrissent tout autant de pollen et de nectar, ils vont être en revanche moins efficaces en termes de pollinisation par le fait qu'ils transportent peu le pollen (Gosselin, *et al.* 2014).

Intéressons-nous aux abeilles et aux bourdons qui sont d'une importance capitale au sein de la plupart des écosystèmes.

Les abeilles au sens strict (super-famille des Apoidea) sont très diverses, on en retrouve près de 20 000 espèces dans le monde, dont 2000 en Europe. Elles se distinguent entre autres sur base de la classification phylogénétique mais également par différentes caractéristiques telles que le degré de spécialisation et le mode de vie (nidification, socialité, etc.).

#### **1.2.1.1. Classification phylogénétique**

Nous différencions les abeilles en deux grands groupes appelés guildes (Figure 3) : les abeilles à langue courte (Familles : Andrenidae, Colletidae, Halictidae, etc.) et les abeilles à langue longue (Familles : Apidae et Megachilidae). Ces groupes peuvent être associés avec les catégories des espèces florales : les fleurs à corolle courte et ouverte (pour tout type d'insecte en général) et les fleurs à corolle profonde et étroite (destinées aux abeilles à langue longue ou aux trompes des papillons) (Alcock, 2005 ; Gosselin, *et al.* 2014). En réalité, une évolution étroite s'est établie entre les plantes et les pollinisateurs.

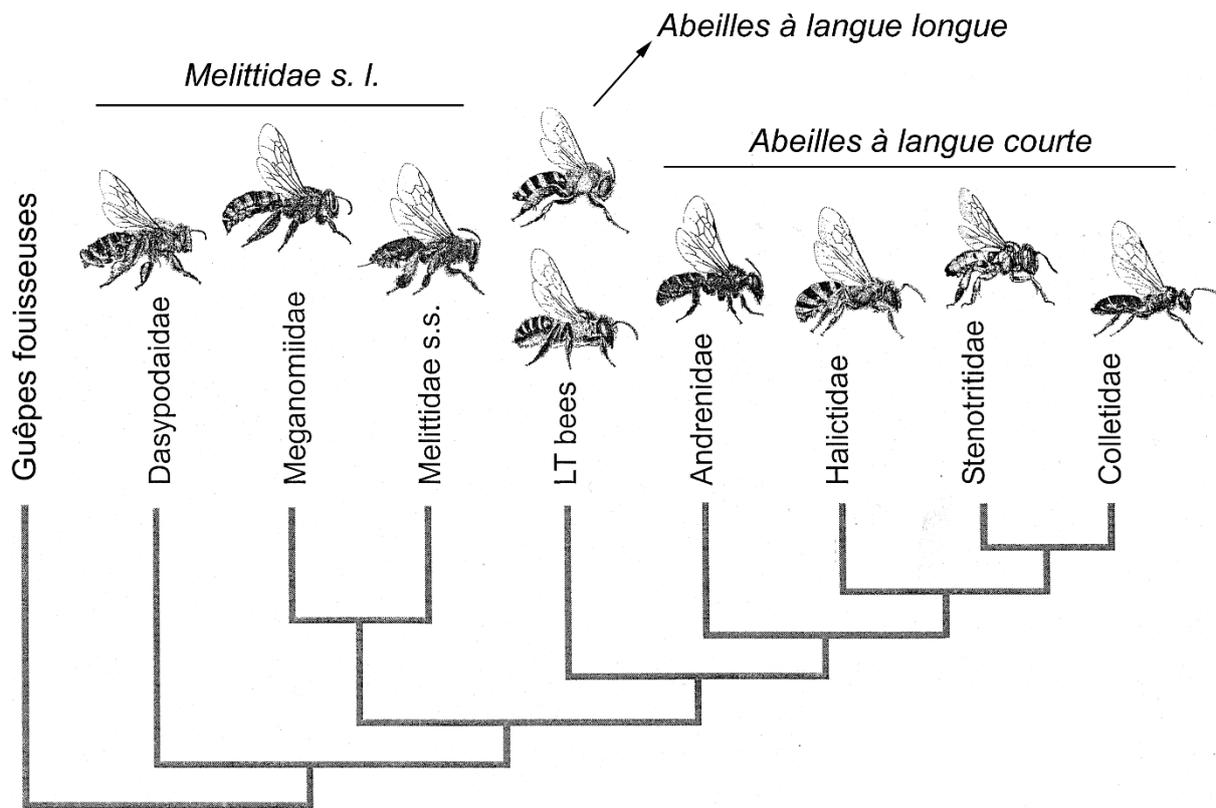


Figure 3. Classification des Apoidea (Danforth, *et al.* 2013).

#### 1.2.1.2. Abeilles généralistes et spécialistes

La spécialisation d'une espèce d'abeille va dépendre essentiellement de son lectisme, c'est-à-dire des sources de pollen dont l'abeille se nourrit. On retrouve des abeilles polylectiques (la plupart), oligolectiques et monolectiques (Gosselin, *et al.* 2014).

De manière simple et générale, les abeilles polylectiques sont généralistes car elles butinent une vaste gamme de familles de plantes, par exemple *Bombus terrestris* Auct (Apidae). Plusieurs sous-catégories de polylectisme existent en fonction des préférences à certaines familles florales mais ne seront pas abordées dans ce cadre-ci. A contrario, les espèces oligolectiques et monolectiques qualifient des abeilles respectivement peu et fortement spécialistes. Les oligolectiques ne butinent à ce moment que certaines familles florales comme *Chelestoma distinctum* Stöckhert (Megachilidae), quant aux monolectiques, elles ne se nourrissent pratiquement que sur une seule espèce de plante, comme par exemple *Eucera longicornis* pollinisant uniquement *Ophrys fuciflora* (Shusheng, *et al.* 2008 ; Gosselin, *et al.* 2014).

Dans une moindre mesure, nous pouvons préciser que le choix des plantes que butinent les abeilles va dépendre du sexe de l'individu. En effet, les mâles ont tendance à visiter des plantes comme les cirses, les centaurées ou encore les épilobes tandis que les femelles des mêmes espèces préfèrent les ressources florales des légumineuses (surtout les bourdons) (Carvell, *et al.* 2006 ; Gosselin, *et al.* 2014).

### 1.2.1.3. Mode de vie

Sur base de leur socialité, les abeilles se distinguent en abeilles sociales, solitaires et cleptoparasites. Près de 400 espèces d'abeilles ont été recensées en Belgique (Rasmont, *et al.* 2017) dont une cinquantaine sont protégées en Wallonie (Gosselin, *et al.* 2014). Les abeilles sociales vivent en colonie régie par une reine, elles reprennent uniquement quelques espèces mais qui n'en sont pas moins abondantes ; parmi les plus étudiées, *Apis mellifera* (1 sp : l'abeille des ruches, unique abeille domestique) (Louveaux, *et al.* 1966). Un des bourdons les plus communs *Bombus terrestris* (30 sp. en Belgique) peut également être repris dans cette catégorie malgré la phase d'hibernation de son cycle qui est solitaire. Il nidifie dans le sol en creusant son terrier. Quant aux abeilles solitaires, ce sont les plus nombreuses (environ 90% des Apoidea). Elles sont qualifiées de solitaires car il n'y a pas de caste royale, chaque femelle nourrit et élève ses larves. Citons *Osmia cornuta* (Megachilidae), une abeille maçonne nidifiant dans des cavités de murs, de roches ou encore de plantes à tiges creuses (Moritz and Southwick, 1992) (Gosselin, *et al.* 2014). Il faut cependant noter que toutes les abeilles ne récoltent pas nécessairement du pollen et ne sont pas forcément butineuses, elles sont dans ce cas désignées d'abeilles coucous ou cleptoparasites qui cohabitent avec des espèces hôtes en pondant leurs œufs dans le nid de celles-ci et en consommant leurs réserves de nourriture. Un exemple typique d'abeille cleptoparasite est *Nomada fucata* Panzer 1798, hôte d'*Andrena flavipes* (Dufrêne, *et al.* 2014).

### 1.2.2. Conservation

La diversité des pollinisateurs est un élément majeur dans un écosystème. Plus l'abondance et la diversité des abeilles sont élevées, plus les interactions entre espèces augmentent en réduisant

la fonction des espèces pollinisatrices dominantes et plus la pollinisation du milieu est efficace (Klein, *et al.* 2003 ; Brittain, *et al.* 2012 ; Gosselin, *et al.* 2014).

Des milieux avec des conditions adéquates et constantes sont optimales pour permettre l'installation des abeilles dans un habitat afin qu'elles puissent butiner et construire leur nid. En effet, un environnement dont les conditions sont variables peuvent entraîner des pertes de biodiversité (Yachi, *et al.* 1999 ; Loreau, *et al.* 2003 ; Batary, *et al.* 2010).

Les agroécosystèmes sont présents aux quatre coins de la planète et constituent un moyen primordial que l'homme possède pour se nourrir (Tallis, *et al.* 2009 ; Batary, *et al.* 2010). Nos cultures européennes dépendent en grande partie de l'apport de services écosystémiques telle que la pollinisation par les abeilles, soit environ 84% de la pollinisation par les insectes (Williams, 1994 ; Klein, *et al.* 2007 ; Tscharrntke, *et al.* 2007 ; Brittain, *et al.* 2012). *Apis mellifera* a été reconnue comme « le pollinisateur le plus rentable des monocultures dans le monde » ainsi que pour certaines cultures comme les graines (amande) et les noix (Mc Gregor, 1976 ; Southwick & Southwick, 1992 ; Roubik, 2002) tandis que la pollinisation de plantes comme le bleuet, la cerise et la tomate se réalise plus efficacement grâce aux abeilles sauvages (Javorek, *et al.* 2002 ; Bosch, *et al.* 2006 ; Greenleaf & Kremen, 2006). Cela est en fait basé sur les cultures de l'époque qui ne prend pas en compte certaines variétés actuelles (Klein, *et al.* 2007). Une controverse plus récente reconnaît les pollinisateurs sauvages comme vitaux pour la pollinisation des grandes cultures (Garibaldi, *et al.* 2013), selon Burckle, *et al.* (2013) ils seraient environ deux fois plus efficaces que les abeilles domestiques. En réalité, ces dernières complèteraient le travail des sauvages mais ne le remplaceraient pas (Garibaldi, *et al.* 2013). Par ailleurs, l'interaction entre les deux n'est pas moins intéressante puisqu'il a été prouvé qu'une compétition entre les abeilles mellifères et sauvages augmente l'efficacité de la pollinisation chez les tournesols (Gosselin, *et al.* 2014).

Les milieux ruraux (Figure 4) doivent sans aucun doute contribuer à la conservation de la biodiversité sur le long terme et être favorables à l'abondance de ces espèces d'abeilles (Tallis, *et al.* 2009 ; Batary, *et al.* 2010). Par conséquent, améliorer l'efficacité de la pollinisation permettrait un meilleur rendement des cultures, sans forcément augmenter la surface des terrains agricoles (Brittain, *et al.* 2012). De plus, un paysage diversifié permet de mieux préserver la biodiversité (Bianchi, *et al.* 2006).



Figure 4. Augmentation de l'industrie agroalimentaire dans le monde en 2012 (Hassan, 2014).

Cette prise de conscience a permis de mettre en place une gestion agroenvironnementale pour conserver la richesse spécifique des pollinisateurs (Kearns, *et al.* 1983 ; Buchmann & Nabhan, 1996 ; Daily, *et al.* 1997 ; Allen-Wardell, *et al.* 1998) sur les terres arables (Kleijn, *et al.* 2003 ; Batary, *et al.* 2010). Il a été démontré dans Banaszak (1992) et Westphal, *et al.* (2003) que les habitats semi-naturels (prairies, talus, haies, bandes fleuries, etc.) permettent d'améliorer l'abondance et la diversité des pollinisateurs. En effet, les bandes fleuries en milieu agricole sont prisées par les abeilles car elles servent de sources nutritives et de refuge (Holzschuh, *et al.* 2007 ; Batary, *et al.* 2010).

Par ailleurs, l'agriculture biologique serait une alternative à petite échelle car elle permet d'augmenter la biodiversité des pollinisateurs sauvages, contrairement aux pratiques agricoles intermédiaire et intensive dépendant en grande partie de la pollinisation par *Apis mellifera* (Gosselin, *et al.* 2014).

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

#### 1.3.1. Facteurs globaux et leur impact sur les ressources florales

Depuis les années 80, un phénomène de déclin a été observé chez les abeilles et touche particulièrement les abeilles sauvages spécialistes en termes de perte d'habitat et de choix floral (Biesmeijer, *et al.* 2006). Cette crise de biodiversité est liée à la dégradation des services écosystémiques (Chapin, *et al.* 2000). Plusieurs facteurs généraux sont impliqués : le changement climatique (Dupuis & Dumas, 1990), l'introduction d'espèces invasives rentrant en compétition avec les espèces indigènes, l'introduction de parasites et de pathogènes induisant des maladies (Downey & Winston, 2001) Higes, *et al.* 2006 ; Meeus, *et al.* 2011, Pattemore & Wilcove, 2012), la perte d'habitat et l'usage de pratiques agricoles modernes via l'emploi de pesticides (Kearns, *et al.* 1998 ; Richards, 2001 ; Palmer, *et al.* 2004 ; Ghazoul, 2005 ; Biesmeijer, *et al.* 2010 ; Potts, *et al.* 2010 ; Willmer, 2011, Stevenson, *et al.* 2015).

La perte d'habitat est une des causes majeures d'appauvrissement de la biodiversité des communautés d'abeilles sauvages (Kearns, *et al.* 1998). Elle est due à la destruction et à la fragmentation des milieux par l'expansion de l'urbanisation mais également par l'intensification des pratiques agricoles réduisant la fertilité du sol qui comprend le surpâturage, la mise en place de monocultures et l'utilisation de produits azotés (Willmer 2011; Nicholls & Altieri 2012 ; Hülsmann, *et al.* 2015). Le risque qu'une espèce soit en danger au point de s'éteindre est notamment lié à son cycle de vie (Bommarco, *et al.* 2010). Les milieux les plus affectés par cette diminution de biodiversité sont les paysages ruraux ayant subi des changements considérables en Europe occidentale et en Amérique du Nord à cause des modifications de l'utilisation des sols (défrichage, agrandissement de la taille des champs, emploi démesuré d'intrants agrochimiques) (Robinson & Sutherland, 2002 ; Benton, *et al.* 2003 ; Hole, *et al.* 2005 ; Bianchi, *et al.* 2006 ; Letourneau, *et al.* 2008). Des chercheurs ont montré via des cultures réalisées sur 4 continents que les communautés d'abeilles sauvages étaient fortement impactées par l'intensification de l'agriculture et que le déclin des espèces florales était étroitement associé au déclin de ces espèces pollinisatrices (Biesmeijer, *et al.* 2006 ; Klein, *et al.* 2007). Carvell, *et al.* (2006) prouve cela avec le genre *Bombus* (*Bombus* ssp.) pour lequel un déclin de l'abondance et de la diversité a été décelé suite « aux pertes d'habitats et à l'intensification agricole propices à leur alimentation et à leur nidification » (Williams, 1982 ; Rasmont, 1988 ; Buchmann & Nabhan, 1996).

Il a été prouvé que certains facteurs de déclin, cités précédemment, ont un impact négatif sur le pollen et le nectar. En effet, des résidus de métaux lourds (Al, Co, Ni, Pb, ...) suite à la pollution mondiale graduelle, ont été retrouvés en concentrations croissantes chez des plantes comme le tabac (*Nicotiana tabacum*) et ont pour conséquence un effet toxique qui engendre une diminution de la longueur du tube pollinique et une germination insuffisante du pollen (Sawidis, *et al.* 1995 ; Tuna, *et al.* 2002). Des plantes envahissantes (*Lythrum salicaria*) peuvent entrer en compétition avec leurs espèces indigènes, ce qui réduit la production quantitative et qualitative du pollen produit par les espèces natives (Brown, *et al.* 2001 & 2002). Les scientifiques ont aussi montré que suite au réchauffement climatique, des températures élevées pouvaient perturber la fertilité des grains de pollen, notamment chez le riz (*Oryza sp.*), ce qui peut dès lors devenir problématique en termes de rendement des cultures (Chakrabarti, *et al.* 2011 ; Shah, *et al.* 2011).

### 1.3.2. Les pesticides et leur impact sur les ressources florales

Les pesticides sont des produits agrochimiques mondialement utilisés depuis ces 70 dernières années (Pimentel, *et al.* 1977 ; Geiger, 2010 ; Gunnell, *et al.* 2011) grâce à leurs effets protecteurs sur les cultures (Trottier, 1980 ; Kumar, 1991 ; Simon-Delso, *et al.* 2014). Ils se composent de toute une gamme de produits répulsifs aux plantes (herbicides), insectes (insecticides), champignons (fongicides), bactéries (bactéricides), etc. (Johansen, 1977 ; Grube, *et al.* 2011 ; Zhang, *et al.* 2011). Selon Kang, *et al.* (2010), les herbicides sont les pesticides les plus utilisés dans le monde, environ 48% de tous les pesticides (Figure 5) (DeNoyelles, *et al.* 1982 ; Barbash, *et al.* 2001). Un des herbicides les plus connus est le glyphosate, qui est la molécule principale du Roundup (Franz, *et al.* 1997 ; Giesy, *et al.* 2000 ; Williams, *et al.* 2000 ; Nakasu, *et al.* 2014). La quantité de ces pesticides ne cesse d'augmenter au cours du temps (Tableau 1) (Wilson & Tisdell, 2001 ; Lansik, *et al.* 2004 ; Gunnell, *et al.* 2007 ; Aktar, *et al.* 2009). D'après les données de la « Food and Agriculture Organization of the United Nations » (FAO, base de données "FAOSTAT") plus de 4 millions de tonnes sont achetées tous les ans depuis 2016, comparés à 3 millions de tonnes en 2001. En ce qui relate la consommation en Belgique, environ 6000 tonnes par an sont utilisées depuis 2016 pour un usage approximatif de 6,9 kg par hectare et par an.

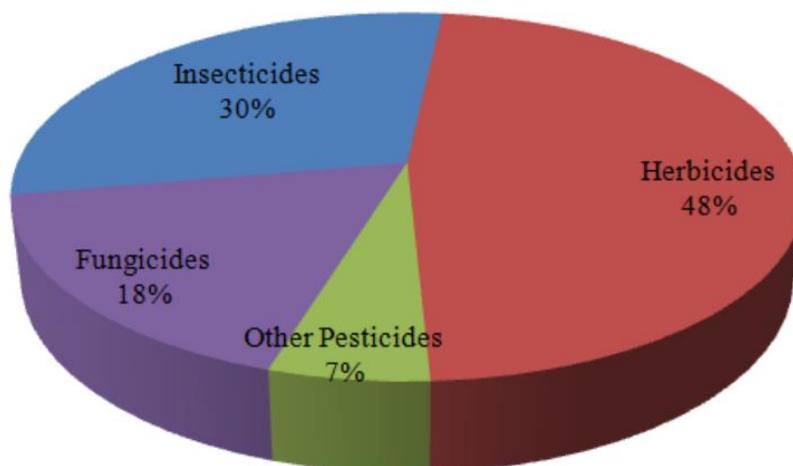


Figure 5. Proportion des différents types de pesticides utilisés dans le monde (Kang, *et al.* 2016).

Tableau 1. Consommation mondiale croissante des différentes gammes de pesticides de 2009 à 2014. QSA : Quantité de substance active. (Plan Ecophyto II).

QSA (milliers de kg) – usages agricoles						
Fonction	2009	2010	2011	2012	2013	2014
Herbicide	23 553	24 187	26 651	24 768	24 936	27 805
Fongicide	18 247	16 859	14 563	16 164	17 438	21 168
Insecticides (dont acaricides)	849	865	1 011	966	927	931
Substance de croissance	2 455	2 582	2 482	2 372	2 254	2 614
Nématicide	2 892	3 095	1 513	2 177	2 061	2 515
Autres (Molluscicides, rodenticides, activateur végétal, etc.)	2 975	2 986	2 660	2 888	3 172	3 861

Ces substances, utilisées à fortes doses et efficaces pour les plantes cultivées, ne sont pas sans danger pour les pollinisateurs qui y sont exposés (Tasei, 1996 ; Thompson 2003 ; Desneux, *et al.* 2007 ; Pisa, *et al.* 2017). D’après les dernières règles en vigueur, la loi du Parlement européen du 16 janvier 2019 interdit l’utilisation et la vente de tout produit phytopharmaceutique (excepté ceux d’origine naturelle, à faible risque et destinés à l’agriculture biologique) dans les pays de l’Union européenne, dont le glyphosate (Alim’agri : Site du Ministère de l’Agriculture et de l’Alimentation ; Wallonie agriculture SPW : Portail de l’Agriculture Wallonne ; Portail Europarl : Site du Parlement européen).

En réalité, les résidus de ces produits agrochimiques sont devenus un problème environnemental car étant très persistants, ils se retrouvent dans les sols et nappes phréatiques

(Holland, 1994 ; Devillers, *et al.* 2002 ; Bonmatin, *et al.* 2015, Tosi, *et al.* 2017). Par la suite, ils touchent les ressources nutritives des abeilles et en conséquence, le réseau plantes-pollinisateurs à différents niveaux (Mullin, *et al.* 2010 ; Park, *et al.* 2015). Effectivement, il a été démontré que ces substances chimiques, en grande partie les insecticides, sont nocifs pour la faune et la flore (Geiger, *et al.* 2010). Elles sont mortelles pour les communautés d'abeilles et diminuent à large échelle leurs populations, autant pour l'abeille mellifère que pour les sauvages (Kevan, 1975 ; Bernal, 2010). Les pesticides peuvent également avoir des effets sublétaux à l'échelle individuelle (Decourtye, 2002 ; Desneux, *et al.* 2007 ; Mommaerts, *et al.* 2010 ; Henry, *et al.* 2012 ; Park, *et al.* 2015) et modifier le comportement des abeilles (Thompson 2003 ; Desneux, *et al.* 2007 ; Cresswell, 2011 ; Gill, 2012 ; Henry, *et al.* 2012 ; Schneider, *et al.* 2012).

Les études souvent menées concernent principalement deux groupes d'abeilles bien connus : les abeilles domestiques et les bourdons. La perte de colonie peut s'expliquer par l'interaction de plusieurs types de pesticides ensemble (Pilling, *et al.* 1993 ; Johnson, *et al.* 2009). Chez *Apis mellifera*, cet effet combinatoire affecte la productivité des ouvrières de manière générale et réduit l'efficacité de collecte du pollen, ce qui justifie que moins de ressources nutritives sont ramenées à la colonie. Le développement de la couvée pourrait alors s'effectuer de manière irrégulière (Gill, *et al.* 2012 ; Blanken, *et al.* 2015). Certaines molécules ont été étudiées individuellement afin de déceler leurs éventuels effets sur les abeilles. C'est le cas de deux insecticides néonicotinoïdes, l'imidaclopride et le thiaméthoxame (Kirchner, 1999 ; Decourtye, 2002 ; Colin, *et al.* 2004 ; Rortais, *et al.* 2005 ; Girolami, *et al.* 2009 ; Tosi, *et al.* 2017). Chez les bourdons, l'imidaclopride, à des doses réalistes pouvant être retrouvées dans l'environnement, réduit l'efficacité d'alimentation des ouvrières et affaiblit la production de reines (Gill, 2012 ; Whitehorn, *et al.* 2012 ; Feltham, *et al.* 2014). Le thiaméthoxame a des effets similaires à propos de diminution de la reproduction en pouvant déjà être actif sur des micro-colonies de *B. terrestris* (Dance, *et al.* 2017), il engendre également des propriétés anti-nutritionnelles répulsives envers les bourdons et à forte concentration, il réduit la longueur moyenne des ovocytes terminaux chez les reines de *B. lucorum*, *B. pratorum*, *B. pascuorum* et *B. terrestris* (Baron, *et al.* 2017).

Par ailleurs, la cytologie de certaines plantes peut être affectée sous l'action de pesticides (di- et tri-chlorophénol). L'étude a montré que ces derniers touchent à l'échelle cellulaire la viabilité du pollen de *Vicia faba*. En effet, une partie des grains de pollen produits était stérile et certaines anomalies ont été observées telles que des chromosomes anormaux (Amer & Farah, 1980). Au

niveau moléculaire, les pesticides (principalement les herbicides) peuvent, une fois administrés dans le sol, être absorbés par les racines de la plante. Au cours de leur migration, ils atteignent les voies métaboliques de la plante et peuvent se convertir en métabolites primaires par des enzymes effectuant des réactions d'oxygénation (Ladet-Vaquer, 1984 ; Scalla, 2002).

En définitive, encore peu de recherches ont étudié l'impact des pesticides sur la composition chimique du pollen. A ce jour, nous connaissons l'extension des pesticides sur le réseau plantes-pollinisateurs affectant chacune des deux communautés (Pons, 1958 ; Crailsheim, *et al.* 1992). Des études se sont aussi focalisées les résidus de pesticides retrouvés en abondance dans les sols et en dehors de leurs retombées passives, ces études ont prouvé qu'ils modifient leur qualité. De par le lien établi entre la qualité du sol et les composants du pollen, ces produits phytosanitaires peuvent perturber la qualité nutritionnelle de ce dernier au niveau des métabolites primaires. En conséquence, des changements de la composition du pollen peuvent potentiellement affecter les interactions avec les pollinisateurs.

## II. Objectifs

---

Dans le cadre de ce mémoire, la question énoncée est la suivante : « Les ressources polliniques des abeilles sont-elles équivalentes dans un milieu agricole conventionnel comparé à un milieu moins exposé aux produits agrochimiques et phytosanitaires ? ».

Pour répondre à cette question, nous évaluons la qualité et la composition nutritionnelle du pollen en termes d'acides aminés et de stérols dans un milieu comprenant des concentrations moindres en pesticides et dans une zone rurale, exposée à des concentrations plus élevées en pesticides.

L'étude se focalise essentiellement à l'échelle intraspécifique afin de déceler un éventuel impact des pesticides sur la quantité et la composition du pollen pour des mêmes espèces florales (sauvages et cultivées) situées dans les deux environnements.

Du pollen frais est donc récolté pour des espèces florales identiques dans la région de Mons (sans pesticides) et dans celle de Dilbeek (avec pesticides) (Boisdequin, 2017).

Dans un second temps, nous étudions une influence potentielle que peuvent avoir les produits agrochimiques sur le choix floral des pollinisateurs. Pour ce faire, les visites florales des plantes sélectionnées sont relevées afin de comparer la fréquence et la diversité des pollinisateurs pour chacune d'entre elles.

Nos hypothèses sont (i) que suivant l'emploi des pesticides dans l'environnement, les molécules de produits chimiques se retrouvent dans leur métabolisme enzymatique et les plantes (sauvages et cultivées) produiraient alors un pollen avec des concentrations variables en acides aminés et en stérols à l'échelle de l'espèce, et (ii) que suivant la qualité des ressources polliniques, certains pollinisateurs pourraient modifier leurs choix floraux lors du butinage pour continuer à se procurer un régime nutritionnel complet à leur développement. De cette manière, nous pourrions déterminer si malgré l'influence de produits agrochimiques, ces ressources peuvent nourrir de la même manière les pollinisateurs.

## III. Matériel et méthodes

---

### 3.1. Description des zones étudiées

Différents sites ont été sélectionnés en Belgique (Figure 6). Deux zones peu exposées aux pesticides situées dans la région de Mons et une grande ferme agricole dans laquelle des produits sont employés dans la région de Bruxelles. Malgré la distance entre ces deux localités, elles restent comparables étant donné qu'elles se situent sur le territoire belge, les conditions climatiques sont donc équivalentes.



Figure 6. Localisation des sites étudiés sur le plateau belge. Photographie anonyme.

#### 3.1.1. Zone peu impactée par les pesticides

A l'heure actuelle, il n'est pas aisé de trouver une zone d'étude sans pesticides. Cependant, certains espaces ont une concentration assez pauvre en produits chimiques. Pour des raisons de facilité, des sites ont été choisis dans la région montoise : le campus de l'Université de Mons et Erbisœul.

### 3.1.1.1. Université de Mons

L'Université de Mons a supprimé l'utilisation de pesticides sur ses campus depuis 2015 et a instauré 5000 m<sup>2</sup> de prés fleuris (Site web UMONS).

Nous nous sommes focalisés sur le campus de la Plaine de Nimy car ses ressources deviennent de plus en plus nombreuses et diverses (plantes sauvages, hôtels à insectes, arbres, etc.). En plus des prés fleuris, d'autres zones du campus ont été échantillonnées : la serre, le jardin à côté de la serre et le village d'abeilles (Figure 7).

Les zones les plus proches pouvant être traitées aux pesticides sont des champs situés à environ 500 mètres du campus universitaire. Grâce à cette distance minimale, le butinage des abeilles domestiques et sauvages dans les champs voisins reste peu probable. L'environnement alentour est essentiellement urbain et contient également quelques zones de prés.

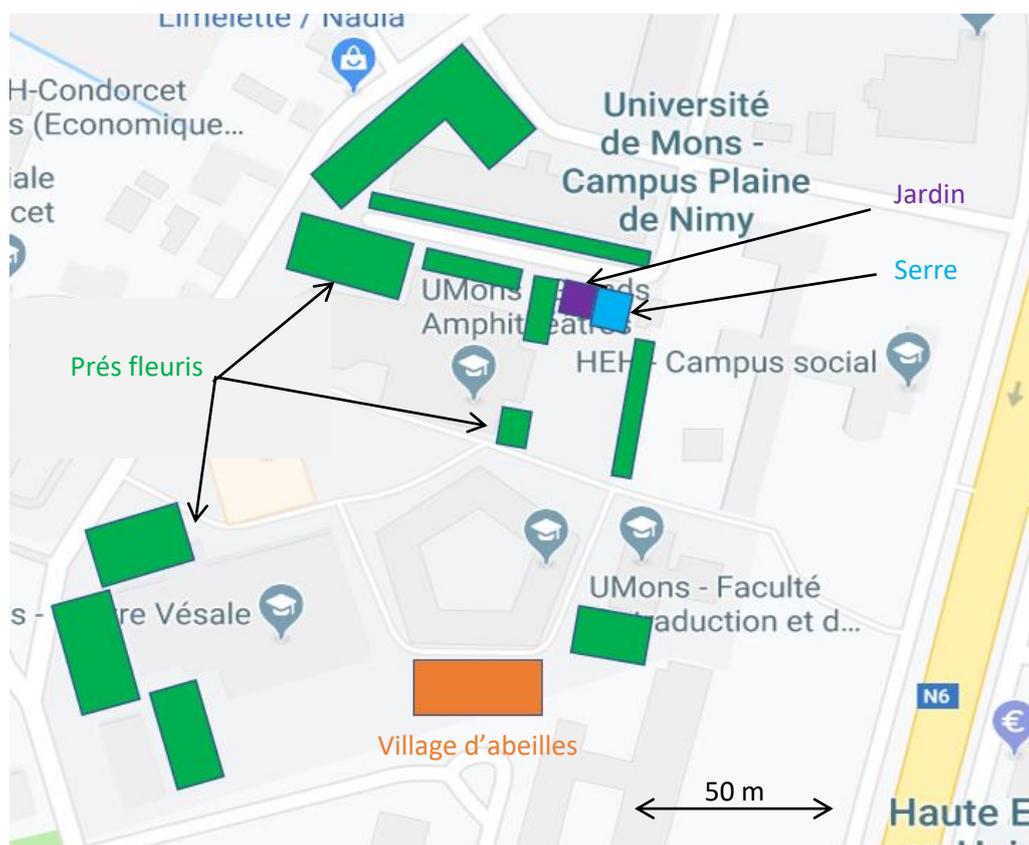


Figure 7. Localisation des parcelles étudiées sur le campus de l'UMONS (Google Maps : données cartographiques 2019).

### 3.1.1.2. Erbisœul

Le lieu précis est un jardin sauvage privé où aucun pesticide n'est utilisé. Il constitue la propriété de Monsieur A. Michez (Figure 8).

Le site contient des éléments permettant aux pollinisateurs de s'y installer facilement ; des ruches d'*Apis mellifera*, des hôtels à insectes, des plantes sauvages, un verger et une serre. Le site (2760 m<sup>2</sup>) fournit des ressources florales en quantité quasi suffisante pour les abeilles. Le jardin est délimité par des arbres, des buissons et des clôtures, ce qui fait place à des zones d'ombre. Les endroits les plus proches pouvant être traités aux pesticides sont des champs situés à plusieurs centaines de mètres de la propriété. De la même manière que pour le campus de l'UMONS, cela n'a pratiquement pas d'incidence sur le butinage des abeilles. L'environnement alentour regroupe essentiellement des prés et des zones boisées.



Figure 8. Localisation de la parcelle étudiée à Erbisœul (Google Maps : données cartographiques 2019).

### 3.1.2. Zone exposée aux pesticides

Le site enrichi en pesticides choisi est un milieu agricole se trouvant à Dilbeek, en périphérie de Bruxelles (Figure 9a), localisé plus précisément sur Wolsemstraat à Sint-Martens-Bodegem. La propriété est une grande exploitation agricole de 128 ha, détenue par Monsieur S. Zelderloo qui emploie des doses conventionnelles de produits agrochimiques. La zone a également été choisie par facilité car de précédentes études y ont été réalisées (notamment le mémoire de J. Boisdequin). La ferme est mixte, elle comprend approximativement 83 ha de cultures, 40 ha de prairies et 5 ha de jachère. Le bétail est essentiellement composé de vaches de la race Blanc Bleu Belge.

La zone qui nous intéresse le plus sur cette surface agricole est située sur Lange Veldstraat. C'est un terrain en friche d'environ 10 000 m<sup>2</sup> (50m x 200m) reconverti en bande fleurie, localisé sur la figure ci-dessous (Figure 9b). Elle comporte des fleurs sauvages semées chaque année et est délimitée par un champ de pommes de terre, une rangée de saules (*Salix x-rubens*) et des habitations. Des ruches d'*Apis mellifera* appartenant à Monsieur F. Schoukens ont été placées sur le site il y a quelques années pour la production de miel.

L'environnement alentour est essentiellement rural (agriculture biochimique). Quelques routes et zones d'habitations séparent les champs. Le sol est limoneux et assez sec.



Figure 9. Délimitation de la commune de Dilbeek, province du Brabant Flamand (a). Localisation de la parcelle étudiée à Dilbeek (b) (Google Maps : données cartographiques 2019).

Les champs de l'exploitation ont été traités par des produits phytosanitaires provenant des entreprises BAESF et BAYER, permettant de lutter essentiellement contre les insectes et les champignons dans les cultures. Cependant, les informations sur les produits et les concentrations utilisées n'ont pas pu être obtenues.

### 3.2. Sélection des modèles floraux

Des espèces florales de différentes familles présentes sur nos stations de Mons et Dilbeek ont été sélectionnées pour notre étude (Tableau 2 et Figure 10 a-g). Le choix de ces espèces florales dépend de plusieurs paramètres limitants comme leur phénologie, la correspondance des ressources florales sur les deux sites ou encore la capacité de production du pollen par une plante ainsi que la facilité à le récolter.

Tableau 2. Caractéristiques générales des espèces florales sélectionnées : nom latin, nom vernaculaire, famille, état de développement, répartition géographique, hauteur de la plante, couleur florale, inflorescence, période de floraison, facilité de production du pollen et qualité du pollen en teneur polypeptidique et lipidique.

<b>Espèce florale</b>	<i>Achillea millefolium</i> L. [1753]	<i>Centaurea cyanus</i> Hill [1762]	<i>Helianthus annuus</i> L. [1753]	<i>Malva sylvestris</i> L. [1753]	<i>Papaver rhoeas</i> L. [1753]	<i>Phacelia tanacetifolia</i> Benth. [1837]	<i>Zea mays</i> L. [1753]
<b>Nom vernaculaire</b>	Achillée millefeuille	Bleuet	Tournesol	Grande mauve	Coquelicot	Phacélie à feuilles de tanaïs	Maïs
<b>Famille</b>	Asteraceae	Asteraceae	Asteraceae	Malvaceae	Papaveraceae	Boraginaceae	Poaceae
<b>Etat de développement</b>	Sauvage	Sauvage	Cultivée	Sauvage	Sauvage	Non-native	Cultivée
<b>Répartition géographique</b>	Europe	Europe, Orient	Amérique du Nord	Europe, Asie occidentale, Afrique septentrionale	Europe centrale et méridionale, Asie occidentale et centrale, Afrique septentrionale	Amérique du Nord	Amérique du Sud
<b>Hauteur de la plante</b>	20-70 cm	30-80 cm	1,5-4 m	30-50 cm	20-60 cm	0,15 cm - 1,20 m	1-3 m
<b>Couleur florale</b>	Blanche	Bleue	Jaune à cœur foncé	Rose violacé	Rouge	Bleu mauve à bleu lavande	Inflorescences mâles : jaunâtre Inflorescences femelles : bordeaux

<b>Inflorescence</b>	Petits capitules en corymbe	Capitule	Capitule	Racème de cymes unipares	Fleur solitaire	Cyme scorpioïde	Fleurs mâles : panicules Fleurs femelles : bractées
<b>Période de floraison</b>	Juin – Septembre	Mai – Juillet	Fin juillet – Septembre	Juin – Septembre	Mai – Juillet	Mai – Août	Juillet – Octobre
<b>Facilité de production du pollen</b>	Moyen/difficile	Facile/moyen	Facile	Facile/moyen	Difficile	Moyen	Facile
<b>Qualité du pollen :</b>			Faible			Moyenne/Elevée	Faible
<b>Teneur polypeptidique</b>	NA	6,73% (Rop, et al. 2012)	14,21%	NA	NA	30,10% (Pernal & Currie, 2000)	7,71-14,60%
<b>Teneur lipidique</b>	NA	NA	5,47%	NA	NA	NA	3,21-7,71%
<b>Sources</b>	Guffroy, 1930 ; Zhang, <i>et al.</i> 1996 ; Couplan, 2012	Bellanger, 2011 ; Melin, 2011 ; Couplan, 2012 ; Rop, <i>et al.</i> 2012 ; Mazliak, 2013	Plateau, 1906 ; Melin, 2011 ; Nicolson & Human, 2013	Wery, 1904 ; Melin, 2011 ; Ouaret, <i>et al.</i> 2018 ; Villeneuve (pas de date)	Plateau, 1898 ; Vidal, 1963 ; Girault, 1966 ; Couplan, 2012	Pernal & Currie, 2000 ; Tohmé & Tohmé, 2010 ; Melin, 2011 ; Villeneuve (pas de date)	Duhautois, 2010 ; Ullah & Farooqi, 2010 ; Faso & De Cycle (2012) ; Deffan, <i>et al.</i> 2015 ; Rhino & Ratnadass, 2017





Figure 10. Représentations photographiques des espèces florales étudiées : (a) *Achillea millefolium*, (b) *Centaurea cyanus*, (c) *Helianthus annuus*, (d) *Malva sylvestris*, (e) *Papaver rhoeas*, (f) *Phacelia tanacetifolia* et (g) *Zea mays* (Clichés pris par moi-même).

Ces espèces florales sont toutes présentes sur la station de Dilbeek. En revanche, il n'était au départ pas possible de toutes les étudier à Mons. Nous nous sommes donc arrangés pour le faire :

- *Helianthus annuus* a été suivi à Erbisœul ;
- *Achillea millefolium*, *Centaurea cyanus*, *Malva sylvestris* et *Papaver rhoeas* étaient présents dans les prés fleuris sur le campus de l'UMONS ;
- *Phacelia tanacetifolia* (Figure 11) et *Zea mays* (Figure 12) ont été semés et ont grandi pendant l'été 2018 dans la serre, le jardin du campus et le village d'abeille.



Figure 11. Semis de Phacélie (*Phacelia tanacetifolia*) dans le village d'abeilles.



Figure 12. Semis de Maïs (*Zea mays*) dans la serre.

### 3.3. Echantillonnage de terrain

Pour cette étude, les relevés ont été effectués du 03 juillet 2018 au 05 octobre 2018 inclus. Du travail de terrain supplémentaire était prévu de mars à mai 2019 mais n'a pas pu être réalisé en raison de conditions météorologiques déplorables. Les sites de l'UMONS et de Dilbeek ont été échantillonnés 10 fois chacun, le site privé situé à Erbisœul n'a pu être visité que 3 fois suite à la période de floraison restreinte et au manque de disponibilité.

#### 3.3.1. Récolte du pollen

Avant toute chose, il est à noter que le pollen de chaque espèce florale a été récolté, excepté le coquelicot.

Parmi toutes les espèces florales étudiées, seul le pollen de maïs, très accessible, est prélevé directement de la plante sur le terrain.

En ce qui concerne les autres espèces, les tiges sont coupées à leur base et mises en vase sous forme de bouquets pour permettre aux fleurs de s'ouvrir et de libérer leur pollen. Après la déhiscence des étamines, une pince est utilisée pour disposer les fleurs tête vers le bas et on se sert d'un diapason (Figure 13) pour faire vibrer les étamines libérant alors les grains de pollen récupérés à ce moment sur une plaque de verre. Le pollen est ensuite « nettoyé » à la pince fine en éliminant les déchets restants (résidus d'étamines, petits insectes, etc.) afin de limiter les biais lors des pesées des différentes prises d'essai pour les analyses chimiques.



Figure 13. Matériel de récolte du pollen.

Après cela, le pollen est récupéré dans un microtube Eppendorf de contenance 2 ml (Figure 14). La quantité à récolter par espèce florale est d'au minimum 120 mg, ce qui correspond à environ

un tiers rempli du microtube. Le pollen est ensuite conservé à  $-20^{\circ}\text{C}$  afin d'éviter toute détérioration (Mărgăoan, R. *et al.* 2010).



Figure 14. Conservation du pollen dans des microtubes.

Après avoir déterminé la masse fraîche des différents échantillons de pollen, ceux-ci sont lyophilisés et pesés à nouveau afin de déterminer la masse sèche. Cette étape de lyophilisation permet d'éliminer toute trace d'eau des échantillons et de travailler sur la matière sèche pour la suite des analyses (élimination du biais massique dû aux molécules d'eau présentes).

### 3.3.2. Caractérisation du site et de la communauté de visiteurs floraux

Les conditions de collecte des pollinisateurs sont standardisées afin de minimiser les biais. D'une part, les conditions météorologiques doivent être les plus propices aux abeilles, pour cela une température d'au moins  $15^{\circ}\text{C}$  est requise, ainsi qu'un vent faible et pas d'averses (Westphal, *et al.* 2008). D'autre part, les ressources florales étant disposées aléatoirement dans le paysage, des comptages floraux (densité florale déterminée sur  $1 \times 2 \text{ m}^2$ ) sont établis au préalable afin de sélectionner une zone représentative de chacune des plantes pour relever les visites des pollinisateurs.

Les visites florales sont relevées pour chaque espèce de plante durant une période de 20 minutes à trois moments de la journée (8-11h, 11h30-14h30, 15h-18h) afin de caractériser la communauté de pollinisateurs des espèces florales sur chacun des sites. Pour être comptabilisé comme pollinisateur, l'insecte doit se trouver dans ou sur la fleur et la butiner. Par exemple, un insecte qui se pose juste sur les pétales n'est pas pris en compte.

Après chaque séance de 20 minutes sur une espèce florale, 10 minutes supplémentaires sont consacrées à la collecte des insectes pollinisant cette même plante. Cela est uniquement fait dans le but de soutenir nos résultats de visites florales.

Les insectes sont capturés au moyen d'un filet à papillon et de petits pots en plastique. Ils sont par la suite placés dans un congélateur traditionnel (-20°C) pour être mis à mort. Puis, ils sont piqués, conservés et répertoriés dans une boîte de collection de manière provisoire sur base des sites de récolte. Les conditions de collecte (date, coordonnées géographiques, plante hôte, etc.) ont été notées dans le carnet de récolte sur le terrain. Finalement, les insectes sont déterminés, labellisés et replacés dans la boîte à partir de cette identification.

Les insectes sont déterminés le plus précisément possible. Dans un premier temps, différents supports sont utilisés :

- Audibert (2003). Gaëtan du Chatenet. Coléoptères phytophages d'Europe. Tomes 1 à 3. (NAP éditions) ;
- Dierl & Ring. Guide des insectes de France et d'Europe. (Delachaux & Niestlé, édition 2013) ;
- Goulet & Huber (1993). Hymenoptera of the World: an identification guide to families ;
- Higgins, Hargreaves & Lhonoré. Guide complet des papillons d'Europe et d'Afrique du Nord. (Delachaux & Niestlé) ;
- Leraut. Papillons de nuit d'Europe. Volumes 1 et 4 (NAP éditions) ;
- Rasmont, et al. (2017). Hymenoptera gallica: liste des abeilles sauvages de Belgique, France, Luxembourg et Suisse. Atlas Hymenoptera, Université de Mons ;
- Rasmont & Terzo. Catalogue et clé des sous-genres et espèces du genre *Bombus* de Belgique et du nord de la France (Hymenoptera, Apoidea) (1<sup>ère</sup> édition 2006 et 2<sup>ème</sup> édition 2017).

Dans un second temps, des spécialistes ont confirmé les identifications. Les abeilles de la famille des Andrenidae ont été déterminées par M. Drossard, les Megachilidae par M. Folschweiller, les Halictidae par S. Gadoum. Les *Bombus* ont été vérifiés par P. Rasmont et B. Martinet et les *Hylaeus* par H. Dathe.

### **3.4. Analyses chimiques**

#### **3.4.1. Analyse des acides aminés**

L'analyse micro-quantitative des acides aminés est appliquée lorsque de faibles quantités de pollen sont disponibles, ce qui est souvent le cas du pollen monofloral (Vanderplanck, *et al.* 2014). Cette analyse comporte 4 étapes et a été effectuée entièrement à Gembloux Agro-Bio Tech – Ulg en collaboration avec Isabelle Van de Vreken, premier agent spécialisé au laboratoire Biomasse et technologies vertes.

##### *(1) Préparation des échantillons*

Cinq prises d'essai de 3 à 5 mg de pollen sont prélevées pour chaque espèce florale pour chacune des régions étudiées et disposées séparément dans des tubes de verre avec bouchons à visser.

Le pollen est filtré par la suite et n'a donc pas spécialement besoin d'être nettoyé et trié (morceaux de filets, d'anthere, etc.). Cependant, il est toujours intéressant de préparer un pollen le plus purifié possible.

##### *(2) Hydrolyse*

Afin d'effectuer une hydrolyse acide, 1 ml d'une solution HCl est ajouté à chacune des prises d'essai sous hotte. Les tubes sont ensuite passés sous un flux d'azote pendant 1 minute afin d'éviter toute oxydation des acides aminés lors de l'hydrolyse. Les tubes, bien fermés, sont placés à l'étuve pendant 24 heures à 110°C afin de réaliser la réaction d'hydrolyse qui permet de fracturer le grain de pollen et de scinder les protéines.

##### *(3) Evaporation et filtration*

Après 24h, les tubes sont retirés de l'étuve et placés sur glace pour les refroidir pendant 15 minutes.

La solution de chaque tube est évaporée afin de retirer toute trace d'acide. L'évaporation s'effectue sous vide en chauffant le tube dans un bain marie à 80°C (Figure 15). Les vapeurs d'acide sont ainsi aspirées et neutralisées. Dès que l'échantillon est à sec, une solution tampon est ajoutée (1 ml de tampon citrate pH 2,2).



Figure 15. Evaporation des tubes sous hotte.

Le tube est ensuite vortexé afin de remettre en solution l'hydrolysate de pollen. La solution est ensuite filtrée sur filtre seringue afin d'éviter toute introduction de particules dans le système HPLC. Le filtrat est récupéré dans un vial qui est serti.

Un blanc contenant uniquement du tampon citrate est utilisé comme contrôle négatif.

#### (4) *Chromatographie liquide sous haute pression (HPLC)*

Le principe de cette méthode est de séparer les acides aminés contenu dans chaque extrait de base afin de les quantifier (Figure 16).

Le principe de séparation par chromatographie se base sur l'affinité qu'ont les différents composés à séparer avec la phase stationnaire (gel polaire greffé sur la colonne chromatographique) et la phase mobile (liquide apolaire ou solvant). Ce cas d'HPLC particulier suit la méthode de Steine and Moore avec une variation de la phase mobile. Dans notre cas, la polarité de la phase mobile dépend des propriétés souhaitées pour retenir les différents acides aminés qui vont interagir plus ou moins forts avec la phase stationnaire. Cette rétention différentielle des acides aminés au sein de la colonne permet de les séparer. Chaque sortie d'acides aminés de la colonne est enregistrée par un détecteur sous forme d'un pic dont l'aire est proportionnelle à la quantité d'acide aminé détecté. L'ensemble de ces pics forment un chromatogramme sur base duquel il est possible d'identifier (temps de rétention) et de quantifier (aire d'intégration) chacun des acides aminés présents. Les concentrations sont précisément établies sur base du standard interne de norleucine.

Certains acides aminés ne possèdent pas de groupement chromophore et ne sont donc pas détectés par les U.V. Pour cela, une étape préalable de dérivation est nécessaire afin qu'ils puissent être détectés à une certaine longueur d'onde précise (339 nm) excepté la proline détectée à une longueur d'onde différente (262 nm) car l'atome d'azote se trouve dans un cycle. Cette étape consiste à « remplacer les atomes d'hydrogène actifs sur les groupes fonctionnels polaires OH, NH<sub>2</sub> et SH par un fragment non polaire » (Stenerson, 2011). Parmi les agents les plus utilisés, l'ortho-phthalaldehyde (OPA) est utilisé pour traiter les amines primaires comme la leucine et le 9-fluorenylmethylchloroformate (FMOC) pour les amines secondaires comme la proline.

Sources : Paramás, *et al.* 2006 ; Colomb, 2010 ; Serre, *et al.* 2016.

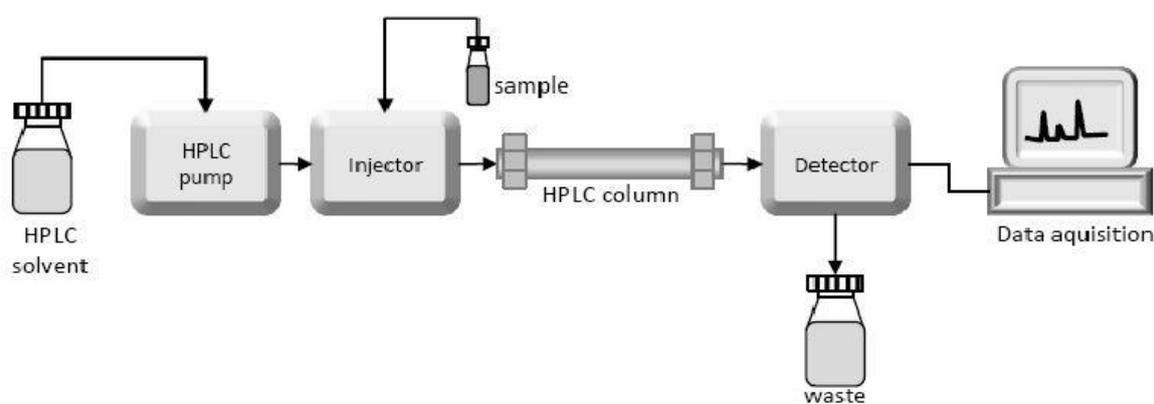


Figure 16. Processus et appareillage de chromatographie liquide sous haute pression (HPLC) (Walton, 2017).

### 3.4.2. Analyse des stérols

Cette analyse est réalisée sur base du protocole établie par Vanderplanck, *et al.* (2011). Ce protocole comporte 7 étapes. Les étapes relatives à l'extraction, la purification et la dérivation ont été réalisées à l'Université de Mons au Laboratoire de Zoologie tandis que l'étape d'analyse chromatographique a été réalisée à Gembloux Agro-Bio Tech – Ulg en collaboration avec Steven Macrez, assistant au laboratoire de chimie analytique. Le détail de chacune des étapes est présenté ci-après :

#### (1) Préparation des échantillons

Vingt milligrammes sont prélevés pour chaque espèce florale pour chacune des régions étudiées et disposées séparément dans des tubes de verre avec bouchons à visser.

Le nombre de répliques varie selon les espèces florales en fonction des disponibilités en pollen. Quatre répliques sont effectués pour la plupart, excepté *A. millefolium* de Dilbeek avec 3 répliques, *P. tanacetifolia* de Mons avec 2 répliques et *C. cyanus* de Mons qui n'était pas assez présente sur le site pour récolter suffisamment de pollen.

### (2) Saponification

2,5 ml de KOH méthanolique sont ajoutés dans chacun des tubes placés au bain-marie à 80°C pendant une heure afin de réaliser une réaction de saponification. Cette réaction à chaud permet de fracturer les grains de pollen et de générer une fraction insaponifiable insoluble dans l'eau contenant les stérols sous forme libre (hydrolyse basique).

Après refroidissement et addition du standard interne (bétuline éthanolique 0,05 mg/ml) à raison de 1 ml par échantillon, les solutions sont diluées avec 2,5 ml d'eau MilliQ.

### (3) Extraction de l'insaponifiable

Ces solutions hydroalcooliques sont extraites 3 fois avec 5 ml d'éther diéthylique afin de récupérer la fraction insaponifiable contenant entre autres les stérols, très peu solubles dans l'eau et solubles dans les solvants organiques (Figure 17). Cette opération terminée, les extraits éthers sont lavés avec 3 fois 5 ml d'eau MilliQ afin d'éliminer toute trace de la fraction saponifiable.



Figure 17. Extraction de la phase stérolique grâce à de l'éther diéthylique.

#### (4) Chromatographie sur couche mince (CCM)

Chaque extrait étheré est séché par filtration sur  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhydre, concentré sous vide, repris par 0,5 ml de chloroforme puis fractionné par chromatographie préparative sur couche mince. L'échantillon d'intérêt est déposé de façon linéaire sur la couche de silice avec de part et d'autre des spots de référence (mélange cholestérol bétuline à forte concentration) déposés à une distance empêchant toute contamination de l'échantillon.

Après élution (éluant : chloroforme/éther diéthylique/ammoniaque 90 :10 :0,5 v/v/v), les plaques sont révélées par pulvérisation de 2,7-dichlorofluorescéine à 0,2% dans l'éthanol suivie d'un examen sous U.V. (254 nm). Les bandes correspondant aux stérols ( $R_f = 0,45$ ) sont récupérés par grattage (Figure 18) et les stérols réextraits trois fois avec respectivement 5 ml, 3 ml et 3 ml de chloroforme. Le solvant est ensuite éliminé une première fois par évaporation sous vide. L'échantillon est repris par 1 ml de chloroforme et filtré sur une bourre de laine de verre rincée par 0,5 ml de chloroforme. Cette étape de filtration permet l'élimination des particules de silice présentes dans l'échantillon. Le solvant est alors éliminé une seconde fois par évaporation sous azote. Les stérols obtenus sont silylés.

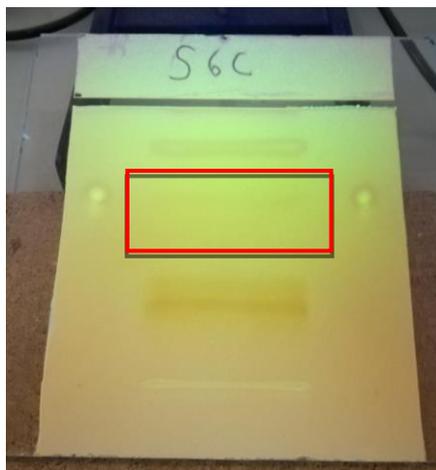


Figure 18. Chromatographie sur couche mince (CCM). L'encadré rouge représente les bandes correspondant aux stérols à récupérer.

#### (5) Silylation

Afin de pouvoir réaliser une analyse en chromatographie gazeuse, une dérivatisation des stérols est effectuée pour les rendre volatils et plus stables. La réaction est effectuée pendant 30 minutes à 90°C en présence de 100  $\mu\text{l}$  d'un mélange 1 :1 v/v de pyridine anhydre (catalyseur) et du réactif de silylation (BSTFA+1% TMCS : bissilyltrifluorocétamide contenant 1% de

triméthylchlorosilane). Les échantillons sont évaporés sous azote et repris par 200 µl de n-hexane. Ils peuvent ensuite être analysés par chromatographie en phase gazeuse (CPG).

Parallèlement à l'échantillon, des références de cholestérol/bétuline qui permettent de définir la gamme d'élution (le cholestérol est un stérol très léger et est le premier à sortir de la colonne de chromatographie, la bétuline est un alcool diterpénique qui sert de standard interne et sort après l'ensemble des composés stéroliques) et d'huile de tournesol (huile de référence dont le profil phytostérolique est caractérisé et permet de paramétrer les temps de rétention).

#### *(6) Chromatographie gazeuse (GC)*

Le principe est à peu près similaire à l'appareillage HPLC sauf que la phase mobile est un gaz et non plus un solvant (Figure 19). Toutes les 5 injections, un blanc d'hexane ainsi que les deux références précédemment citées sont injectés. La colonne choisie ici est apolaire étant donné que les molécules stéroliques le sont aussi. En effet, si le choix s'était porté sur une colonne polaire, toutes les molécules auraient tendance à s'échapper en même temps et directement de celle-ci et il aurait été compliqué de discerner le pic de chacune d'entre-elles sur le spectre.

Le détecteur est en fin de de colonne. L'échantillon est injecté et les molécules se déplacent dans la colonne grâce à la phase mobile qui est un flux de gaz la parcourant. Le solvant qui ne présente aucune affinité avec la colonne sort en premier et sature le détecteur. Il est suivi par les pics de résidus de silylation (car la réaction est réalisée en excès) puis par les composés stéroliques dont certains co-éluent, comme la fraction de 24-méthylènecholestérol et de campestérol. L'identification est basée sur les temps de rétention et la quantification s'effectue par la méthode du standard interne sur base des aires des différents pics. Il est pratiquement impossible que deux composés s'échappent en même temps de la colonne et que les pics se superposent, car l'appareil est suffisamment précis pour que l'on puisse détecter chaque type de molécule un à un sur le spectre.

NB : L'hexane qui est la substance dans laquelle on a resuspendu les stérols de notre pollen, n'a aucune affinité avec la colonne et par conséquent, n'est pas retenu. C'est pourquoi, un grand pic est généralement observé au début du spectre, il correspond à l'hexane subitement relargué.

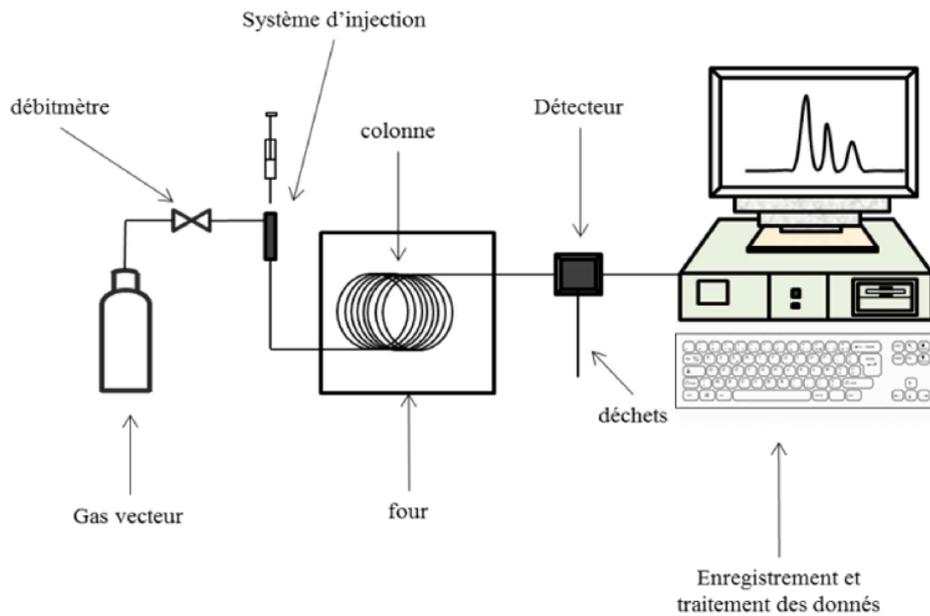


Figure 19. Processus et appareillage de chromatographie gazeuse (GC) (Van Hoi, 2013).

### 3.5. Encodage des données et analyses statistiques

L'ensemble des tests statistiques et des représentations graphiques ont été réalisés à l'aide du logiciel R Studio 2018, version 1.1.442. (The R Foundation for Statistical Computing).

#### 3.5.1. Etude de la qualité des ressources florales

Afin de comparer les concentrations totales en acides aminés (totaux et essentiels, exprimés en mg/g) et en stérols (exprimés en  $\mu\text{g/g}$ ), des analyses de la variance à deux facteurs croisés (Two-way ANOVA) ont été réalisées en considérant à la fois l'impact des pesticides (variable facteur à deux niveaux) et l'impact de l'espèce florale (variable facteur à six niveaux) ainsi que l'interaction entre ces deux facteurs (fonction `avov`). S'agissant d'un test paramétrique, les conditions d'application sont préalablement vérifiées, à savoir la normalité de la distribution des résidus (test de Shapiro,  $H_0 =$  distribution normale) et l'homoscédasticité (test de Bartlett,  $H_0 =$  égalité des variances). Dans le cas de violation de la condition de normalité, les données ont subi une transformation logarithmique ( $\log(x+1)$ ) ou ont été transformées en rang pour un équivalent non-paramétrique du test (fonction « `rnttransform` », R-package GenABEL). Lorsqu'une différence significative est détectée ( $p\text{-value} > 0,05$ ), l'hypothèse nulle est rejetée car sa probabilité d'occurrence est faible et l'analyse est complétée par un test de comparaison

multiple des moyennes paire par paire (test de Tukey). Les données sont représentées à l'aide de graphiques de type « boîte de dispersion » (boxplot).

Afin de comparer les profils en acides aminés et en stérols, des analyses multivariées de la variance par permutation (perMANOVA) sont effectuées sur les abondances relatives des composés (fonction « adonis », R-package vegan) en utilisant 999 permutations et l'indice de dissimilarité de Bray-Curtis. La condition d'égalité des matrices de variance-covariance (fonction « betadisper ») est vérifiée préalablement aux tests qui sont complétés par des analyses de comparaisons multiples en cas de significativité (fonction « pairwise.adonis »). Les données sont visualisées à l'aide de représentations de type positionnement multidimensionnel non métrique (nMDS) (R-packages ecodist, BiodiversityR et ellipse) également basé sur l'indice de dissimilarité de Bray-Curtis. Cet indice varie de 0 (similarité totale) à 1 (maximum de dissimilarité) : plus les points sont proches et plus la composition chimique (en acides aminés essentiels ou en stérols) est similaire.

### 3.5.2. Etude des visites florales

Ce chapitre constitue une étude pilote et présente une série de résultats préliminaires qui devront être complétés par des observations plus nombreuses sur un plus grand nombre de sites. Les analyses statistiques réalisées sont donc exploratoires, voire uniquement descriptives, et ne permettront pas d'inférer nos observations ni de tirer des conclusions tranchées dans le cas de cette étude.

La communauté de pollinisateurs (abondance) a été caractérisée pour chacune des espèces florales dans chacune des conditions (avec et sans pesticides), à la fois à l'échelle des principaux ordres (i.e. Coléoptères, Diptères, Hémiptères, Hyménoptères, Lépidoptères et Orthoptères) et à échelle plus fine pour les Apoidea (au moins jusqu'à la famille). Les données sont représentées sous forme de graphes en barre horizontaux. Dans le cas des abondances des pollinisateurs de type Apoidea, des tests appariés ont été réalisés afin d'établir si l'utilisation de pesticides influençait le nombre total de visites ainsi que les proportions des visiteurs floraux selon leurs traits fonctionnels (lectisme, socialité, mode de nidification, longueur de langue), à la fois en terme d'espèces et d'individus. Le recours à des tests appariés permet de prendre en compte l'effet « espèce florale » en considérant les données mesurées sur une même espèce dans les deux conditions comme étant appariées/dépendantes. Lorsque les conditions d'application sont remplies (normalité et homoscedasticité), un test de student apparié (fonction « t.test »,

argument paired) est appliqué au jeu de données. Dans le cas d'une violation de l'une des conditions d'application, une transformation logarithmique est appliquée aux jeux de données.

## IV. Résultats

---

### 4.1. Caractérisation du profil chimique du pollen

#### 4.1.1. Analyses de la composition stérolique totale du pollen pour l'ensemble des espèces florales étudiées

L'ensemble des pollens floraux possèdent une concentration absolue globale en stérols similaire sur les deux sites (Figure 20). Seul le pollen de *Helianthus annuus* présente une concentration en stérols plus élevée sur le site sans pesticides (97,6 mg/g) comparé au site avec pesticides (6,6 mg/g). Cependant, les analyses statistiques n'ont détecté aucune différence significative au niveau de la condition du site. Les tests, réalisés en excluant le pollen de *Helianthus annuus* montrent que les résultats ne varient pas fortement. Le pollen de *Zea mays*, contient une teneur en stérols supérieure (36,2 mg/g sans pesticides et 41,5 mg/g avec pesticides) comparée aux autres espèces florales (variant 2,4 à 19,3 mg/g). Le dosage de la composition en stérols de *Centaurea cyanus* sur le site sans pesticides n'a pas pu être mesuré dû à la récolte disponible insuffisante.

Du point de vue de la composition stérolique, les espèces florales sont significativement différentes ( $F_{5,16} = 4.074$ ,  $p = 0.014$ ). Les concentrations peuvent être visualisées à l'annexe 1. Aucun pic de cholestérol n'a été détecté dans le pollen de *Malva sylvestris* pour les deux sites mais l'ensemble des stérols se retrouvent généralement dans les espèces florales en concentrations variables. Le  $\beta$ -sitostérol est un des composants majeurs en termes de fréquence et d'abondance dans le pollen des espèces de plantes étudiées. Le stigmastérol, le  $\delta 7$ -stigmastérol et le  $\delta 7$ -avenastérol sont trois composés présents dans tous les pollens mais en concentrations moins élevées par rapport au  $\beta$ -sitostérol, bien que le  $\delta 7$ -stigmastérol et le  $\delta 7$ -avenastérol soient plus abondants dans le pollen d'*Helianthus annuus*. D'autres stérols peuvent être observés, le phytostérol  $\delta 5$ -avenastérol est présent en concentration considérable dans les pollens de *Phacelia tanacetifolia* et de *Zea mays*. Les phytostérols 24-méthylènecholestérol/campestérol ne peuvent pas être dissociés, cependant, il est possible de remarquer qu'ils sont bien présents chez *Helianthus annuus*, *Malva sylvestris* et *Zea mays*.

En revanche, aucun effet site ni effet combinatoire entre le site et l'espèce florale n'ont été détectés.

Les pourcentages des concentrations en stérols de chaque espèce florale sont repris pour les deux sites dans l'annexe 2.

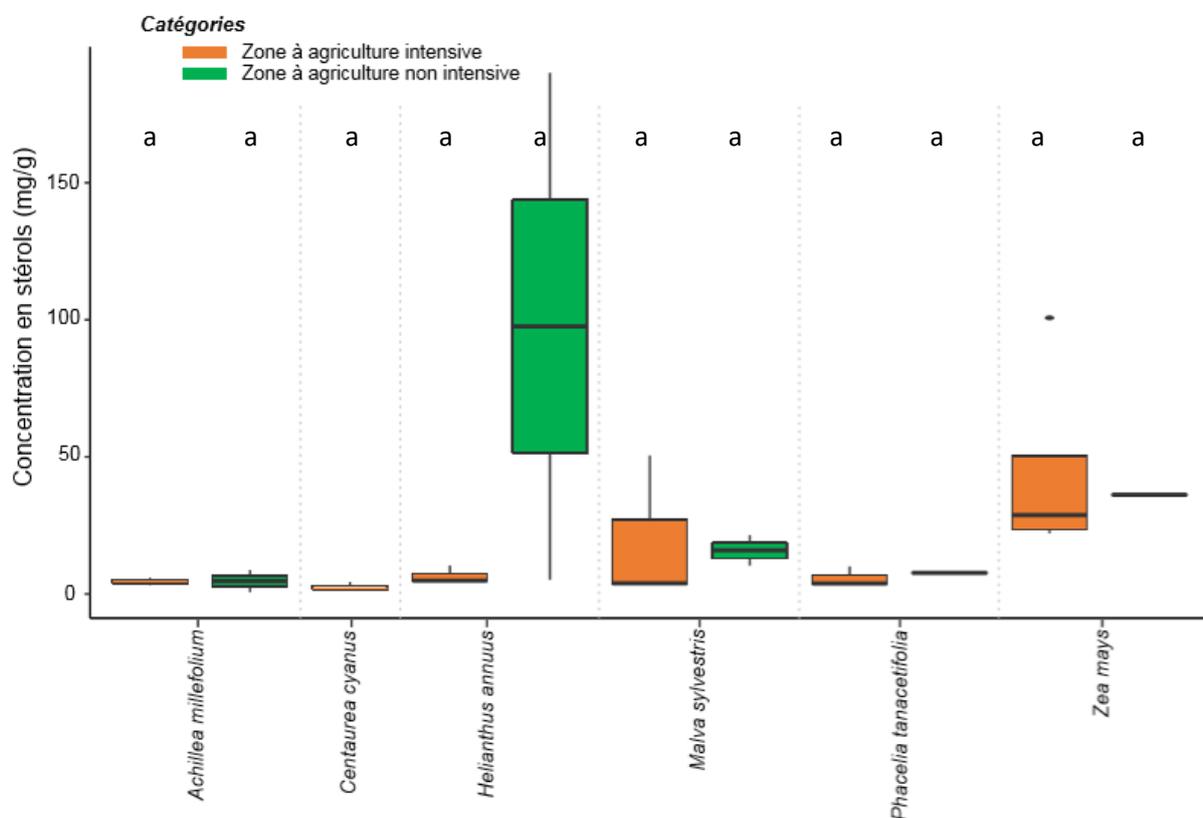


Figure 20. Comparaison des concentrations absolues en stérols (en mg/g) contenu dans le pollen de chacune des espèces florales associées à chaque fois aux sites avec et sans pesticides. Les boîtes marquées de la même lettre ne sont pas significativement différentes entre elles. Tests effectués : ANOVA à deux facteurs et Tukey.

L'analyse multivariée, représentée à la Figure 21, suggère que les Asteraceae (*Achillea*, *Centaurea* et *Helianthus*) se discriminent par rapport aux autres espèces florales par une teneur en  $\beta$ -sitostérol,  $\delta 7$ -avenastérol,  $\delta 7$ -stigmastérol et cholestérol prépondérants. En effet, l'orientation des vecteurs démontrent que *Helianthus annuus* contient une concentration en  $\delta 7$ -avenastérol plus importante, *Centaurea cyanus* se caractérise par des taux en  $\delta 7$ -avenastérol et en  $\delta 7$ -stigmastérol plus élevés et *Achillea millefolium* présente un pollen plus riche en  $\beta$ -sitostérol, en cholestérol et en  $\delta 7$ -stigmastérol.

La perMANOVA confirme que des différences significatives existent entre les compositions stéroliques relatives des différents pollens étudiés ( $F_{5,16} = 4.66$ ,  $p < 0.001$ ). Le pollen de *Malva sylvestris* a tendance à contenir une teneur plus élevée en  $\beta$ -sitostérol et desmostérol. Les autres

plantes (*Phacelia tanacetifolia* et *Zea Mays*) sont, quant à elles, caractérisées par des concentrations prépondérantes en  $\delta 5$ -avenastérol et en stigmastérol. Cependant, la représentation nMDS ne permet pas de caractériser clairement les pollens des autres espèces analysées (Stress value = 0,15 ; R<sup>2</sup> = 0,83).

Sur base de la condition du site, aucune différence significative n'a été détectée.

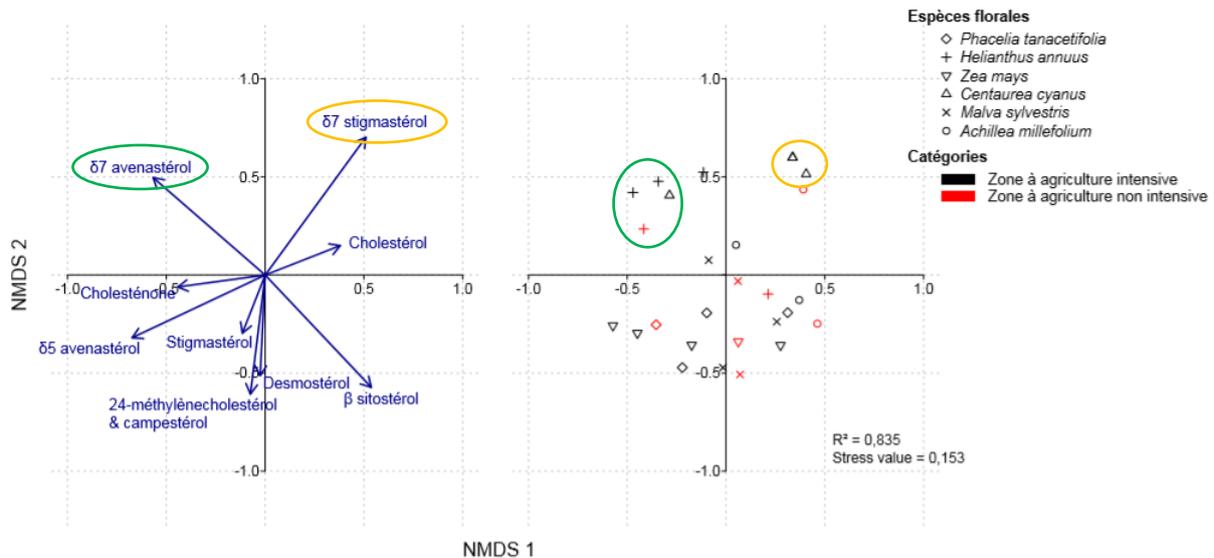


Figure 21. Représentation nMDS à deux axes (espace des individus) basée sur les distances de Bray-Curtis calculées sur les concentrations relatives des composés stéroliques ( $\mu\text{g/g}$ ) dans les différents pollens floraux. A gauche, chaque vecteur représente un composé stéroliques indiqué sur le graphe. A droite, chaque symbole représente un échantillon. La distance entre deux points reflète leur dissimilarité : plus des points sont distants, plus leur composition stéroliques est différente (stress value = 0,15 ;  $r^2 = 0,83$ ). L'ellipse verte démontre la proportion de  $\delta 7$ -avenastérol dans le pollen de *Helianthus annuus* et l'ellipse jaune démontre la proportion de  $\delta 7$ -stigmastérol dans le pollen de *Centaurea cyanus*.

#### 4.1.2. Analyses de la composition en acides aminés totaux et essentiels du pollen pour l'ensemble des espèces florales étudiées

L'analyse des composés en acides aminés du pollen (concentrations absolues) montre des différences marquantes entre les espèces florales, mais dans ce cas-ci, dépend également des conditions du site. Sur la Figure 22, différents groupes sont distingués : les espèces *Achillea millefolium* (18,48 mg/g), *Malva sylvestris* (16,25 mg/g) et *Zea mays* (17,97 mg/g) comportent un pollen moins enrichi en acides aminés totaux sur le site sans pesticides ; contrairement à

*Centaurea cyanus*, *Phacelia tanacetifolia* et *Helianthus annuus* ayant des teneurs plus élevées (entre 25 et 35 mg/g). De plus, une différence de concentration est clairement visible entre les sites dans le cas de *Helianthus annuus* (24 et 32 mg/g), *Malva sylvestris* (16 et 28 mg/g) et *Zea mays* (17 et 31 mg/g) où le taux d'acides aminés totaux est largement plus élevé sur le site avec pesticides.

Par ailleurs, toutes les espèces présentent une composition similaire en acides aminés totaux. Les concentrations peuvent être visualisées à l'annexe 3. Aucune espèce florale n'est déficiente pour un quelconque acide aminé. La concentration de ces acides aminés est variable chez toutes les plantes ; cependant, des tendances peuvent être observées. En effet, dans le cas où la teneur en acides aminés est nettement différente entre les deux sites, la proportion de certains acides aminés sont pratiquement semblables. La concentration de certains acides aminés tels que l'arginine, la lysine, l'histidine et la tyrosine sont plus élevés (près de 3 fois supérieure au site sans pesticides) tandis que des acides aminés comme l'acide glutamique et l'acide aspartique se retrouvent en concentration plus faible (2 à 3 fois inférieure comparé au site sans pesticides). L'analyse de variance a confirmé que la composition en acides aminés totaux varie significativement en fonction de l'espèce florale ( $F_{5,32} = 16.39$ ,  $p = 5.09 \times 10^{-8}$ ), des conditions du site ( $F_{1,32} = 43.22$ ,  $p = 2.08 \times 10^{-7}$ ) et également dans le cas d'une association entre la plante et le site ( $F_{5,32} = 6.053$ ,  $p = 0.000474$ ).

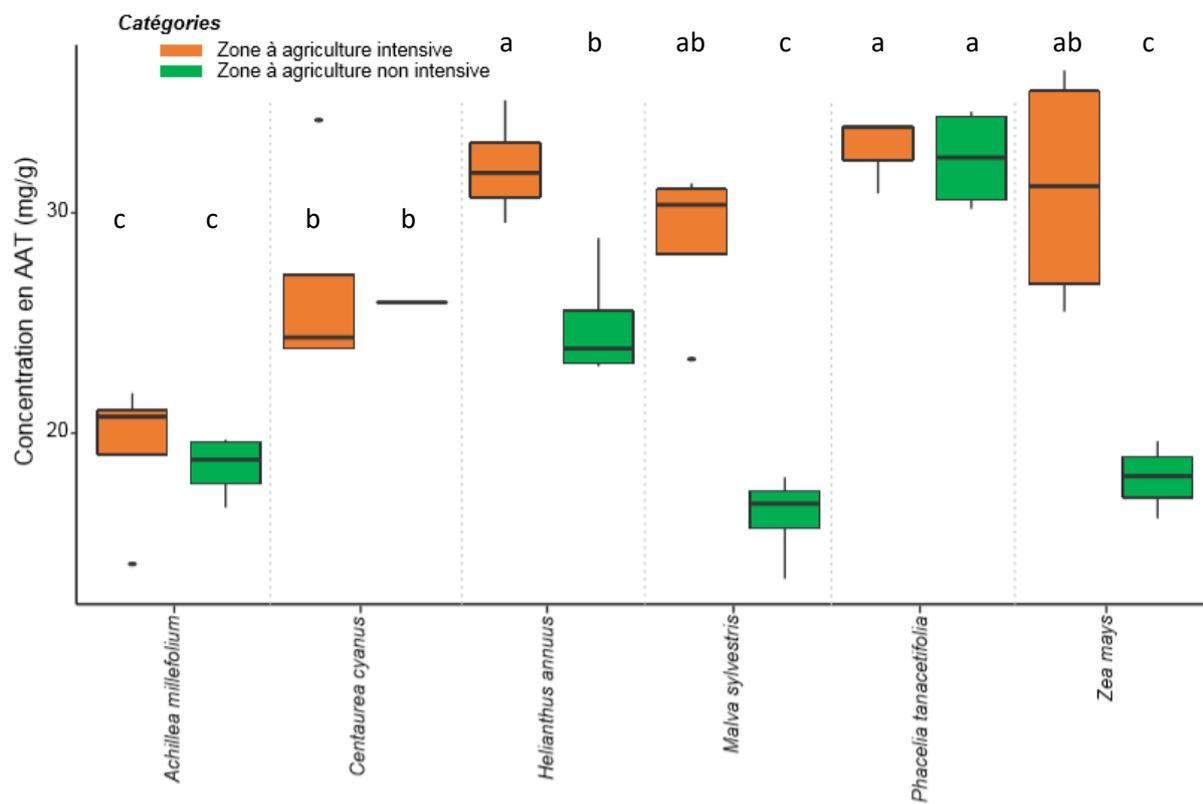


Figure 22. Comparaison des concentrations absolues en acides aminés totaux en mg/g contenu dans le pollen de chacune des espèces florales associées à chaque fois aux sites avec et sans pesticides. Les boîtes marquées de la même lettre ne sont pas significativement différentes entre elles. Tests effectués : ANOVA à deux facteurs et Tukey.

En ce qui concerne la teneur en acides aminés essentiels, les concentrations peuvent être visualisées à l'annexe 4. L'ensemble des espèces florales se comporte relativement de la même manière que les acides aminés totaux (concentrations absolues) (Figure 23). Cette teneur est généralement plus élevée que celle en acides aminés non essentiels, ce qui est plutôt normal étant donné que 9 des 15 acides aminés étudiés sont essentiels. Lorsque la différence du taux en acides aminés est plus faible entre les deux sites, la teneur en acides aminés essentiels est similaire dans les deux échantillons (11 mg/g pour *Achillea millefolium* et 19 mg/g pour *Phacelia tanacetifolia*) alors que dans le cas où la différence est mieux marquée, le taux en acides aminés est largement plus élevé sur un site exposé aux pesticides. Par exemple, les acides aminés essentiels contenus dans le pollen de *Malva sylvestris* (10 et 20 mg/g) et de *Zea mays* (9,8 et 19 mg/g) sont 2 fois plus présents sur le site avec pesticides. Une différence est également

présente mais toutefois moins marquée pour les pollens de *Centaurea cyanus* (14 et 17,4 mg/g) et *Helianthus annuus* (15 et 21 mg/g).

L'analyse de variance a confirmé que la composition en acides aminés varie significativement en fonction de l'espèce florale ( $F_{5,32} = 16.08$ ,  $p = 6.30 \times 10^{-8}$ ), des conditions du site ( $F_{1,32} = 68.52$ ,  $p = 1.86 \times 10^{-9}$ ) et également dans le cas d'une association entre la plante et le site ( $F_{5,32} = 8.415$ ,  $p = 3.63 \times 10^{-5}$ ).

Les pourcentages des concentrations en acides aminés totaux et essentiels de chaque espèce florale sont repris pour les deux sites dans l'annexe 5.

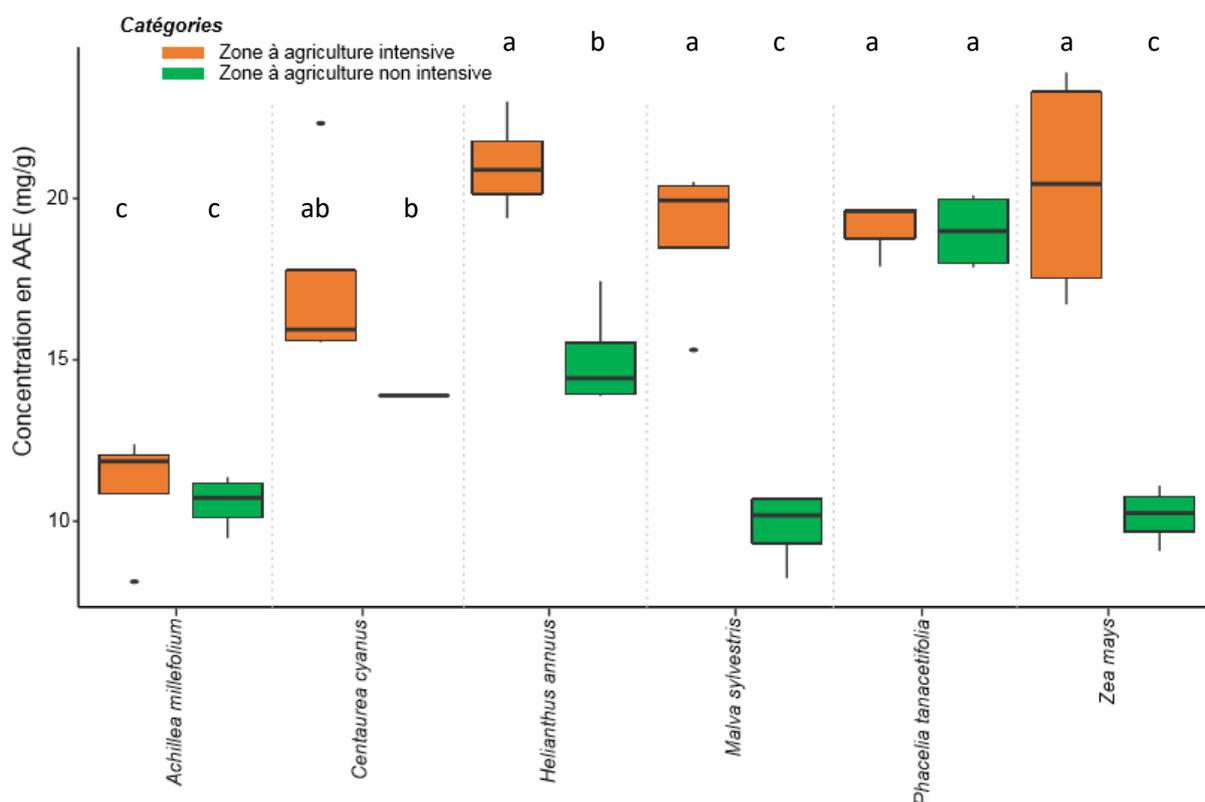


Figure 23. Comparaison des concentrations absolues en acides aminés essentiels en mg/g contenu dans le pollen de chacune des espèces florales associées à chaque fois aux sites intensément exposés ou non aux pesticides. Les boîtes marquées de la même lettre ne sont pas significativement différentes entre elles. Tests effectués : ANOVA à deux facteurs et Tukey.

L'analyse multivariée (Figure 24) suggère une répartition non homogène des échantillons (concentrations relatives). Deux groupes ont pu être discriminés. En effet, l'orientation des

vecteurs démontrent que *Centaurea cyanus*, *Helianthus annuus*, *Malva sylvestris* et *Zea mays* peuvent fortement varier selon la condition. Sur un site sans pesticides, elles possèdent des concentrations considérables en arginine, histidine, phenylalanine et tyrosine. Contrairement à cela, leur équivalent exposé aux pesticides est plus riche en acide glutamique, acide aspartique, alanine, glycine, serine, thréonine et valine. Les espèces *Achillea millefolium* et *Phacelia tanacetifolia* ne présentent de différence significative et sont quant à elles regroupées avec le site exposé aux pesticides, et ce, peu importe leurs conditions.

La perMANOVA confirme ces tendances par un effet plante ( $F_{5,32} = 402.24$ ,  $p < 0.001$ ), un effet site ( $F_{1,32} = 2637.37$ ,  $p < 0.001$ ) et un effet où la plante est associée au site ( $F_{5,32} = 316.84$ ,  $p < 0.001$ ). Cette représentation nMDS est fiable (Stress value = 0,04 ;  $R^2 = 0,994$ ).

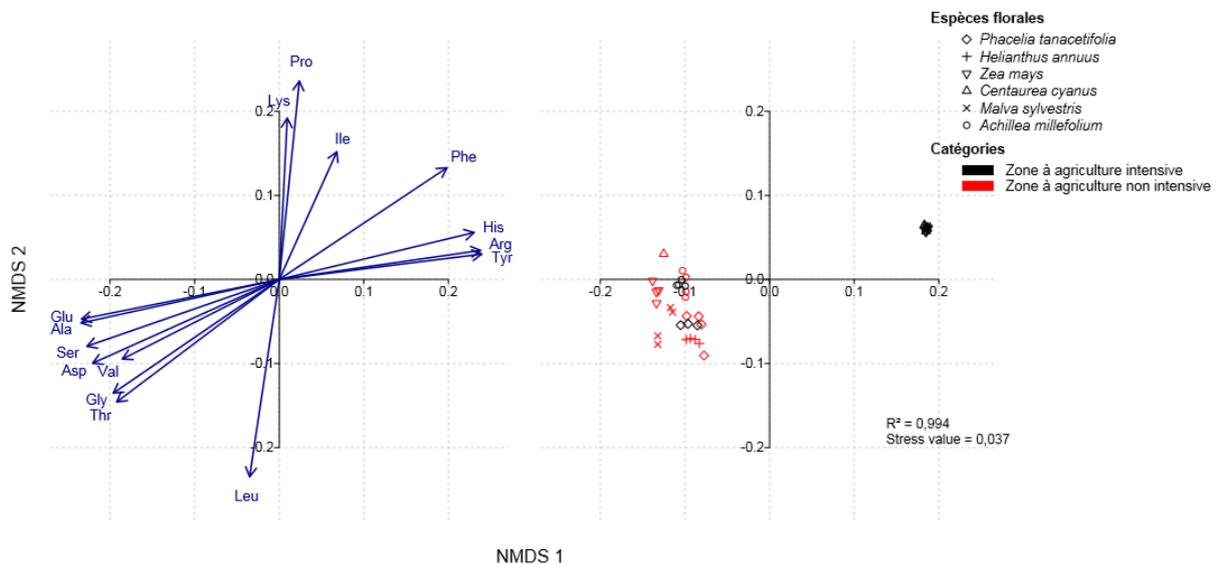


Figure 24. Représentation nMDS à deux axes basée (espace des individus) basée sur les distances de Bray-Curtis calculées sur les quantités relatives des acides aminés (mg/g) dans les différents pollens floraux. A gauche, chaque vecteur représente un acide aminé indiqué sur le graphe. A droite, chaque symbole représente un échantillon. La distance entre deux points reflète leur dissimilarité : plus des points sont distants, plus leur composition en acides aminés est différente (stress value = 0,037 ;  $R^2 = 0,994$ ).

## 4.2. Caractérisation générale des principaux visiteurs floraux

### 4.2.1. Communautés de visiteurs associés aux plantes

Les visites varient selon les espèces de plantes en termes d'abondance et de richesse florale.

Les résultats présentés dans la Figure 25 (a-e) montrent que la diversité des pollinisateurs visitant les espèces florales est équivalente dans les deux types de paysage et provient de ces 6 ordres : Coleoptera, Diptera, Hemiptera, Hymenoptera, Lepidoptera et Orthoptera. En termes de diversité, deux ordres se retrouvent systématiquement sur chacune des plantes, ce sont les Hymenoptera et les Diptera. L'espèce *Achillea millefolium* est la plante pollinisée par le plus grand nombre d'ordres (5). Ensuite, *Helianthus annuus* et *Malva sylvestris* présentent 4 ordres et finalement *Centaurea cyanus* et *Papaver rhoeas* ont une diversité de pollinisateurs plus restreinte avec 3 ordres.

En ce qui concerne la fréquence des pollinisateurs, pour les deux sites confondus, la plante la plus visitée est *Helianthus annuus* (1766 visites florales), alors que la moins visitée est *Achillea millefolium* (44 visites florales). *Centaurea cyanus* est visitée 139 fois, *Malva sylvestris* 169 fois et *Papaver rhoeas* 91 fois.

La fréquence de visiteurs est plus abondante dans un paysage agricole que sur un site « biologique » pour *Achillea millefolium* (visites florales totales : 25 comparé à 19), *Centaurea cyanus* (visites florales totales : 78 comparé à 61), *Helianthus annuus* (visites florales totales : 1206 comparé à 561) et *Papaver rhoeas* (visites florales totales : 53 comparé à 38) tandis que l'on observe la tendance inverse pour *Malva sylvestris* (visites florales totales : 125 comparé à 44).

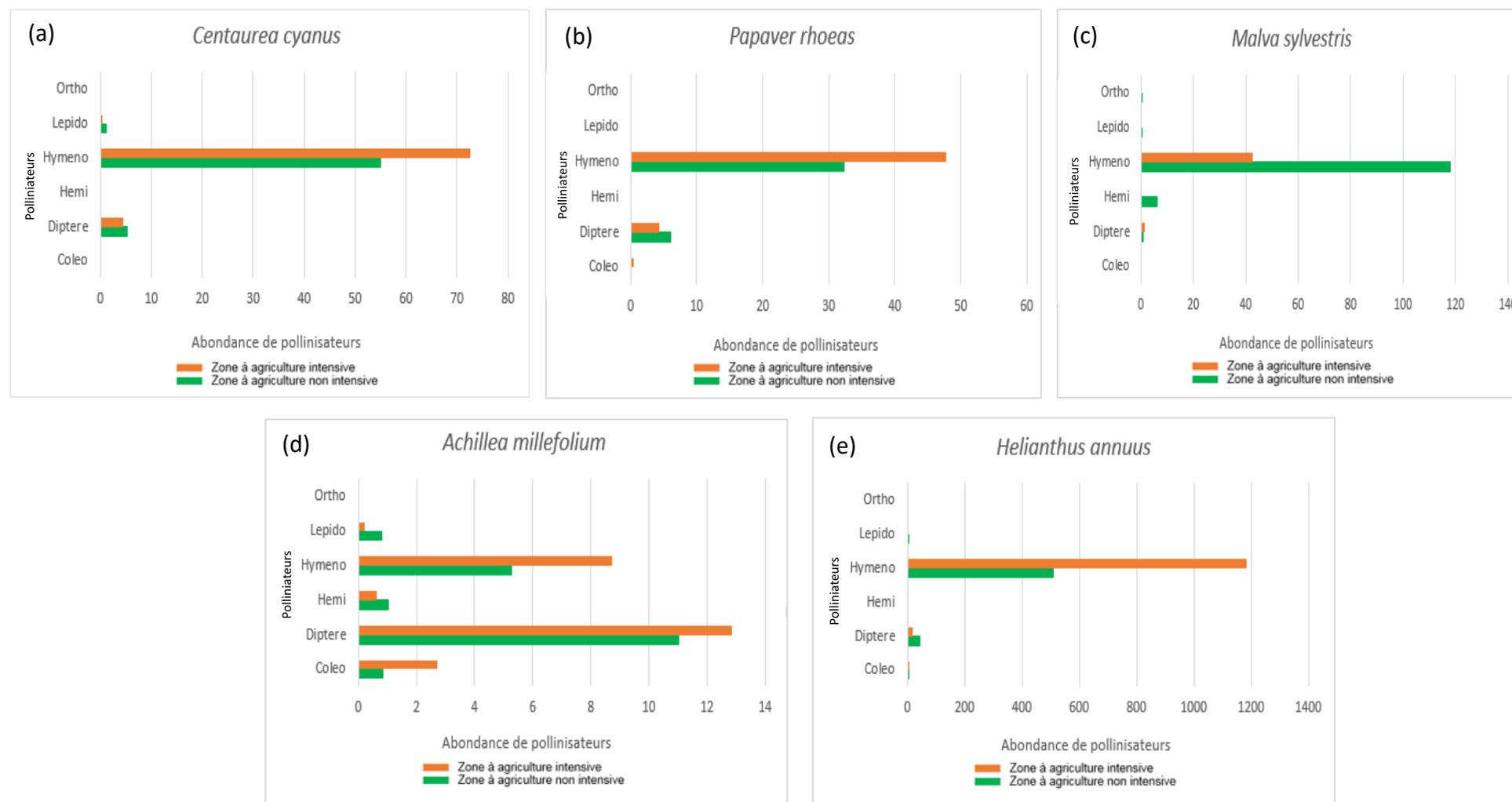


Figure 25. Abondance des ordres de visiteurs pour 100 unités florales lors d'une journée d'étude type visitant (a) *Centaurea cyanus* à Mons (n=61) et à Dilbeek (n=78) ; (b) *Papaver rhoeas* à Mons (n=39) et à Dilbeek (n=53) ; (c) *Malva sylvestris* à Mons (n=125) et à Dilbeek (n=44) ; (d) *Achillea millefolium* à Mons (n=17) et à Dilbeek (n=23) ; (e) *Helianthus annuus* à Mons (n=560) et à Dilbeek (n=1206) pour 100 inflorescences lors d'une journée d'étude type. L'unité florale est estimée sur une standardisation de 100 fleurs pour *Centaurea cyanus*, *Malva sylvestris* et *Papaver rhoeas* et 100 inflorescences pour *Achillea millefolium* et *Helianthus annuus*.

## 4.2.2. Communautés d'abeilles associées aux plantes

### 4.2.2.1. Diversité et intensité des visites florales

Les résultats décrits dans cette section se focalisent sur les visites des pollinisateurs apiformes. La Figure 26 (a-e) montre que la diversité des abeilles est de manière générale semblable dans les deux types de paysage. Il est possible de discerner différentes familles d'abeilles : Andrenidae, Colletidae, Halictidae, Megachilidae et Apidae reprenant les espèces *Apis mellifera*, *Bombus lapidarius*, *Bombus pascuorum*, *Bombus pratorum* et *Bombus terrestris* qui ont pu être identifiées à l'œil nu.

En termes de diversité, deux familles se retrouvent systématiquement sur chacune des plantes, ce sont les Andrenidae et les Apidae. L'espèce *Achillea millefolium* est la plante visitée par le plus grand nombre de familles, à savoir les 5 présentées ci-dessus. Ensuite, *Centaurea cyanus*, *Malva sylvestris* et *Papaver rhoeas* présentent 3 familles différentes (Andrenidae, Apidae et Halictidae) et finalement *Helianthus annuus* possède une diversité de pollinisateurs plus restreinte avec seulement 2 familles (Andrenidae et Apidae).

En ce qui concerne la fréquence des pollinisateurs, pour les deux sites confondus, la plante la plus visitée est *Helianthus annuus* (2127 visites florales), alors que la moins visitée est *Achillea millefolium* (7 visites florales en moyenne). *Centaurea cyanus* est visitée 94 fois, *Malva sylvestris* 162 fois et *Papaver rhoeas* 68 fois.

La fréquence de visiteurs ne dépend pas directement du paysage, mais essentiellement de l'espèce florale. Trois d'entre elles sont plus abondantes sur le site sans pesticides : *Achillea millefolium* (visites florales totales : 5 comparé à 2), *Centaurea cyanus* (visites florales totales : 50 comparé à 44), *Malva sylvestris* (visites florales totales : 120 comparé à 42) ; contrairement à *Helianthus annuus* (visites florales totales : 1269 comparé à 858) et *Papaver rhoeas* (visites florales totales : 35 comparé à 33) plus abondantes dans le paysage agricole.

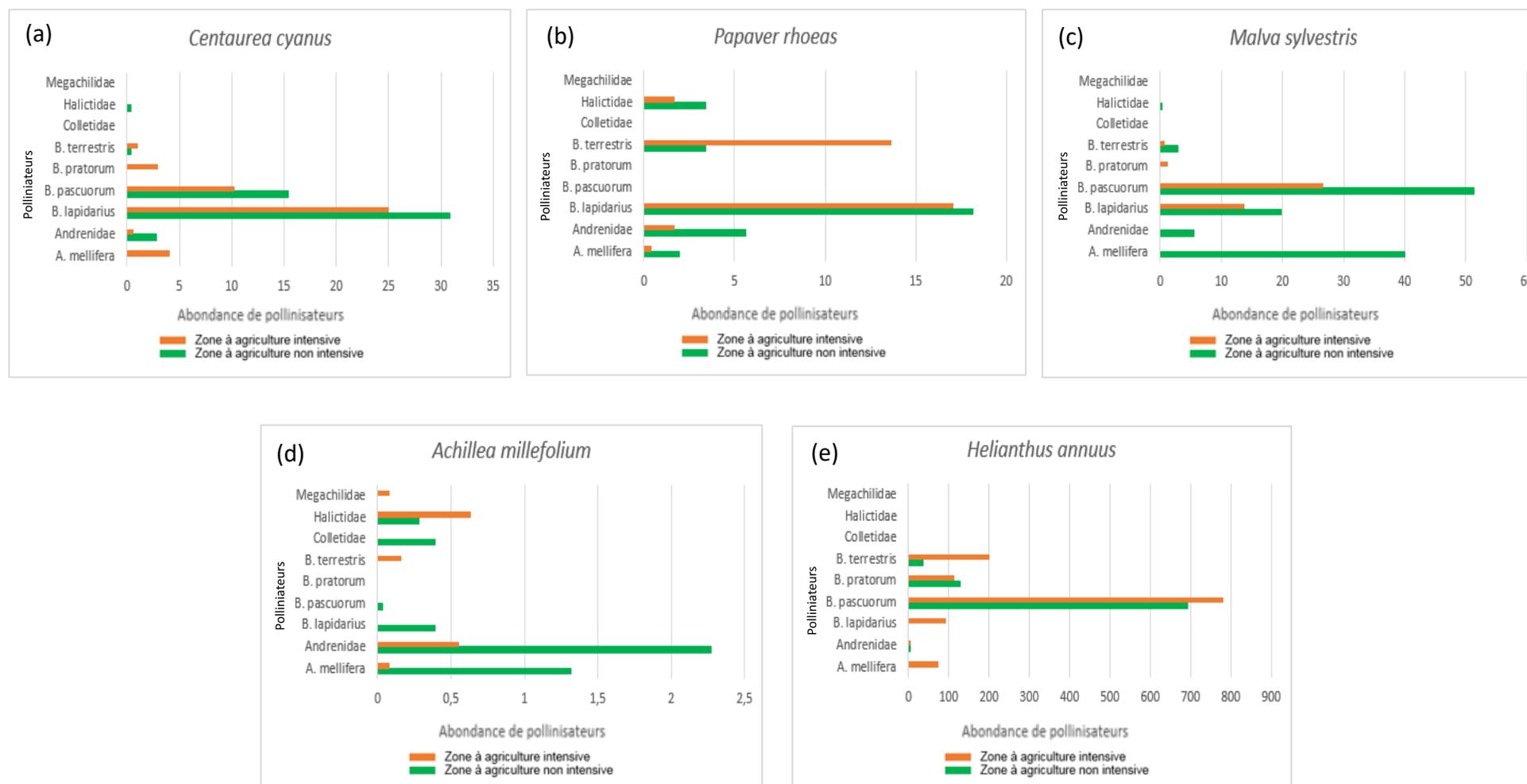


Figure 26. Abondance des visiteurs apiformes pour 100 unités florales lors d’une journée d’étude type visitant (a) *Centaurea cyanus* à Mons (n=50) et à Dilbeek (n=43) ; (b) *Papaver rhoeas* à Mons (n=32) et à Dilbeek (n=35) ; (c) *Malva sylvestris* à Mons (n=120) et à Dilbeek (n=43) ; (d) *Achillea millefolium* à Mons (n=4,7) et à Dilbeek (n=1,5) ; (e) *Helianthus annuus* à Mons (n=857) et à Dilbeek (n=1268). L’unité florale est estimée sur une standardisation de 100 fleurs pour *Centaurea cyanus*, *Malva sylvestris* et *Papaver rhoeas* et 100 inflorescences pour *Achillea millefolium* et *Helianthus annuus*.

En analysant de manière détaillée la diversité des pollinisateurs, on s'aperçoit que pour chaque espèce florale, des espèces dominent largement dans le groupe des Apidae. Ainsi donc, *Centaurea cyanus* est préférentiellement pollinisée par *Bombus lapidarius* (62% des visites florales à Mons et 57% à Dilbeek) et *Bombus pascuorum* (31% des visites florales à Mons et 23% à Dilbeek) sur les deux sites. Deux espèces sont plus abondantes que les autres pour *Papaver rhoeas* : *B. lapidarius* (55% des visites florales à Mons et 50% à Dilbeek) sur les deux sites et *B. terrestris* (40% des visites florales) uniquement à Dilbeek. Concernant *Malva sylvestris*, 3 pollinisateurs la caractérise principalement, *Bombus lapidarius* (17% des visites florales à Mons et 33% à Dilbeek) et *Bombus pascuorum* (43% des visites florales à Mons et 55% à Dilbeek) sur les deux sites et *Apis mellifera* (33% des visites florales) uniquement à Mons. *Achillea millefolium* présente, quant à elle, une abondance d'*Apis mellifera* (28% des visites florales) surtout à Mons et *Helianthus annuus* accueille essentiellement du *Bombus pascuorum* (80% des visites florales à Mons et 62% à Dilbeek) sur les deux sites.

#### 4.2.2.2. Comparaison des visites florales sur les sites via des traits écologiques fonctionnels

Le Tableau 3, ci-dessous, représente les traits écologiques choisis avec leurs différents niveaux pour comparer les visites florales sur les deux sites.

Tableau 3. Ensemble des traits écologiques sélectionné pour différentes espèces et familles d'abeilles. Tableau établi sur base des spécimens collectés sur le terrain.

<b>Taxons</b>	<b>Spécialisation</b>	<b>Longueur de langue</b>	<b>Socialité</b>	<b>Nidification</b>
<i>Apis mellifera</i>	Polylectique	Longue	Social	Au-dessus du sol En dessous du sol
Andrenidae ( <i>Andrena flavipes</i> )	Polylectique	Courte	Solitaire	En dessous du sol
<i>Bombus lapidarius</i>	Polylectique	Longue	Social	En dessous du sol
<i>Bombus pascuorum</i>	Polylectique	Longue	Social	Au-dessus du sol
<i>Bombus pratorum</i>	Polylectique	Longue	Social	Au-dessus du sol En dessous du sol
<i>Bombus terrestris</i>	Polylectique	Longue	Social	En dessous du sol

Colletidae ( <i>Colletes daviesanus</i> )	Oligolectique	Courte	Solitaire	Au-dessus du sol En dessous du sol
Halictidae ( <i>Lasioglossum morio, Sphecodes monilicornis, Sphecodes pellucidus</i> )	Polylectique	Courte	Cleptoparasites Social	En dessous du sol
Megachilidae ( <i>Osmia cornuta</i> )	Polylectique	Longue	Solitaire	Au-dessus du sol

Le nombre total de visites et l'ensemble des traits écologiques des espèces d'abeilles des sites avec et sans pesticides sont présentées dans le Tableau 4. Les tests appariés effectués montrent que les espèces florales *Achillée millefolium*, *Malva sylvestris* et *Papaver rhoeas* sont visitées beaucoup plus dans un paysage moins exposé aux pesticides comparé à *Centaurea cyanus* et *Helianthus annuus* qui sont plus visitées dans un paysage agricole. De manière globale, les tests appariés permettent de discerner des proportions selon une espèce florale associée à son site.

Les cinq espèces florales sont généralement pollinisées par des espèces polylectiques (proportion minimale de 75%), les résultats sont similaires en terme d'individus (proportion minimale de 78,2%).

Les espèces florales sont peu visitées par des espèces solitaires (proportion maximale d'espèces solitaires de 30%), uniquement *Achillea millefolium* est en visitée en bonne partie par des espèces solitaires (de 41,7 à 50%). Les résultats sont d'autant plus parlants en termes d'individus. Ils indiquent que ces mêmes espèces florales attirent moins les pollinisateurs solitaires, et ce, de manière considérable (jusqu'à 29,5% pour *Papaver rhoeas* à Mons et moins de 5% pour les 3 autres plantes). Par contre, le nombre d'individus solitaires visitant *Achillea millefolium* est très marqué (60% Mons et 65,5% à Dilbeek).

Les cinq espèces florales sont généralement peu visitées par des espèces nichant au-dessus du sol (proportion maximale de 37,5%, excepté 100% pour *Centaurea cyanus* à Mons). Les résultats varient significativement en termes d'individus où la proportion d'espèces polylectiques est plus élevée pour *Helianthus annuus* (proportion minimale de 86,7%) et *Malva sylvestris* (proportion minimale de 56,7%). Les données indiquent de manière significative que l'ensemble des espèces florales sont majoritairement visitées par des espèces nichant au-dessus du sol à Dilbeek, à l'exception de *Malva sylvestris* plus visitée à Mons par ce type de

pollinisateurs et la proportion de *Papaver rhoeas* équivalente sur les deux sites. Le nombre d'individus montre également cette tendance.

Finalement, l'ensemble des espèces florales sont généralement pollinisées par des espèces à langue longue, fortement pour *Centaurea cyanus*, *Helianthus annuus*, *Malva sylvestris* (proportions allant de 66,7% à 100%) et moins tendancieux pour *Papaver rhoeas* (proportion minimale de 60%). Par contre, *Achillea millefolium* est nettement moins pollinisée par ce type de pollinisateurs (proportions allant de 40% à 50%). Ces mêmes résultats sont observés en termes d'individus.

Lors de cette étude, peu de différences significatives ont été mises en évidence et montrent qu'un paysage avec des concentrations en pesticides plus élevées affectent faiblement les traits écologiques des abeilles. En revanche, le trait des abeilles nichants au-dessus du sol en termes d'individus est significativement plus important sur le site avec pesticides que sur le site biologiquement sain ( $t = -4.0973$ ,  $df = 4$ ,  $p\text{-value} = 0.01489$ ).

Tableau 4. Comparaison du nombre de visites florales et de l'abondance des abeilles selon leurs traits écologiques à l'échelle de l'espèce et de l'individu pour les deux sites : spécialisation alimentaire, socialité, nidification, longueur de la langue.

	Zone à agriculture non intensive	Zone à agriculture intensive
<b>Nombre total de visites</b>		
<i>Achillea millefolium</i>	175	55
<i>Centaurea cyanus</i>	767	989
<i>Helianthus annuus</i>	1803	2691
<i>Malva sylvestris</i>	5653	1685
<i>Papaver rhoeas</i>	711	492
Statistiques	t = 1.2254, df = 4, p-value = 0.2876	
<b>Proportions de visiteurs polylectiques en termes d'espèces</b>		
<i>Achillea millefolium</i>	75	90
<i>Centaurea cyanus</i>	90	100
<i>Helianthus annuus</i>	100	100
<i>Malva sylvestris</i>	90	100
<i>Papaver rhoeas</i>	90	90
Statistiques	t = -2.3333, df = 4, p-value = 0.07996	
<b>Proportions de visiteurs polylectiques en termes d'individus</b>		
<i>Achillea millefolium</i>	82,3	78,2
<i>Centaurea cyanus</i>	99,7	100,0
<i>Helianthus annuus</i>	100,0	100,0
<i>Malva sylvestris</i>	99,9	100,0
<i>Papaver rhoeas</i>	92,3	97,7
Statistiques	t = -0.22544, df = 4, p-value = 0.8327	
<b>Proportions de visiteurs solitaires en termes d'espèces</b>		
<i>Achillea millefolium</i>	41,7	50,0
<i>Centaurea cyanus</i>	30,0	17,0
<i>Helianthus annuus</i>	25,0	17,0
<i>Malva sylvestris</i>	17,0	0
<i>Papaver rhoeas</i>	30,0	30,0
Statistiques	t = 1.3048, df = 4, p-value = 0.262	
<b>Proportions de visiteurs solitaires en termes d'individus</b>		
<i>Achillea millefolium</i>	60,0	65,5
<i>Centaurea cyanus</i>	4,5	1,2
<i>Helianthus annuus</i>	0,6	0,6
<i>Malva sylvestris</i>	2,7	0
<i>Papaver rhoeas</i>	29,5	9,1
Statistiques	t = 0.96247, df = 4, p-value = 0.3903	

<b>Proportions de visiteurs nichant au-dessus du sol en termes d'espèces</b>		
<i>Achillea millefolium</i>	33,3	30,0
<i>Centaurea cyanus</i>	100,0	33,3
<i>Helianthus annuus</i>	37,5	33,3
<i>Malva sylvestris</i>	25,0	37,5
<i>Papaver rhoeas</i>	10,0	10,0
Statistiques		t = 0.74424, df = 4, p-value = 0.4981
<b>Proportions de visiteurs nichant au-dessus du sol en termes d'individus</b>		
<i>Achillea millefolium</i>	21,7	78,2
<i>Centaurea cyanus</i>	33,2	100,0
<i>Helianthus annuus</i>	86,7	100,0
<i>Malva sylvestris</i>	56,7	100,0
<i>Papaver rhoeas</i>	3,0	97,7
Statistiques		t = -4.0973, df = 4, p-value = 0.01489
<b>Proportions de visiteurs à langue longue en termes d'espèces</b>		
<i>Achillea millefolium</i>	50,0	40,0
<i>Centaurea cyanus</i>	80,0	83,3
<i>Helianthus annuus</i>	75,0	83,3
<i>Malva sylvestris</i>	66,7	100,0
<i>Papaver rhoeas</i>	60,0	60,0
Statistiques		t = -0.9656, df = 4, p-value = 0.3889
<b>Proportions de visiteurs à langue longue en termes d'individus</b>		
<i>Achillea millefolium</i>	36,0	12,7
<i>Centaurea cyanus</i>	95,2	98,8
<i>Helianthus annuus</i>	99,4	99,4
<i>Malva sylvestris</i>	97,2	100,0
<i>Papaver rhoeas</i>	62,7	88,6
Statistiques		t = -0.23063, df = 4, p-value = 0.8289

## V. Discussion

---

### 5.1. Caractérisation du profil chimique du pollen

#### 5.1.1. Composition en stérols

De manière générale, aucune variation de la concentration en stérols ne varie entre les deux sites à l'exception du pollen d'*Helianthus annuus* dont la concentration totale en stérols est beaucoup plus élevée sur un milieu moins exposé à des produits agrochimiques. Cela peut être simplement dû à des biais lors du traitement du pollen en laboratoire. Le pollen de tournesol se situe en général dans la même gamme de concentrations que les autres espèces florales étudiées (Takatsuto & Omote, 1989). Bien que certaines études aient établi un lien entre la présence de pesticides et un état de stress physiologique chez les plantes à fleurs (Amer & Farah 1980), notre étude indique que la synthèse des composés stéroliques ne serait pas affectée. Les molécules stéroliques étant principalement carbonées, il est possible que l'utilisation de produits phytosanitaires azotés, tels que ceux utilisés dans notre site d'étude, impactent principalement d'autres voies métaboliques. Il est toutefois à noter que d'autres études ont montré que le glyphosate présent dans le sol pouvait être métabolisé par la plante, menant à la formation de résidus entrant dans les voies de synthèses des phosphonolipides (constituants des graisses lipidiques) (Scalla, *et al.* 2002). Malheureusement, très peu de données sont actuellement publiées, rendant difficile l'élucidation des mécanismes sous-jacents à l'effet observé dans notre étude.

Par contre, l'abondance des stérols est variable selon l'espèce florale et l'entomogamie. Les plantes moins visitées par des insectes phytophages présentent des variations de stérols plus importantes. Un pollen de la famille des Cucurbitaceae contient essentiellement des stérols en  $\delta 7$  tandis que les pollens de Poaceae et Asteraceae sont plus riches en stérols en  $\delta 5$  (Bernays, 1992). Des molécules essentielles telles que le cholestérol (C27) permettant la construction des bicouches lipidiques et la synthèse d'hormones stéroïdes (Adler & Salt, 1986 ; Vanderplanck, *et al.* 2014) sont peu abondants dans nos échantillons floraux. A contrario, le  $\beta$ -sitostérol (C29), présent pour chacune des plantes, constitue le phytostérol le plus commun (Bernays, 1992). D'autres stérols comme les composés en  $\delta 5$  (C29) et en  $\delta 7$  (C29) sont également souvent

retrouvés en concentrations importantes dans le pollen. Ces 3 gammes de stérols sont primordiales dans la survie de chacun des grands ordres entomologiques. En réalité, de nombreuses recherches ont montré que la plupart des insectes phytophages ne peuvent pas synthétiser de cholestérol et n'en trouvent pas dans leur alimentation (Adler & Salt, 1986). La production de cholestérol peut parfois se faire via des voies de désalkylation (substitution d'un carbone) à partir de stérols en C28 ou en C29. Cependant, tous les insectes ne possèdent pas de voies métaboliques de désalkylation et utilisent du coup des phytostérols à la place du cholestérol pour synthétiser des hormones de mue alternatives comme la makistéronne (traditionnellement ecdysone en C27 synthétisée via du cholestérol) (Bernays, 1992). Par exemple, le groupe des Symphytes (Hymenoptera) ou encore les chenilles de *Manduca sexta* (Lepidoptera) ont un métabolisme enzymatique leur permettant de traiter les doubles liaisons par désalkylation afin de convertir le  $\beta$ -sitostérol en cholestérol, à l'inverse de *Trogoderma granarium* (Coleoptera) qui utilise préférentiellement du cholestérol de par son incapacité à désalkyler les phytostérols. La capacité à utiliser davantage de  $\beta$ -sitostérol que de cholestérol constituerait même une stratégie évolutive pour les orthoptères herbivores (Dadd, 1960) puisque le cholestérol leur est nécessaire au niveau structural et synthèse d'ecdystéroïdes (Bernays, 1992). Les stérols en  $\delta 5$  et  $\delta 7$  jouent également un rôle principal dans le métabolisme de certains insectes. Le papillon *Heliothis zea* (Lepidoptera) peut produire du 24-désalkylstérol, indispensable à la nutrition et la croissance de ses larves, entre autres à partir de stérols  $\delta 5$  et  $\delta 7$  (Ritter, 1983). Les fourmis (Hymenoptera), quant à elles, peuvent convertir dans une certaine mesure leurs stérols alimentaires en cholestérol en n'ayant pas besoin d'avoir recours à des désalkylations (Svoboda & Lusby, 1986) mais évolueraient vers une physiologie à partir de stérols en  $\delta 7$  provenant de champignons (Ritter, *et al.* 1982). Cependant, des espèces comme l'abeille domestique, *Apis mellifera*, possède un métabolisme restreint ne lui permettant pas de convertir les phytostérols C28 et C29 en cholestérol (correspondant à moins de 1% des stérols totaux) (Svoboda & Lusby, 1986). Elle se nourrit plutôt de pollen riche en 24-méthylènecholestérol, indispensable à la construction des pains dans la colonie servant de dépôt de nourriture ou de couvain pour les larves (Bernays, 1992). Par ailleurs, certains diptères comme *Drosophila* spp. ont la possibilité d'une part, d'utiliser le cholestérol (parfois remplacer par de l'ergostérol ou du stigmastérol) (Cooke & Sange, 1970) et d'autre part, de métaboliser les phytostérols pour produire la makistéronne A (hormone de mue) (Bernays, 1992).

### 5.1.2. Composition en acides aminés

Contrairement aux stérols, pour la moitié des espèces florales étudiées (*Helianthus annuus*, *Malva sylvestris* et *Zea mays*), les ressources polliniques des abeilles en terme d'acides aminés varient selon l'intensité de l'exposition de produits agrochimiques et phytosanitaires du milieu. Les résultats indiquent que la teneur en acides aminés totaux est plus élevée dans un paysage agricole. Une explication à cela serait que ce dernier est riche en produits agrochimiques (engrais mais également pesticides). Il s'avère que certains de ces derniers contiennent plusieurs atomes d'azote, pour n'en citer que quelques-uns : l'atrazine (5N), le fipronil (4N), l'imidaclopride (5N) (Alvey & Crowley, 1995 ; Ting, *et al.* 2004 ; Zhu, *et al.* 2004). Le taux accru d'acides aminés dans le pollen pourrait dès lors s'expliquer par la concentration en azote plus élevée due à ces produits phytopharmaceutiques qui augmente la synthèse d'acides aminés riche en azote. Ce phénomène a été prouvé avec des engrais qui accroissent le taux en protéines brutes et en acides aminés totaux chez *Zea mays* (MacGregor, Taskovitch & Martin, 1961). De plus, il est probable que les substances chimiques interagiraient avec les composés des ressources florales (pollen et nectar) en passant par le système physiologique de la plante à partir du sol (Gardener & Gillman, 2003).

L'augmentation du dosage constatée à Dilbeek ne concerne que quelques acides aminés : arginine, histidine, lysine, phénylalanine, proline et tyrosine. Ceux-ci ont la particularité de posséder des groupements cycliques et/ou azotés (NH<sub>2</sub>, etc.) sur leur chaîne latérale. Cela renforce l'idée des molécules d'azote provenant de fertilisants. D'ailleurs, une étude menée sur *Agrostemma githago* (Caryophyllaceae) qui était soumise à différentes concentrations en engrais. Il a été prouvé que la concentration totale en acides aminés augmente significativement avec celle en engrais, principalement les concentrations en glutamine (molécule avec 2 azotes) et en proline (molécule cyclique) (Gardener & Gillman, 2003). De ce fait, nous pouvons envisager une réponse similaire pour la molécule de tryptophane, n'ayant pas pu être traitée dans cette étude, qui est à la fois cyclique et contient deux atomes d'azote. De futures recherches pourraient être envisagées afin de confirmer ce cas. Il serait également intéressant de comprendre comment des structures cycliques (plus stables chimiquement que des molécules ouvertes) se comportent sous l'influence des produits agrochimiques comparés à d'autres acides aminés plus petits et plus instables.

De la même manière, des acides aminés comme l'acide aspartique, l'acide glutamique, la sérine et la thréonine, ne contenant uniquement que la fonction azote de base, ont tendance à diminuer

sur un milieu traité aux pesticides. L'acide aspartique et la thréonine sont en réalité des acides aminés essentiels pour les abeilles. De ce fait, sachant que le pollen constitue la principale ressource en protéines des abeilles (Nicolson, 2011), nous pouvons nous demander si la qualité nutritionnelle en acides aminés de certaines plantes est meilleure pour la consommation des abeilles dans un environnement comme Dilbeek. La survie d'une espèce d'abeille adaptée à la pollinisation de quelques plantes uniquement (oligolectique) pourrait en effet être menacée si ses ressources sont déficientes pour des acides aminés spécifiques. Dans le cas de l'abeille mellifère, elle doit idéalement se nourrir d'un mélange polyfloral mais est toute de même capable de survivre si un pollen monofloral est très riche en protéines car sa qualité nutritionnelle va influencer la physiologie des ouvrières, notamment face à des parasites comme *Nosema ceranae* (Di Pasquale, *et al.* 2013).

La concentration en acides aminés du pollen des espèces florales *Achillea millefolium* et *Phacelia tanacetifolia* ne diffère pas suivant le site. Cela s'explique par le fait que ce sont des plantes reconnues comme invasives car elles s'adaptent à différents types de sols. Les pesticides auraient peu d'impact sur elles (Bourdot & Field, 1988 ; Williams & Christian, 2015).

Par contre, la proportion des acides aminés contenus dans le pollen varie selon l'espèce florale associée à son site. Par exemple, les teneurs en acides aminés totaux d'*Achillea millefolium*, de *Malva sylvestris* et de *Zea mays* sont moins élevées sur le site sans pesticides. A ces plantes, on peut corréliser une présence plus importante en arginine, histidine, phénylalanine et tyrosine, dont ces 3 premiers qui sont des acides aminés essentiels pour les abeilles. Ces plantes pourraient influencer les choix floraux des abeilles. Effectivement, Hanley, *et al.* (2008) ont montré un lien entre la qualité du pollen et les visites florales. Parmi les plantes qu'ils ont étudiées, les espèces pollinisées obligatoirement par les insectes produisent un pollen qui contient plus de protéines. En outre, une plante visitée par une certaine quantité de bourdons collecteurs produit un pollen de meilleure qualité. Par conséquent, le pollen d'une espèce florale non profitable à l'abeille serait moins attractif pour elle d'un point de vue nutritif, ce qui engendrerait une diminution de visites de cette plante en question et par la suite, un affaiblissement de sa reproduction.

Comme expliqué plus haut, les pesticides ont un impact sur les facteurs édaphiques comme la teneur en azote du sol qui est visiblement liée à l'assimilation de l'azote par la plante et à la synthèse des acides aminés. Nonobstant, cela n'affirme en aucun cas de la faible influence des pesticides et autres produits agrochimiques sur les abeilles en elles-mêmes. Les insecticides à base de néonicotinoïdes détériorent vraisemblablement le comportement cognitif olfactif d'*Apis*

*mellifera*. Plus précisément, ils affectent la protéine permettant l'olfaction des abeilles butineuses, ce qui altère leurs recherches de nourriture (Li, *et al.* 2016). Au plus un site est exposé à un grand nombre de pesticides, au plus la qualité du pollen est moindre. Cela a pu déjà se détecter avec des taux en pesticides inférieurs au niveau de DL50 (Colwell, *et al.* 2017). De plus, les pesticides peuvent interagir entre eux et gravement affecter l'efficacité de collecte par les ouvrières chez *Apis mellifera* et également leur productivité générale ainsi que le développement des couvées (Gill, *et al.* 2012). Par ailleurs, les intrants azotés pourraient possiblement influencer le taux des composés secondaires du pollen tels que les alcaloïdes (molécules à bases azotées) qui impacteraient en conséquence la toxicité des abeilles (Lucchetti, 2017).

Pour conclure, l'association d'un stress engendré par le manque de potentiels nutriments dans l'alimentation combiné à une exposition sévère en pesticides peut nuire de manière non négligeable à la survie des abeilles (Tosi, *et al.* 2017).

## **5.2. Caractérisation des visiteurs floraux**

Cette étude pilote n'a pas mis en évidence de différence significative en termes d'abondance et de diversité des visites florales entre nos sites.

Malgré les standardisations des visites florales, l'abondance relative de ces dernières peut varier pour chacune des plantes selon différents facteurs tels que (i) les variations de croissance d'un site à l'autre et (ii) la proportion et la répartition de graines de l'espèce florale en question dans la banque de graines. En effet, les plantes sont issues d'un mélange de graines de plantes sauvages et ont été semées lors de l'année 2018 dans des prés fleuris à Mons et à Dilbeek. Les conditions environnementales sont donc identiques pour chacune des espèces florales dans un milieu (Woodward & Woodward, 1987 ; Machinski & Whitham, 1989). (i) Selon la vitesse à laquelle elles se développent (conditions phénologiques), elles peuvent acquérir une plus grande source de lumière et utiliser en premières les ressources nutritives pour croître. (ii) Par ailleurs, le mélange floral semé ne contient pas forcément la même proportion de graines pour chacune des espèces. Par conséquent, un nombre moins élevé de semences pour une espèce freine sa reproduction. Ce qui va attirer les pollinisateurs n'est pas forcément une unité florale mais un ensemble d'unités florales formant des « patchs floraux » qui à ce moment provoque un plus grand effet d'attraction sur les pollinisateurs et bénéficient alors d'un plus grand nombre

de visites florales. Certaines plantes seront donc avantagées par rapport à d'autres (Delmas, 2012 ; Rollin, 2013).

Cependant, des différences d'abondance et de diversité peuvent être mises en évidence à l'échelle de l'espèce florale. La comparaison des différentes espèces florales montre que pour un même nombre d'individus (nombre de fleurs approximatif similaire), le taux de visites est beaucoup plus élevé chez *Helianthus annuus*. Ce cas s'observe également chez les visiteurs apiformes. Pour expliquer cela, il faut considérer le fait que même si des standardisations ont été effectuées sur toutes les espèces florales pour pouvoir les comparer entre elles, l'inflorescence n'a pas le même impact d'attraction des visiteurs floraux. De ce fait, l'inflorescence de *Helianthus annuus*, étant d'un diamètre supérieur aux autres espèces, elle peut accueillir un plus grand nombre de pollinisateurs à la fois, ce qui augmente l'efficacité de sa pollinisation.

En comparant la diversité des visiteurs floraux sur chacune des espèces florales, il apparaît qu'elles sont toutes préférentiellement visitées par l'ordre des Hymenoptera, à l'exception de *Achillea millefolium*, visitée profusément par l'ordre des Diptera et moins abondamment par les autres ordres (Coleoptera, Hymenoptera, Lepidoptera, etc.). Si l'on considère uniquement les abeilles, la plupart des espèces florales sont visitées par la famille des Apidae, à l'exception d'*Achillea millefolium* visitée en majeure partie par la famille des Andrenidae. De plus, elle représente la plante visitée par un plus grand nombre de familles (Andrenidae, Apidae, Colletidae, Halictidae, etc.). Pour expliquer ces résultats, il faut considérer que la morphologie de la fleur et l'accessibilité des ressources florales sont primordiaux pour les pollinisateurs et déterminent largement leurs choix floraux (Van Rijn & Wäckers, 2016). Les espèces florales étudiées ont été choisies de manière à ne pas être spécialistes d'un pollinisateur en particulier. Les fleurs de *Centaurea cyanus*, *Malva sylvestris* et *Papaver rhoeas* ainsi que l'inflorescence de *Helianthus annuus* sont très colorées, leur structure florale présente une large corolle et est facilement accessible pour des pollinisateurs comme les abeilles (Ellstrand, *et al.* 1978 ; Neff & Simpson, 1990 ; Carreck & Williams, 2002 ; Williams & Christian, 2015 ; Hicks, *et al.* 2016), ce qui les rend plus attractives pour ce type de pollinisateurs. *Achillea millefolium* et *Helianthus annuus*, quant à elles, sont constituées d'une inflorescence de nombreuses fleurs permettant aux visiteurs floraux de rester plus longtemps sur ces plantes (Bourdote & Field, 1988 ; Colley & Luna, 2000). Par contre, la corolle blanchâtre d'*Achillea millefolium* est étroite et tubulaire mais reste accessible à beaucoup d'insectes pollinisateurs notamment grâce au nectar produit par des glandes situées à la base de la corolle (Leppik, 1977 ; Magnarelli, *et al.*

1979). Cependant, sur base des extractions de pollen, cette dernière contient des concentrations en acides aminés et en stérols moins élevées que les autres plantes, ce qui attire moins les Hymenoptera. Les abeilles visitent d'abord les ressources florales plus nutritives et ne sélectionnent l'achillée millefeuille qu'en dernier recours. A propos de sa diversité, *Achillea millefolium* étant une plante profitable à divers groupes d'insectes, elle sera plus facilement pollinisée par un grand nombre d'ordres et de familles entomologiques (Knuth & Müller, 1908 ; Thomson, 1922).

Parmi les espèces d'abeilles les plus présentes sur les sites de Dilbeek, Erbisoeul et Mons, il est possible de retrouver essentiellement des bourdons (*Bombus lapidarius*, *Bombus pascuorum* et *Bombus terrestris*) en quantité importante. Ces espèces sont évidemment courantes en Belgique (Rasmont, *et al.* 1993). A Dilbeek, le pré fleuri est d'une surface considérable et gorgé de fleurs au mètre carré. Les abeilles de manière générale ont l'embarras du choix et peuvent facilement se développer, surtout ces espèces de bourdons se nourrissant d'un pollen polyfloral (Boisdequin, 2017). La station présente des saules, constituant une des premières ressources disponibles au printemps et possédant un pollen hautement riche pour les reines de bourdons ainsi que des pommiers, pruniers et cerisiers dans le jardin avoisinant le champ. Le site comporte une multitude d'anciens terriers de rongeurs (lapins et lièvres) représentant un potentiel énorme pour le développement des colonies de bourdons. De plus, les bandes fleuries semées en bords de champs, en plus de nourrir les pollinisateurs, servent aussi de refuges (nidification) pour les abeilles solitaires et les guêpes (Benz, *et al.* 2015). Les sites d'Erbisoeul et Mons présentent des conditions similaires.

Indépendamment des facteurs d'abondance et de diversité, les analyses effectuées dans ce travail ont montré que les types de sites ne semblent pas favoriser l'un ou l'autre traits écologiques des visiteurs floraux en termes de lectisme, de socialité, de type de nidification ou de longueur de langue. Toutefois, afin de valider ces résultats, il faudrait considérer l'ensemble de la communauté de pollinisateurs potentiels présente sur les sites, sans se limiter aux visiteurs des espèces florales cibles qui sont de surcroît par des espèces d'abeilles communes. Il est également possible de garder une méthodologie « espèce florale cible » mais qui nécessiterait une prise en compte d'un nombre plus important de sites différents. Bien que préliminaire, notre étude a malgré tout permis de déceler une proportion d'individus nichant au-dessus du sol significativement plus importante dans un paysage agricole. Cela renforce l'idée que les pesticides jouent un rôle capital dans le sol. Les espèces nichants dans la terre seraient plus facilement menacées dû à leur contact plus direct avec ce type de produits. Des études ont déjà montré que la position

des nids d'abeilles dans le paysage agricole est déterminante pour leur survie en fonction de leur exposition aux pesticides et à l'intensification du travail du sol dans les champs (Winfree, *et al.* 2009 ; Williams, *et al.* 2010 ; Kennedy, *et al.* 2013). Des produits agrochimiques tels que les insecticides affectent intensément le lectisme et la socialité des abeilles (Williams, *et al.* 2010 ; Brittain & Potts, 2011). Cela révèle que des mesures de conservation des pollinisateurs doivent être mises en place dans ce type de milieu afin de limiter au maximum les conséquences des pesticides sur les réseaux de pollinisation. Malgré les nombreuses interdictions de l'utilisation de certains produits agrochimiques faites au cours de cette dernière décennie, d'autres produits équivalents arrivent sur le marché et continueront d'impacter notre biosphère.

## VI. Conclusion

---

Les résultats obtenus lors de cette étude confirment partiellement les variabilités de la quantité et de la composition chimique du pollen des ressources florales en milieu agricole.

La composition stérolique varie selon l'espèce florale. L'ensemble des plantes étudiées présente une teneur riche en stérols C29, tels que le  $\beta$ -sitostérol et les  $\delta 7$ -stérols. Deux Asteraceae, *Centaurea cyanus* et *Helianthus annuus*, semblent respectivement caractérisées par une teneur importante en  $\delta 7$ -stigmastérol et  $\delta 7$ -avenastérol.

La concentration et la composition en acides aminés totaux et essentiels varie fortement selon l'espèce florale, l'exposition en pesticides du site et l'association entre ces deux facteurs. Les résultats ont montré que les teneurs en acides aminés des espèces *Helianthus annuus*, *Malva sylvestris* et *Zea mays* étaient significativement plus élevées dans un paysage exposé à l'agriculture biochimique. Selon leur structure chimique azotée, certains acides aminés essentiels (arginine, histidine, lysine, phenylalanine) et non-essentiels (proline et tyrosine) présentent une concentration plus abondante sur ce type de milieu, contrairement à d'autres acides aminés essentiels (acide aspartique et thérionine) et non-essentiels (acide glutamique et sérine) qui ont tendance à diminuer.

Parallèlement, l'étude réalisée sur les visites florales ne met pas en évidence de différence significative en termes d'abondance et de diversité en considérant l'ensemble des espèces florales cibles. Cependant, si l'on considère les résultats espèce par espèce, *Achillea millefolium* est préférentiellement visitée par des diptères ainsi que des abeilles solitaires de la famille des Andrenidae, contrairement aux autres espèces florales visitées en grande partie par des Apidae comme *Bombus lapidarius* et *Bombus pascuorum*. Par ailleurs, il semblerait que l'exposition à des pesticides puisse favoriser certains traits fonctionnels de la communauté d'abeilles. En effet, la proportion de visiteurs floraux nichants au-dessus du sol est supérieure dans un milieu agricole comparé à un milieu biologiquement sain.

Ces résultats ont permis de démontrer l'impact des produits agrochimiques sur le pollen des ressources florales. En effet, ces produits agissent au niveau du sol et leur effet se répercute sur la quantité et la qualité chimique du pollen produit par la plante, impactant directement les interactions avec les visiteurs floraux. Une conséquence directe peut également se faire,

notamment en favorisant certaines abeilles moins exposées aux pesticides de par leurs traits écologiques.

## VII. Perspectives

---

Bien que l'étude des pesticides sur la chimie du pollen et le réseau plantes-pollinisateurs s'élargi de plus en plus depuis ces dernières années, ce travail peut mener à de nouveaux projets de recherche.

Tout d'abord, il serait intéressant de poursuivre l'étude en Belgique sur d'autres exploitations agricoles que Dilbeek et environnements biologiques similaires que ceux étudiés à Mons. La variabilité géographique à l'échelle de la commune permettrait une comparaison des sites afin de confirmer les conséquences des pratiques agricoles sur la qualité du pollen et la composition des communautés d'abeilles associées, en considérant la diversité de leurs et les traits écologiques.

L'ajout d'espèces florales dans le jeu de données permettrait également une étude plus représentative. Il serait possible de voir si la qualité des ressources de familles de plantes, en particulier celles attirant le plus les abeilles (Asteraceae, Brassicaceae, Fabaceae, Rosaceae, etc.) est facilement influencée par l'exposition des produits agrochimiques. De la même manière, une différenciation pourrait avoir lieu entre des plantes sauvages et celles issues de grandes cultures. Des moyens de conservation pourraient être mises en œuvre concernant les espèces florales fortement affectées par les pesticides.

En outre, il serait intéressant d'étudier plus finement l'impact des pesticides au niveau des réseaux de pollinisation ; c'est-à-dire cibler des espèces de pollinisateurs soumis directement et indirectement aux pesticides, avoir une idée de leur régime alimentaire (souvent polyfloral) afin de déterminer si des espèces ou groupes d'abeilles (sociales, solitaires, etc.) sont plus affectés que d'autres et si ils ont la possibilité de se procurer l'entièreté de leurs nutriments essentiels.

Finalement, il serait intéressant d'étudier plus précisément la métabolisation par la plante des molécules azotées provenant de produits agrochimiques en considérant non seulement les acides aminés mais également d'autres molécules telles que les alcaloïdes. Ces changements dans la qualité des ressources pourraient être couplés avec des bioessais afin de mesurer l'impact sur le développement et la survie des abeilles.

## VIII. Références bibliographiques

---

- Aizen, M. A., Morales, C. L., & Morales, J. M. (2008).** Invasive mutualists erode native pollination webs. *PLoS biology*, 6(2), e31.
- Aktar, W., Sengupta, D., & Chowdhury, A. (2009).** Impact of pesticides use in agriculture: their benefits and hazards. *Interdisciplinary toxicology*, 2(1), 1-12.
- Alaux, C., Ducloz, F., Crauser, D., & Le Conte, Y. (2010).** Diet effects on honeybee immunocompetence. *Biology letters*, 6(4), 562-565.
- Alcock, J. 2005.** Animal Behavior: An Evolutionary Approach. *Sinauer Associates*, Eighth Edition. Sunderland, MA
- Alim'agri.** À partir du 1er janvier 2019, seuls les produits phytopharmaceutiques d'origine naturelle seront disponibles pour les jardiniers amateurs [en ligne]. Site du Ministère de l'agriculture et de l'alimentation, 25 mars 2019 [consulté le 30 juin 2019]. Disponible sur <https://agriculture.gouv.fr/>.
- Allen-Wardell, G., et al. (1998).** The potential consequences of pollinator declines on the conservation of biodiversity and stability of food crop yields. *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, 29 (1998), pp. 83-112.
- Alqudah, A. M., Samarah, N. H., & Mullen, R. E. (2011).** Drought stress effect on crop pollination, seed set, yield and quality. In *Alternative farming systems, biotechnology, drought stress and ecological fertilisation* (pp. 193-213). Springer, Dordrecht.
- Altaye, S.Z., Pirk, C.W.W., Crewe, R.M. & Nicolson, S.W. (2010).** Convergence of carbohydrate-biased intake targets in caged worker honeybees fed different protein sources. *Journal of Experimental Biology*, 213: 3311–3318.
- Altieri, M. A., Nicholls, C., & Funes, F. (2012).** The scaling up of agroecology: spreading the hope for food sovereignty and resiliency. *A contribution to discussions at Rio*, 20.
- Alvey, S., & Crowley, D. E. (1995).** Influence of organic amendments on biodegradation of atrazine as a nitrogen source. *Journal of environmental quality*, 24(6), 1156-1162.
- Amer, S. M., & Farah, O. R. (1980).** Cytological effects of pesticides. X. Meiotic effects of "Phosvel". *Cytologia*, 45(1/2), 241-245.
- Ashman, T. L., Knight, T. M., Steets, J. A., Amarasekare, P., Burd, M., Campbell, D. R., ... & Morgan, M. T. (2004).** Pollen limitation of plant reproduction: ecological and evolutionary causes and consequences. *Ecology*, 85(9), 2408-2421.
- Audibert, C. (2003).** Gaétan du Chatenet. Coléoptères Phytophages d'Europe. Tome 11. Chrysomelidae, 2002. *Publications de la Société Linnéenne de Lyon*, 72(5), 171-171.
- Banaszak, J. (1992).** Strategy for conservation of wild bees in an agricultural landscape. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 40(1–4), pp. 179–192.
- Barbash, J. E., Thelin, G. P., Kolpin, D. W., & Gilliom, R. J. (2001).** Major herbicides in ground water. *Journal of Environmental Quality*, 30(3), 831-845.
- Baron, G. L., Raine, N. E. and Brown, M. J. F. (2017).** General and species-specific impacts of a neonicotinoid insecticide on the ovary development and feeding of wild bumblebee queens. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 284(1854), p. 20170123.
- Barrett, S. C., & Harder, L. D. (1996).** Ecology and evolution of plant mating. *Trends in Ecology & Evolution*, 11(2), 73-79.
- Batary, P. et al. (2010).** Landscape-moderated biodiversity effects of agri-environmental management: a meta-analysis. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 278(1713), pp. 1894–1902.

- Bawa, K. S. (1990).** Plant-pollinator interactions in tropical rain forests. *Annual review of Ecology and Systematics*, 21(1), 399-422.
- Becerra, J. X., & Lloyd, D. G. (1992).** Competition-dependent abscission of self-pollinated flowers of *Phormium tenax* (Agavaceae): a second action of self-incompatibility at the whole flower level?. *Evolution*, 46(2), 458-469.
- Beenackers, A. T., Van der Horst, D. J., & Van Marrewijk, W. J. A. (1984).** Insect flight muscle metabolism. *Insect Biochemistry*, 14(3), 243-260.
- Behmer, S.T. (2009).** Insect herbivore nutrient regulation. *Annu Rev Entomol* 54:165–187.
- Bellanger, S. (2011).** Etude de la biologie d'une messicole en régression: le bleuet (*Centaurea cyanus* L.) (Doctoral dissertation).
- Bennett, R. N., & Wallsgrave, R. M. (1994).** Secondary metabolites in plant defence mechanisms. *New phytologist*, 127(4), 617-633.
- Benton, T. G., Vickery J. A. & Wilson J. D. (2003).** Farmland biodiversity: is habitat heterogeneity the key? *Trends Ecol. Evol.* 18, 182–188.
- Benz, R., Jucker, P., Albrecht, M., Charrière, J. D., Herzog, F., Jacot, K., ... & Knauer, K. (2015).** Bandes fleuries pour les pollinisateurs et les autres organismes utiles-Sources de nourriture précieuses parmi les cultures.
- Bernal, J., Garrido-Bailón, E., Del Nozal, M. J., González-Porto, A. V., Martín-Hernández, R., Diego, J. C., ... & Higes, M. (2010).** Overview of pesticide residues in stored pollen and their potential effect on bee colony (*Apis mellifera*) losses in Spain. *Journal of Economic Entomology*, 103(6), 1964-1971.
- Bernays, E. A. (1992).** Interaction of insects and plants. *Science Progress (1933-)*, 247-271.
- Berry, P. E., & Calvo, R. N. (1991).** Pollinator limitation and position dependent fruit set in the high Andean orchid *Myrosmodes cochleare* (Orchidaceae). *Plant systematics and evolution*, 174(1-2), 93-101.
- Bianchi, F. J. J., Booij, C. J. . and Tscharntke, T. (2006).** Sustainable pest regulation in agricultural landscapes: a review on landscape composition, biodiversity and natural pest control. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 273(1595), pp. 1715–1727.
- Biesmeijer, J. C., Roberts, S. P., Reemer, M., Ohlemüller, R., Edwards, M., Peeters, T., ... & Settele, J. (2006).** Parallel declines in pollinators and insect-pollinated plants in Britain and the Netherlands. *Science*, 313(5785), 351-354.
- Blanken, L. J., Van Langevelde, F., & Van Dooremalen, C. (2015).** Interaction between *Varroa destructor* and imidacloprid reduces flight capacity of honeybees. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 282(1820), 20151738.
- Bogdanov, S. (2004).** Quality and standards of pollen and beeswax. Disponible sur : <https://www.researchgate.net/publication/229041189> (Consulté le 28 juin 2019).
- Bogdanov, S., Vit, P., & Kilchenmann, V. (1996).** Sugar profiles and conductivity of stingless bee honeys from Venezuela. *Apidologie*, 27(6), 445-450.
- Boisdequin, J., (2017).** Conservation des communautés d'abeilles sauvages et domestiques au sein du paysage agricole intensif belge. Mémoire en Sciences Biologiques, orientation Biologie des Organismes et Ecologie. Université de Mons, 138 pp.
- Bommarco, R., Biesmeijer, J. C., Meyer, B., Potts, S. G., Pöyry, J., Roberts, S. P., ... & Öckinger, E. (2010).** Dispersal capacity and diet breadth modify the response of wild bees to habitat loss. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 277(1690), 2075-2082.

- Bonmatin, J. M., Giorio, C., Girolami, V., Goulson, D., Kreutzweiser, D. P., Krupke, C., ... & Noome, D. A. (2015).** Environmental fate and exposure; neonicotinoids and fipronil. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(1), 35-67.
- Bourdot, G. W., & Field, R. J. (1988).** Review on ecology and control of *Achillea millefolium* L.(yarrow) on arable land in New Zealand. *New Zealand Journal of Experimental Agriculture*, 16(2), 99-108.
- Bosch, J., Kemp, W. P., & Trostle, G. E. (2006).** Bee population returns and cherry yields in an orchard pollinated with *Osmia lignaria* (Hymenoptera: Megachilidae). *Journal of Economic Entomology*, 99(2), 408-413.
- Brittain, C., & Potts, S. G. (2011).** The potential impacts of insecticides on the life-history traits of bees and the consequences for pollination. *Basic and Applied Ecology*, 12(4), 321-331.
- Brittain, C. et al. (2012).** Synergistic effects of non-*Apis* bees and honey bees for pollination services, *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 280(1754), pp. 20122767–20122767.
- Brodschneider, R., Riessberger-Gallé, U., & Crailsheim, K. (2009).** Flight performance of artificially reared honeybees (*Apis mellifera*). *Apidologie*, 40(4), 441-449.
- Brodschneider, R. and Crailsheim, K. (2010).** Nutrition and health in honey bees', *Apidologie*, 41(3), pp. 278–294.
- Brown, B. J., & Mitchell, R. J. (2001).** Competition for pollination: effects of pollen of an invasive plant on seed set of a native congener. *Oecologia*, 129(1), 43-49.
- Brown, B. J., Mitchell, R. J., & Graham, S. A. (2002).** Competition for pollination between an invasive species (purple loosestrife) and a native congener. *Ecology*, 83(8), 2328-2336.
- Buchmann, S.L. (1986).** Vibratile pollination in *Solanum* and *Lycopersicon*: a look at pollen chemistry. In: D'Arcy, W.G. (ed.) *Solanaceae II: Biology and Systematics*, pp. 237-252. *Columbia University Press*, New York.
- Buchmann, S.E. & Nabhan, G.P. (1996).** The Forgotten Pollinators. *Island Press*, Whashington, DC.
- Burd, M. (1994).** Bateman's principle and plant reproduction: the role of pollen limitation in fruit and seed set. *The Botanical Review*, 60(1), 83-139.
- Burkle, L. A., Marlin, J. C., & Knight, T. M. (2013).** Plant-pollinator interactions over 120 years: loss of species, co-occurrence, and function. *Science*, 339(6127), 1611-1615.
- Carreck, N. L., & Williams, I. H. (2002).** Food for insect pollinators on farmland: insect visits to flowers of annual seed mixtures. *Journal of Insect Conservation*, 6(1), 13-23.
- Carvell, C., Roy, D. B., Smart, S. M., Pywell, R. F., Preston, C. D., & Goulson, D. (2006).** Declines in forage availability for bumblebees at a national scale. *Biological conservation*, 132(4), 481-489.
- Chakrabarti, B., Singh, S.D., Nagarajan, S., & Aggarwal, P.K. (2011).** Impact of temperature on phenology and pollen sterility of wheat arieties. *Australian journal of crop science*, 5(9), 1039.
- Chapin, F.S., et al. (1998).** Consequences of changing biodiversity. *Conserv. Biol.*, 12, pp. 8-17.
- Chaplin-Kramer, R., Dombeck, E., Gerber, J., Knuth, K. A., Mueller, N. D., Mueller, M., ... & Klein, A. M. (2014).** Global malnutrition overlaps with pollinator-dependent micronutrient production. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 281(1794), 20141799.
- Chen, Y., Pettis, J. S., Evans, J. D., Kramer, M., & Feldlaufer, M. F. (2004).** Transmission of Kashmir bee virus by the ectoparasitic mite *Varroa destructor*. *Apidologie*, 35(4), 441-448.
- Cheung, A. Y. (1996).** The pollen tupe growth pathway: its molecular and biochemical contributions and responses to pollination. *Sexual Plant Reproduction*, 9(6), 330-336.
- Clegg, M. T., & Durbin, M. L. (2000).** Flower color variation: a model for the experimental study of evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(13), 7016-7023.

- Cocan, O., Marghitas, L. A., Dezmarean, D., & Laslo, L. (2005).** Composition and biological activities of bee pollen: review. *Bulletin of the University of Agricultural Science and Veterinary Medicine*, 61, 221-226.
- Colin, M. E., Bonmatin, J. M., Moineau, I., Gaimon, C., Brun, S., & Vermandere, J. P. (2004).** A method to quantify and analyze the foraging activity of honey bees: relevance to the sublethal effects induced by systemic insecticides. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 47(3), 387-395.
- Colley, M. R., & Luna, J. M. (2000).** Relative attractiveness of potential beneficial insectary plants to aphidophagous hoverflies (Diptera: Syrphidae). *Environmental Entomology*, 29(5), 1054-1059.
- Colomb, F. (2010).** HPLC Principe et appareillage. Académie de Rouen, Biotechnologie & Biologie et Physiopathologie humaine.
- Colwell, M. J., Williams, G. R., Evans, R. C., & Shutler, D. (2017).** Honey bee-collected pollen in agro-ecosystems reveals diet diversity, diet quality, and pesticide exposure. *Ecology and evolution*, 7(18), 7243-7253.
- Cook, S. M., Awmack, C. S., Murray, D. A., & Williams, I. H. (2003).** Are honey bees' foraging preferences affected by pollen amino acid composition? *Ecological Entomology*, 28(5), 622-627.
- Cooke, J., & Sang, J. H. (1970).** Utilization of sterols by larvae of *Drosophila melanogaster*. *Journal of insect physiology*, 16(5), 801-812.
- Corbet, S. A., Williams, I. H., & Osborne, J. L. (1991).** Bees and the pollination of crops and wild flowers in the European Community. *Bee world*, 72(2), 47-59.
- Couplan, F. (2012).** Les plantes et leurs noms: histoires insolites. Editions Quae.
- Crailsheim, K., Schneider, L. H. W., Hrasnigg, N., Bühlmann, G., Brosch, U., Gmeinbauer, R., & Schöffmann, B. (1992).** Pollen consumption and utilization in worker honeybees (*Apis mellifera carnica*): dependence on individual age and function. *Journal of insect Physiology*, 38(6), 409-419.
- Crane, E., & Walker, P. (1984).** Pollination directory for world crops. *International Bee Research Association*.
- Crane, E., & Walker, P. (1985).** Important honeydew sources and their honeys. *Bee World*, 66(3), 105-112.
- Cresswell, J. E. (2011).** A meta-analysis of experiments testing the effects of a neonicotinoid insecticide (Imidacloprid) on honey bees. *Ecotoxicology* 20, 149–157.
- Cronin, J. T. and Reeve, J. D. (2005).** Host–parasitoid spatial ecology: a plea for a landscape-level synthesis, *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 272(1578), pp. 2225–2235.
- Dadd, R. H. (1960).** The nutritional requirements of locusts—II utilization of sterols. *Journal of Insect Physiology*, 5(3-4), 161-168.
- Daily ; G.C. (1997).** Ecosystem Services: Benefits Supplied to Human Societies by Natural Ecosystems. *Ecological Society of America*.
- Dance, C., Botías, C., & Goulson, D. (2017).** The combined effects of a monotonous diet and exposure to thiamethoxam on the performance of bumblebee micro-colonies. *Ecotoxicology and environmental safety*, 139, 194-201.
- Darwin, C. (2004).** On the origin of species, 1859. *Routledge*.
- Dauber, J., Biesmeijer, J. C., Gabriel, D., Kunin, W. E., Lamborn, E., Meyer, B., ... & Settele, J. (2010).** Effects of patch size and density on flower visitation and seed set of wild plants: a pan-European approach. *Journal of Ecology*, 98(1), 188-196.
- De Groot, A. P. (1953).** Protein and Amino Acid Requirements of the Honeybee (*Apis Mellifica L.*).

- Decourtye, A., & Pham-Delegue, M. H. (2002).** Assessing the sublethal effects of pesticides on the honey bee. In *Honey bees: estimating the environmental impact of chemicals* (pp. 67-84).
- Deffan, K. P., Akanvou, L., Akanvou, R., Nemlin, G. J., & Kouamé, P. L. (2015).** Evaluation morphologique et nutritionnelle de variétés locales et améliorées de maïs (*Zea mays L.*) produites en Côte d'Ivoire. *Afrique Science: Revue Internationale des Sciences et Technologie*, 11(3), 181-196.
- Delmas, C. (2012).** Interactions plantes-pollinisateurs et reproduction sexuée en habitat fragmenté: le cas d'un arbuste à floraison massive (Doctoral dissertation, Université de Toulouse, Université Toulouse III-Paul Sabatier).
- DeNoyelles, F., Kettle, W. D., & Sinn, D. E. (1982).** The responses of plankton communities in experimental ponds to atrazine, the most heavily used pesticide in the United States. *Ecology*, 63(5), 1285-1293.
- Desneux, N., Decourtye, A. & Delpuech, J. M. (2007).** The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. *Annu. Rev. Entomol.* 52, 81–106.
- Devillers, J., & Pham-Delègue, M. H. (Eds.). (2002).** Honey bees: estimating the environmental impact of chemicals. *CRC Press*.
- Di Pasquale, G., Salignon, M., Le Conte, Y., Belzunces, L. P., Decourtye, A., Kretzschmar, A., ... & Alaux, C. (2013).** Influence of pollen nutrition on honey bee health: do pollen quality and diversity matter?. *PLoS one*, 8(8), e72016.
- Dobrowolski, J. W., Vohora, S. B., Sharma, K., Shah, S. A., Naqvi, S. A. H., & Dandiya, P. C. (1991).** Antibacterial, antifungal, antiamebic, antiinflammatory and antipyretic studies on propolis bee products. *Journal of Ethnopharmacology*, 35(1), 77-82.
- Downey, D. L. and Winston, M. L. (2001).** Honey bee colony mortality and productivity with single and dual infestations of parasitic mite species, *Apidologie*, 32(6), pp. 567–575.
- Dufrêne, E., Schwarz, M., & Smit, J. (2014).** Le genre *Nomada SCOPOLI* en France continentale et en Corse: citation de 15 espèces nouvelles pour la faune de France et mise à jour de la liste taxonomique des espèces (Hymenoptera: Apoidea, Anthophila). *Linzer biol. Beitr*, 46(2), 1479-1490.
- Duhautois, S. (2010).** Structuration des communautés de Diptères sur le maïs, *Zea mays*, utilisé comme plante piège contre les mouches des légumes à La Réunion (Doctoral dissertation, UM2).
- Dupuis, I. and Dumas, C. (1990).** Influence of Temperature Stress on in Vitro Fertilization and Heat Shock Protein Synthesis in Maize (*Zea mays L.*) Reproductive Tissues, *Plant Physiology*, 94(2), pp. 665–670.
- Dyer, A. G., Paulk, A. C., & Reser, D. H. (2010).** Colour processing in complex environments: insights from the visual system of bees. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 278(1707), 952-959.
- Eckhart, M., V., Rushing, S., N., Hart, M., G., & Hansen, D., J. (2006).** Frequency-dependent pollinator foraging in polymorphic *Clarkia xantiana ssp. xantiana* populations: implications for flower colour evolution and pollinator interactions. *Oikos*, 112(2), 412-421.
- Eilers, E. J., Kremen, C., Greenleaf, S. S., Garber, A. K., & Klein, A. M. (2011).** Contribution of pollinator-mediated crops to nutrients in the human food supply. *PLoS one*, 6(6), e21363.
- Ellstrand, N. C., Torres, A. M., & Levin, D. A. (1978).** Density and the rate of apparent outcrossing in *Helianthus annuus* (Asteraceae). *Systematic Botany*, 403-407.
- Espinoza, E. M., Larsen-Clinton, J. M., Krzeszewski, M., Darabedian, N., Gryko, D. T., & Vullev, V. I. (2017).** Bioinspired approach toward molecular electrets: synthetic proteome for materials. *Pure and Applied Chemistry*, 89(12), 1777-1797.
- Faso, B., & De Cycle, M. D. F. (2012).** Evaluation multilocale d'hybrides et de lignées de maïs (*Zea mays L.*).

- Feltham, H., Park, K., & Goulson, D. (2014).** Field realistic doses of pesticide imidacloprid reduce bumblebee pollen foraging efficiency. *Ecotoxicology*, 23(3), 317-323.
- Franz, J. E., Mao, M. K., & Sikorski, J. A. (1997).** Glyphosate: a unique global herbicide. *American Chemical Society*.
- Free, J. B. (1993).** Insect pollination of crops (No. Ed. 2). *Academic press*.
- Fründ, J., Linsenmair, K. E., & Blüthgen, N. (2010).** Pollinator diversity and specialization in relation to flower diversity. *Oikos*, 119(10), 1581-1590.
- Garibaldi, L. A., Steffan-Dewenter, I., Winfree, R., Aizen, M. A., Bommarco, R., Cunningham, S. A., ... & Bartomeus, I. (2013).** Wild pollinators enhance fruit set of crops regardless of honey bee abundance. *Science*, 339(6127), 1608-1611.
- Gardener, M. C., Rowe, R. J., & Gillman, M. P. (2003).** Tropical bees (*Trigona hockingsi*) show no preference for nectar with amino acids. *Biotropica*, 35(1), 119-125.
- Geiger, F., Bengtsson, J., Berendse, F., Weisser, W. W., Emmerson, M., Morales, M. B., ... & Eggers, S. (2010).** Persistent negative effects of pesticides on biodiversity and biological control potential on European farmland. *Basic and Applied Ecology*, 11(2), 97-105.
- Gerard, M. et al. (2018).** Stressful conditions reveal decrease in size, modification of shape but relatively stable asymmetry in bumblebee wings. *Scientific Reports*, 8(1), pp. 1–10.
- Gerber, B., & Smith, B. H. (1998).** Visual modulation of olfactory learning in honeybees. *Journal of Experimental Biology*, 201(14), 2213-2217.
- Ghazoul, J. (2005).** Buzziness as usual? Questioning the global pollination crisis. *Trends in ecology & evolution*, 20(7), 367-373.
- Gibernau, M. (1997).** Odeurs et spécificité dans les mutualismes figuier-pollinisateur: le cas de *Ficus carica* L. et de *Blastophaga psenes* L. Doctoral dissertation, Montpellier 2.
- Giesy, J. P., Dobson, S., & Solomon, K. R. (2000).** Ecotoxicological risk assessment for Roundup® herbicide. In *Reviews of environmental contamination and toxicology*, Springer, New York, NY (pp. 35-120).
- Gill, R. J., Ramos-Rodriguez, O., & Raine, N. E. (2012).** Combined pesticide exposure severely affects individual-and colony-level traits in bees. *Nature*, 491(7422), 105.
- Girault, L. (1966).** Classification vernaculaire des plantes médicinales chez les Callawaya, médecins empiriques (Bolivie). *Journal de la Société des Américanistes*, 55(1), 155-200.
- Girolami, V., Mazzon, L., Squartini, A., Mori, N., Marzaro, M., Di Bernardo, A., ... & Tapparo, A. (2009).** Translocation of neonicotinoid insecticides from coated seeds to seedling guttation drops: a novel way of intoxication for bees. *Journal of economic entomology*, 102(5), 1808-1815.
- Gosselin, M., Moerman, R., Terzo, M., Vereecken, N., Rasmont, P. (2014).** Abeilles sauvages, bourdons et autres insectes pollinisateurs. Collection *Agrinature* n°9. Service public de Wallonie, Direction générale de l'Agriculture, des Ressources naturelles et de l'Environnement.
- Goulet, H., & Huber, J. T. (1993).** Hymenoptera of the world: an identification guide to families.
- Grange, J. M., & Davey, R. W. (1990).** Antibacterial properties of propolis (bee glue). *Journal of the Royal Society of Medicine*, 83(3), 159-160.
- Greenleaf, S.S. & Kremen, C. (2006).** Wild bees enhance honey bees pollination of hybrid sunflower. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 103, 13 890–13 895.
- Grimaldi, D. (1999).** The co-radiations of pollinating insects and angiosperms in the Cretaceous. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 373-406.
- Grimaldi, D., Engel, M. S., & Engel, M. S. (2005).** Evolution of the Insects. *Cambridge University Press*.

- Grube, A., Donaldson, D., Kiely, T., & Wu, L. (2011).** Pesticides industry sales and usage. *US EPA, Washington, DC*.
- Guffroy, C. (1930).** Notes sur la flore bretonne. *Bulletin de la Société Botanique de France*, 77(4), 668-671.
- Gunnell, D., Eddleston, M., Phillips, M. R., & Konradsen, F. (2007).** The global distribution of fatal pesticide self-poisoning: systematic review. *BMC public health*, 7(1), 357.
- Haider, M., Dorn, S., Müller, A. (2013).** Intra- and interpopulational variation in the ability of a solitary bee species to develop on non-host-pollen: implications for host range expansion. *Funct Ecol* 27: 255–263.
- Hanley, M. E., Franco, M., Pichon, S., Darvill, B., & Goulson, D. (2008).** Breeding system, pollinator choice and variation in pollen quality in British herbaceous plants. *Functional Ecology*, 22(4), 592-598.
- Harmel, N., Francis, F., Haubruge, E., & Giordanengo, P. (2008).** La physiologie des interactions entre la pomme de terre et les pucerons: vers une nouvelle stratégie de lutte basée sur les systèmes de défense de la plante. *Cahiers Agricultures*, 17, 1-6.
- Hassan, G. (2014).** Industries agroalimentaires : la montée des émergents [en ligne]. *Alternatives internationales* n°15 (consulté le 25.07.19).
- Haubruge, E., Nguyen, B. K., Widart, J., Thomé, J. P., Fickers, P., & De Pauw, E. (2006).** Le dépérissement de l'abeille domestique, *Apis mellifera* L., 1758 (Hymenoptera: Apidae): faits et causes probables. *Notes fauniques de Gembloux*, 59(1), 3-21.
- Haydak, M. H. (1970).** Honey bee nutrition. *Annual review of entomology*, 15(1), 143-156.
- Hegland, S. J., & Boeke, L. (2006).** Relationships between the density and diversity of floral resources and flower visitor activity in a temperate grassland community. *Ecological Entomology*, 31(5), 532-538.
- Heil, M. (2011).** Nectar: generation, regulation and ecological functions. *Trends in plant science*, 16(4), 191-200.
- Henry, M. et al. (2012).** A common pesticide decreases foraging success and survival in honey bees. *Science* 336, 348–350.
- Hicks, D. M., Ouvrard, P., Baldock, K. C., Baude, M., Goddard, M. A., Kunin, W. E., ... & Osgathorpe, L. M. (2016).** Food for pollinators: quantifying the nectar and pollen resources of urban flower meadows. *PloS one*, 11(6), e0158117.
- Higes, M., Martín, R. and Meana, A. (2006).** *Nosema ceranae*, a new microsporidian parasite in honeybees in Europe. *Journal of Invertebrate Pathology*, 92(2), pp. 93–95.
- Higgins, L. G., & Hargraeves, B. (1991).** Guide Complet Des Papillons D'europe Et D'afrique Du Nord: Texte de Lionel G. Higgins. Illustre Par Brian Hargraeves. Traduction. *Delachaux et Niestlé*.
- Hoehn, P., Tschardt, T., Tylianakis, J.M. & Steffan-Dewenter, I. (2008).** Functional group diversity of bee pollinators increases crop yield.
- Hole D. G., Perkins A. J., Wilson J. D., Alexander I. H., Grice P. V. & Evans A. D.. (2005).** Does organic farming benefit biodiversity? *Biol. Conserv.* 122, 113–130.
- Holzschuh, A., Steffan-Dewenter, I., & Tschardt, T. (2008).** Agricultural landscapes with organic crops support higher pollinator diversity. *Oikos*, 117(3), 354-361.
- Hu, S., Dilcher, D. L., Jarzen, D. M., & Taylor, D. W. (2008).** Early steps of angiosperm–pollinator coevolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(1), 240-245.
- Hülsmann, M., Von Wehrden, H., Klein, A. M., & Leonhardt, S. D. (2015).** Plant diversity and composition compensate for negative effects of urbanization on foraging bumble bees. *Apidologie*, 46(6), 760-770.

- Iilika, M. (1990).** Germination et conservation du pollen de pistachier (*Pistacia vera* L.). *Programme de recherche Agrimed Amélioration génétique de deux espèces de fruits secs méditerranéens: l'amandier et le pistachier*, 333.
- Ingram, M., Nabhan, G. C., & Buchmann, S. L. (1996).** Impending pollination crisis threatens biodiversity and agriculture. *Tropinet*.
- Jalouzet, R. (1969).** Differentiation nucléaire et cytoplasmique du grain de pollen de *Lilium candidum*. *Experimental Cell Research*, 55(1), 1-8.
- Javorek, S. K., Mackenzie, K. E., & Vander Kloet, S. P. (2002).** Comparative pollination effectiveness among bees (Hymenoptera: Apoidea) on lowbush blueberry (Ericaceae: *Vaccinium angustifolium*). *Annals of the Entomological Society of America*, 95(3), 345-351.
- Johansen, C. A. (1977).** Pesticides and pollinators. *Annual review of entomology*, 22(1), 177-192.
- Johnson, B. R. (2010).** Task partitioning in honey bees: the roles of signals and cues in group-level coordination of action. *Behavioral Ecology*, 21(6), 1373-1379.
- Johnson, R. M., Pollock, H. S. & Berenbaum, M. R. (2009).** Synergistic interactions between in-hive miticides in *Apis mellifera*. *J. Econ. Entomol.* 102, 474–479.
- Kandasamy, M. K., Nasrallah, J. B., & Nasrallah, M. E. (1994).** Pollen-pistil interactions and developmental regulation of pollen tube growth in Arabidopsis. *Development*, 120 (12), 3405-3418.
- Kang, T. W., Jeon, S. J., Kim, H. I., Park, J. H., Yim, D., Lee, H. R., ... & Kim, J. H. (2016).** Optical detection of enzymatic activity and inhibitors on non-covalently functionalized fluorescent graphene oxide. *ACS nano*, 10 (5), 5346-5353.
- Kearns, C. A., Inouye, D. W., & Waser, N. M. (1998).** Endangered mutualisms: the conservation of plant-pollinator interactions. *Annual review of ecology and systematics*, 29 (1), 83-112.
- Kearns, C. A., & Inouye, D. W. (1997).** Pollinators, flowering plants, and conservation biology. *Bioscience*, 47(5), 297-307.
- Kennedy, C. M., Lonsdorf, E., Neel, M. C., Williams, N. M., Ricketts, T. H., Winfree, R., ... & Carvalho, L. G. (2013).** A global quantitative synthesis of local and landscape effects on wild bee pollinators in agroecosystems. *Ecology letters*, 16(5), 584-599.
- Kevan P. (1975).** Forest application of the insecticide fenitrothion and its effect on wild bee pollinators (Hymenoptera: Apoidea) of lowbush blueberries (*Vaccinium spp.*) in Southern New Brunswick, Canada. *Biol. Conserv.* 7, 301–309.
- Kevan, P. G., & Baker, H. G. (1983).** Insects as flower visitors and pollinators. *Annual review of entomology*, 28 (1), 407-453.
- Kirchner, W.H. (1999).** Mad-bee-disease? Sublethal effects of imidacloprid (“Gaucho”) on the behavior of honeybees. *Apidologie* 30, 422.
- Kleijn D. & Sutherland W. J.. (2003).** How effective are European agri-environment schemes in conserving and promoting biodiversity? *J. Appl. Ecol.* 40, 947–969.
- Klein, A. M., Vaissiere, B. E., Cane, J. H., Steffan-Dewenter, I., Cunningham, S. A., Kremen, C., & Tscharntke, T. (2006).** Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. *Proceedings of the royal society B: biological sciences*, 274(1608), 303-313.
- Klein, A. M., Brittain, C., Hendrix, S. D., Thorp, R., Williams, N., & Kremen, C. (2012).** Wild pollination services to California almond rely on semi-natural habitat. *Journal of Applied Ecology*, 49 (3), 723-732.
- Klein, A. M., Vaissiere, B. E., Cane, J. H., Steffan-Dewenter, I., Cunningham, S. A., Kremen, C., & Tscharntke, T. (2006).** Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. *Proceedings of the royal society B: biological sciences*, 274(1608), 303-313.

- Klein, A.-M., Steffan-Dewenter, I. and Tschardt, T. (2003).** Pollination of *Coffea canephora* in relation to local and regional agroforestry management. *Journal of Applied Ecology*, 40(5), pp. 837–845.
- Klinkhamer, P. G., De Jong, T. J., & Linnebank, L. A. (2001).** Small-scale spatial patterns determine ecological relationships: an experimental example using nectar production rates. *Ecology Letters*, 4 (6), 559-567.
- Knuth, P., & Müller, H. (1908).** *Handbook of flower pollination: based upon Hermann Müller's work 'The fertilisation of flowers by insects'* (Vol. 2). Clarendon Press.
- Kremen, C., Williams, N. M., & Thorp, R. W. (2002).** Crop pollination from native bees at risk from agricultural intensification. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(26), 16812-16816.
- Kulahci, I. G., Dornhaus, A., & Papaj, D. R. (2008).** Multimodal signals enhance decision making in foraging bumble-bees. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 275(1636), 797-802.
- Kumar, R. (1991).** La lutte contre les insectes ravageurs: la situation de l'agriculture africaine. *Karthala Editions*.
- Kutchan, T. M. (2001).** Ecological arsenal and developmental dispatcher. The paradigm of secondary metabolism. *Plant physiology*, 125 (1), 58-60.
- Ladet-Vaquer, H. (1984).** Absorption, transport et métabolisation des pesticides au niveau des plantes (Doctoral dissertation).
- Lansink, A. O., & Silva, E. (2004).** Non-parametric production analysis of pesticides use in the Netherlands. *Journal of productivity analysis*, 21 (1), 49-65.
- Lau, T. C., & Stephenson, A. G. (1993).** Effects of soil nitrogen on pollen production, pollen grain size, and pollen performance in *Cucurbita pepo* (Cucurbitaceae). *American Journal of Botany*, 80 (7), 763-768.
- Lau, T. C., & Stephenson, A. G. (1994).** Effects of soil phosphorus on pollen production, pollen size, pollen phosphorus content, and the ability to sire seeds in *Cucurbita pepo* (Cucurbitaceae). *Sexual Plant Reproduction*, 7 (4), 215-220.
- Lau, T. C., Lu, X., Koide, R. T., & Stephenson, A. G. (1995).** Effects of soil fertility and mycorrhizal infection on pollen production and pollen grain size of *Cucurbita pepo* (Cucurbitaceae). *Plant, Cell & Environment*, 18 (2), 169-177.
- Laverty, T. M. (1992).** Plant interactions for pollinator visits: a test of the magnet species effect. *Oecologia*, 89 (4), 502-508.
- Lawrence, W. S. (1993).** Resource and pollen limitation: plant size-dependent reproductive patterns in *Physalis longifolia*. *The American Naturalist*, 141 (2), 296-313.
- Lehrer, M., Horridge, G. A., Zhang, S. W., & Gadagkar, R. (1995).** Shape vision in bees: innate preference for flower-like patterns. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 347(1320), 123-137.
- Leppik, E. E. (1977).** Floral evolution in relation to pollination ecology.
- Leonard, A. S., Dornhaus, A., & Papaj, D. R. (2011).** Flowers help bees cope with uncertainty: signal detection and the function of floral complexity. *Journal of Experimental Biology*, 214(1), 113-121.
- Leraut, P. (2006).** Papillons de nuit d'Europe: Bombyx, Sphinx, Ecailles. NAP.
- Leraut, P. (2012).** Papillons de nuit d'Europe: Zygènes, pyrales 1 et brachodides. NAP éd.
- Letourneau D. K. & Bothwell S. G. (2008).** Comparison of organic and conventional farms: challenging ecologists to make biodiversity functional. *Front. Ecol. Environ.* 6, 430–438.
- Li, H. L., Ni, C. X., Tan, J., Zhang, L. Y., & Hu, F. L. (2016).** Chemosensory proteins of the eastern honeybee, *Apis cerana*: identification, tissue distribution and olfactory related functional

characterization. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 194, 11-19.

**Loper, G. M., Standifer, L. N., Thompson, M. J., & Gilliam, M. (1980).** Biochemistry and microbiology of bee-collected almond (*Prunus dulcis*) pollen and bee bread. I-fatty acids, sterols, vitamins and minerals. *Apidologie*, 11(1), 63-73.

**Loper, G. M., & Cohen, A. C. (1987).** Amino acid content of dandelion pollen, a honey bee (Hymenoptera: Apidae) nutritional evaluation. *Journal of Economic Entomology*, 80 (1), 14-17.

**Loreau, M., Mouquet, N. & Gonzalez, A. (2003).** Biodiversity as spatial insurance in heterogeneous landscapes. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 100, 12 765–12 770.doi:10.1073/pnas.2235465100.

**Louveaux, J., Albisetti, M., Delangue, M., & Theurkauff, M. (1966).** Les modalités de l'adaptation des abeilles (*Apis mellifica* L.) au milieu naturel. *Les Annales de l'Abeille*, INRA Editions, 9 (4), pp.323-350.

**Lucchetti, M. A. (2017).** *Pyrrolizidine alkaloids* (Doctoral dissertation, Université de Neuchâtel).

**MacGregor, J. M., Taskovitch, L. T., & Martin, W. P. (1961).** Effect of Nitrogen Fertilizer and Soil Type on the Amino Acid Content of Corn Grain 1. *Agronomy journal*, 53(4), 211-214.

**Maschinski, J., & Whitham, T. G. (1989).** The continuum of plant responses to herbivory: the influence of plant association, nutrient availability, and timing. *The American Naturalist*, 134(1), 1-19.

**Magnarelli, L. A., Anderson, J. F., & Thorne, J. H. (1979).** Diurnal nectar-feeding of salt marsh Tabanidae (Diptera). *Environmental entomology*, 8(3), 544-548.

**Manning, R., Rutkay, A., Eaton, L., Dell, B. (2007).** Lipid enhanced pollen and lipid reduced flour diets and their effect on the longevity of honey bees (*Apis mellifera* L.). *Australian Journal of Entomology* 46: 251–257.

**Mărgăoan, R., Mărghițaș, L. A., Dezmiorean, D., Mihai, C. M., & Bobiș, O. (2010).** Bee collected pollen—General aspects and chemical composition. *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Animal Science and Biotechnologies*, 67(1-2).

**Masuhr, T. & Menzel, R. (1972).** Learning experiments on the use of side—specific information in the olfactory and visual system in the honey bee (*Apis mellifica*). In *Information Processing in the Visual Systems of Anthropods* (pp. 315-321). Springer, Berlin, Heidelberg.

**Matheson, A., Buchman, S. I., O'Toole, C., Westrich, P., & Williams, I. H. (1996).** The conservation of bees. Academic.

**Mazliak, P. (2013).** Le déterminisme de la floraison: contrôles génétiques et épigénétiques. *De Boeck*.

**McGregor, S. E. (1976).** Insect pollination of cultivated crop plants (Vol. 496). Washington, DC: *Agricultural Research Service*, US Department of Agriculture.

**Meeus, I., Brown, M. J., De Graaf, D. C., & Smagghe, G. U. Y. (2011).** Effects of invasive parasites on bumble bee declines. *Conservation Biology*, 25(4), 662-671.

**Melin, E. (2002).** Botanique Apicole. [en ligne] Université de Liège, Institut de Botanique. <http://tombe.du.ciel.free.fr/IMG/pdf/bota.pdf> (consulté le 13.08.2019).

**Melin, E. (2011).** Botanique apicole. *Ecole d'Apiculture de la Région wallonne & Institut de Botanique*, Université de Liège, Belgique.

**Michener, C. D. (2000).** The Bees of the World (Vol. 1). *The Johns Hopkins University press*, Baltimore.

**Moerman, R., Vanderplanck, M., Fournier, D., Jacquemart, A. L., & Michez, D. (2017).** Pollen nutrients better explain bumblebee colony development than pollen diversity. *Insect Conservation and Diversity*, 10(2), 171-179.

- Moerman, R., Vanderplanck, M., Roger, N., Decleves, S., Wathelet, B., Rasmont, P., ... & Michez, D. (2015).** Growth rate of bumblebee larvae is related to pollen amino acids. *Journal of economic entomology*, 109 (1), 25-30.
- Molina-Montenegro, M. A., Badano, E. I., & Cavieres, L. A. (2008).** Positive interactions among plant species for pollinator service: assessing the ‘magnet species’ concept with invasive species. *Oikos*, 117(12), 1833-1839.
- Mommaerts V, Reynders S, Boulet J, Besard L, Sterk G & Smagghe G. (2010).** Risk assessment for side-effects of neonicotinoids against bumblebees with and without impairing foraging behavior. *Ecotoxicology* 19, 207–215.
- Muchhala, N., & Thomson, J. D. (2012).** Interspecific competition in pollination systems: costs to male fitness via pollen misplacement. *Functional Ecology*, 26 (2), 476-482.
- Mullin, C.A., Frazier, M., Frazier, J.L., Ashcraft, S., Simonds, R., vanEngelsdorp, D & Pettis, J.S. (2010).** High levels of miticides and agrochemicals in North American apiaries: implications for honey bee health. *PLoS ONE* 5, e9754.
- Nabil, G.M. (2010).** Etude comparative entre les miels locaux et les miels importés. [en ligne] <http://guerzoumed.blogspot.com/2010/07/chapitre-i-le-miel-generalitescompositi.html> (consulté le 13.08.2019).
- Nakasu, E. Y., Williamson, S. M., Edwards, M. G., Fitches, E. C., Gatehouse, J. A., Wright, G. A., & Gatehouse, A. M. (2014).** Novel biopesticide based on a spider venom peptide shows no adverse effects on honeybees. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 281(1787), 20140619.
- Neff, J. L., & Simpson, B. B. (1990).** The roles of phenology and reward structure in the pollination biology of wild sunflower (*Helianthus annuus* L., Asteraceae). *Israel Journal of Plant Sciences*, 39(1-2), 197-216
- Nicole, M. C. (2002).** Les relations des insectes phytophages avec leurs plantes hôtes. *Antennae*, 9(1), 5-9.
- Nicolson, S. W. (2011).** Bee food: the chemistry and nutritional value of nectar, pollen and mixtures of the two. *African Zoology*, 46(2), 197-204.
- Nicolson, S. W., & Human, H. (2013).** Chemical composition of the ‘low quality’ pollen of sunflower (*Helianthus annuus*, Asteraceae). *Apidologie*, 44(2), 144-152.
- O’Toole, C. (1993).** Diversity of native bees and agroecosystems. In: *LaSalle J, Gauld ID (eds) Hymenoptera and biodiversity*. CAB International, Wallingford, pp 169–196
- Ollerton, J., Winfree, R., & Tarrant, S. (2011).** How many flowering plants are pollinated by animals? *Oikos*, 120(3), 321-326.
- Organisation des Nations Unies pour l’alimentation et l’agriculture (FAO).** Données de l’utilisation des pesticides [en ligne]. FAOSTAT, 4 mars 2019 [consulté le 30 juin 2019]. Disponible sur <http://www.fao.org/faostat/>.
- Ouaret, F., Drahamani, H., & Ourari, M. E. (2018).** Etude de la diversité morphologique des angiospermes Tiges, Feuilles, Racines.
- Palmer, M., Bernhardt, E., Chornesky, E., Collins, S., Dobson, A., Duke, C., ... & Mappin, M. (2004).** Ecology for a crowded planet.
- Pamminger, T., Becker, R., Himmelreich, S., Schneider, C. W., & Bergtold, M. (2019).** Pollen report: Quantitative review of pollen crude protein concentrations offered by bee pollinated flowers in agricultural and non-agricultural landscapes. *PeerJ Preprints*, 7, e27567v1.
- Paramás, A. M. G., Bárez, J. A. G., Marcos, C. C., García-Villanova, R. J., & Sánchez, J. S. (2006).** HPLC-fluorimetric method for analysis of amino acids in products of the hive (honey and bee-pollen). *Food Chemistry*, 95(1), 148-156.

- Park, M. G., Blitzer, E. J., Gibbs, J., Losey, J. E., & Danforth, B. N. (2015).** Negative effects of pesticides on wild bee communities can be buffered by landscape context. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 282(1809), 20150299.
- Pattemore, D. E. and Wilcove, D. S. (2012).** Invasive rats and recent colonist birds partially compensate for the loss of endemic New Zealand pollinators. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 279(1733), pp. 1597–1605.
- Peñalver, E., Labandeira, C. C., Barrón, E., Delclòs, X., Nel, P., Nel, A., ... & Soriano, C. (2012).** Thrips pollination of Mesozoic gymnosperms. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(22), 8623-8628.
- Pernal, S. F., & Currie, R. W. (2000).** Pollen quality of fresh and 1-year-old single pollen diets for worker honey bees (*Apis mellifera* L.). *Apidologie*, 31(3), 387-409.
- Pernal, S. F., & Currie, R. W. (2000).** Pollen quality of fresh and 1-year-old single pollen diets for worker honey bees (*Apis mellifera* L.). *Apidologie*, 31(3), 387-409.
- Pesson, P. (1984).** Pollinisation et productions végétales. *Editions Quae*.
- Pfister, S. C., Eckert, P. W., Schirmel, J., Cresswell, J. E., & Entling, M. H. (2017).** Sensitivity of commercial pumpkin yield to potential decline among different groups of pollinating bees. *Royal Society open science*, 4(5), 170102.
- Philippe, J. M., & Philippe, J. M. (1991).** La pollinisation par les abeilles: pose de colonies dans les cultures en floraison en vue d'accroître les rendements des productions végétales. Edisud. *Nature*, 405 (2000), pp. 234-242.
- Phillips, B. W. and Gardiner, M. M. (2015).** Use of video surveillance to measure the influences of habitat management and landscape composition on pollinator visitation and pollen deposition in pumpkin (*Cucurbita pepo*) agroecosystems. *PeerJ*. PeerJ Inc., 3, p. e1342.
- Pilling, E. D. & Jepson, P. C. (1993).** Synergism between EBI fungicides and a pyrethroid insecticide in the honeybee (*Apis mellifera*). *Pestic. Sci.* 39, 293–297.
- Pimentel, D., Terhune, E. C., Dritschilo, W., Gallahan, D., Kinner, N., Nafus, D., ... & Haber-Schaim, O. (1977).** Pesticides, insects in foods, and cosmetic standards. *BioScience*, 27(3), 178-185.
- Pisa, L., Goulson, D., Yang, E. C., Gibbons, D., Sánchez-Bayo, F., Mitchell, E., ... & Long, E. Y. (2017).** An update of the Worldwide Integrated Assessment (WIA) on systemic insecticides. Part 2: impacts on organisms and ecosystems. *Environmental Science and Pollution Research*, 1-49.
- Plateau, F. A. J. (1898).** Nouvelles recherches sur les rapports entre les insectes et les fleurs: ptie.] Étude sur le rôle de quelques organes dits vexillaires. *Société zoologique de France*.
- Plateau, F. A. J. (1906).** Les fleurs artificielles et les insectes: nouvelles expériences et observations (Vol. 1, No. 8). *Hayez*.
- Polis, G.A. (1991).** Complex trophic interactions in deserts: an empirical critique of food-web theory. *Am. Nat.* 138:123– 55.
- Pons, A. (1970).** Le pollen. *FeniXX*.
- Popic, T. J., Wardle, G. M., & Davila, Y. C. (2013).** Flower-visitor networks only partially predict the function of pollen transport by bees. *Austral Ecology*, 38 (1), 76-86.
- Potts, S. G., Biesmeijer, J. C., Kremen, C., Neumann, P., Schweiger, O., & Kunin, W. E. (2010).** Global pollinator declines: trends, impacts and drivers. *Trends in ecology & evolution*, 25(6), 345-353.
- Praz, C.J., Müller, A., Dorn, S. (2008).** Specialized bees fail to develop on non-host pollen: do plants chemically protect their pollen? *Ecology* 89: 795–804.
- Primdahl, J., Peco, B., Schramek, J., Andersen, E. & Oñate, J.J. (2003).** Environmental effects of agri-environmental schemes in Western Europe. *J. Environ. Manag.* 67, 129–138.

**Procédure d'autorisation des pesticides par l'Union** – Mercredi 16 janvier 2019 [en ligne]. Parlement européen, 2 avril 2019 [consulté le 30 juin 2019]. Disponible sur <http://www.europarl.europa.eu/>.

**Quinet, M., Warzée, M., Vanderplanck, M., Michez, D., Lognay, G., & Jacquemart, A. L. (2016).** Do floral resources influence pollination rates and subsequent fruit set in pear (*Pyrus communis* L.) and apple (*Malus x domestica* Borkh) cultivars? *European journal of agronomy*, 77, 59-69.

**R Core Team (2018):** A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL: <https://www.R-project.org/>.

**Rasmont, P. (1988).** Monographie écologique et zoogéographique des bourdons de France et de Belgique (Hymenoptera: Apidae, Bombinae). PhD thesis, *Faculté des Sciences Agronomiques de l'Etat, Gembloux, Belgium*.

**Rasmont, P., Leclercq, J., Jacob-Remacle, A., Pauly, A., & Gaspar, C. (1993).** The faunistic drift of Apoidea in Belgium. *Bees for pollination. Commission of the EC*, 65-87.

**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). *Université de Mons, Laboratoire de Zoologie*, 28.

**Rasmont, P., Genoud, D., Gadoum, S., Aubert, M., Dufrière, E., Le Go, G., ... & Pauly, A. (2017).** Hymenoptera gallica: liste des abeilles sauvages de Belgique, France, Luxembourg et Suisse. *Atlas Hymenoptera, Université de Mons*.

**Renoult, J. P., Thomann, M., Schaefer, H. M., & Cheptou, P. O. (2013).** Selection on quantitative colour variation in *Centaurea cyanus*: the role of the pollinator's visual system. *Journal of Evolutionary Biology*, 26 (11), 2415-2427.

**Rhino, B., & Ratnadass, A. (2017).** Utilisation du maïs doux comme plante piège pour contrôler la noctuelle de la tomate *Helicoverpa zea*. *AFPP*.

**Richards, A. (2001).** Does Low Biodiversity Resulting from Modern Agricultural Practice Affect Crop Pollination and Yield? *Annals of Botany*, 88(2), pp. 165–172.

**Ricou, C., Schneller, C., Amiaud, B., Plantureux, S., & Bockstaller, C. (2014).** A vegetation-based indicator to assess the pollination value of field margin flora. *Ecological Indicators*, 45, 320-331.

**Ritter, K. S., Weiss, B. A., Norrbom, A. L., & Nes, W. R. (1982).** Identification of  $\Delta^5$ , 7-24-methylene-and methylsterols in the brain and whole body of *Atta cephalotes* isthmicola. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, 71(3), 345-349.

**Ritter, K. S. (1983).** Metabolism of  $\Delta^0$ -,  $\Delta^5$ -, and  $\Delta^7$ -Sterols by Larvae of *Heliothis zea*. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 1(3), 281-296.

**Robinson, R. A., & Sutherland, W. J. (2002).** Post-war changes in arable farming and biodiversity in Great Britain. *Journal of applied Ecology*, 39(1), 157-176.

**Roger, N., Moerman, R., Carvalheiro, L. G., Aguirre-Gutiérrez, J., Jacquemart, A. L., Kleijn, D., ... & Richel, A. (2017).** Impact of pollen resources drift on common bumblebees in NW Europe. *Global change biology*, 23(1), 68-76.

**Roger, N., Michez, D., Wattiez, R., Sheridan, C., & Vanderplanck, M. (2017).** Diet effects on bumblebee health. *Journal of insect physiology*, 96, 128-133.

**Rollin, O. (2013).** Étude multi-échelle du patron de diversité des abeilles et utilisation des ressources fleuries dans un agrosystème intensif (Doctoral dissertation).

**Rop, O., Mlcek, J., Jurikova, T., Neugebauerova, J., & Vabkova, J. (2012).** Edible flowers—a new promising source of mineral elements in human nutrition. *Molecules*, 17(6), 6672-6683.

**Rortais, A., Arnold, G., Halm, M. P., & Touffet-Briens, F. (2005).** Modes of honeybees exposure to systemic insecticides: estimated amounts of contaminated pollen and nectar consumed by different categories of bees. *Apidologie*, 36 (1), 71-83.

- Roubik, D. W. (2002).** Tropical agriculture: the value of bees to the coffee harvest. *Nature*, 417(6890), 708.
- Roulston, T. H. and Cane, J. H. (2000).** Pollen nutritional content and digestibility for animals. In *Pollen and Pollination*. Vienna: Springer Vienna, pp. 187–209.
- Roulston, T. A. H., Cane, J. H., & Buchmann, S. L. (2000).** What governs protein content of pollen: pollinator preferences, pollen–pistil interactions, or phylogeny? *Ecological monographs*, 70 (4), 617–643.
- Roulston, T. A. H., & Goodell, K. (2011).** The role of resources and risks in regulating wild bee populations. *Annual review of entomology*, 56, 293–312.
- Ruedenauer, F. A., Leonhardt, S. D., Lunau, K., & Spaethe, J. (2019).** Bumblebees are able to perceive amino acids via chemotactile antennal stimulation. *Journal of Comparative Physiology A*, 205 (3), 321–331.
- Salt, T. A., & Adler, J. H. (1986).** Dominance of  $\Delta^7$ -sterols in the family caryophyllaceae in the family caryophyllaceae. *Lipids*, 21(12), 754–758.
- Sawidis, T., & Reiss, H. D. (1995).** Effects of heavy metals on pollen tube growth and ultrastructure. *Protoplasma*, 185 (3–4), 113–122.
- Scalla, R. (2002).** Devenir des herbicides et modifications métaboliques dans les plantes transgéniques. *Evaluation du risque toxicologique des OGM*, 66–77.
- Schneider, C. W., Tautz, J., Grünewald, B. & Fuchs, S. (2012).** RFID tracking of sublethal effects of two neonicotinoid insecticides on the foraging behavior of *Apis mellifera*. *PLoS ONE* 7, e30023.
- Seifan, M., Hoch, E. M., Hanoteaux, S., & Tielbörger, K. (2014).** The outcome of shared pollination services is affected by the density and spatial pattern of an attractive neighbour. *Journal of Ecology*, 102 (4), 953–962.
- Serre C., J. Fayard, J. Boisrame, AL. Yailian, L. Roussel, F. Falson, C. Pivot, F. Pirot (2016).** Mise au point et validation du dosage d'acides aminés par chromatographie liquide haute performance (CLHP) dans des poches de nutrition parentérale pédiatrique. Laboratoire de Pharmacie Galénique Industrielle, UMR 5305, Plateforme FRIPHARM, Faculté de Pharmacie, Université Claude Bernard Lyon 1, 8, avenue Rockefeller, F-69373 Lyon cedex 08, France. Service Pharmaceutique, Plateforme FRIPHARM, Groupement Hospitalier Edouard Herriot, 5, Place d'Arsonval, F-69437 Lyon cedex 03, France.
- Service Public de Wallonie. Législation – Portail de l'agriculture wallonne.** Programme wallon de réduction des pesticides [en ligne]. Wallonie Agriculture SPW, 2018 [consulté le 30 juin 2019]. Disponible sur <https://agriculture.wallonie.be/>.
- Shah, F., Huang, J., Cui, K., Nie, L., Shah, T., Chen, C., & Wang, K. (2011).** Impact of high-temperature stress on rice plant and its traits related to tolerance. *The Journal of Agricultural Science*, 149 (5), 545–556.
- Sih, A., & Baltus, M. S. (1987).** Patch size, pollinator behavior, and pollinator limitation in catnip. *Ecology*, 68 (6), 1679–1690.
- Simon-Delso, N., San Martin, G., Bruneau, E., Minsart, L. A., Mouret, C., & Hautier, L. (2014).** Honeybee colony disorder in crop areas: the role of pesticides and viruses. *PloS one*, 9 (7), e103073.
- Simpson, B. B., & Neff, J. L. (1981).** Floral rewards: alternatives to pollen and nectar. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 301–322.
- Somerville, D. C., & Nicol, H. I. (2006).** Crude protein and amino acid composition of honey bee-collected pollen pellets from south-east Australia and a note on laboratory disparity. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 46 (1), 141–149.

- Somme, L., Vanderplanck, M., Michez, D., Lombaerde, I., Moerman, R., Wathelet, B., ... & Jacquemart, A. L. (2015).** Pollen and nectar quality drive the major and minor floral choices of bumble bees. *Apidologie*, 46 (1), 92-106.
- Southwick, E. E., & Southwick Jr, L. (1992).** Estimating the economic value of honey bees (Hymenoptera: Apidae) as agricultural pollinators in the United States. *Journal of Economic Entomology*, 85 (3), 621-633.
- Standifer, L. N., McCaughey, W. F., Todd, F. E., & Kemmerer, A. R. (1960).** Relative availability of various proteins to the honey bee. *Annals of the Entomological Society of America*, 53 (5), 618-625.
- Stanley, R. G. (1971).** Pollen chemistry and tube growth. In *Pollen* (pp. 131-155). Butterworth-Heinemann.
- Stenerson, K. K. (2011).** The derivatization and analysis of amino acids by GC-MS. *Reporter US*, 25, 1-3.
- Stevenson, T. J., Visser, M. E., Arnold, W., Barrett, P., Biello, S., Dawson, A., ... & Evans, N. (2015).** Disrupted seasonal biology impacts health, food security and ecosystems. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 282 (1817), 20151453.
- Suarez, R. K., Lighton, J. R., Joos, B., Roberts, S. P., & Harrison, J. F. (1996).** Energy metabolism, enzymatic flux capacities, and metabolic flux rates in flying honeybees. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 93 (22), 12616-12620.
- Svoboda, J. A., & Lusby, W. R. (1986).** Sterols of phytophagous and omnivorous species of Hymenoptera. *Archives of insect biochemistry and physiology*, 3(1), 13-18.
- Takatsuto, S., & Omote, K. (1989).** Phytosterol composition in the pollen of sunflower, *Helianthus annuus* L. *Agricultural and biological chemistry*, 53(12), 3363-3364.
- Tallis, H., Goldmann, R., Uhl, M. & Brosi, B. (2009).** Integrating conservation and development in the field: implementing ecosystem service projects. *Front. Ecol. Environ.* 7, 12–20.
- Tasei, J. N. (1996).** Impact des pesticides sur les Abeilles et les autres pollinisateurs. *Le Courrier de l'environnement de l'INRA*, 29 (29), 9-18.
- Thompson, H. M. (2003).** Behavioural effects of pesticides in bees - their potential for use in risk assessment. *Ecotoxicology* 12, 317–330.
- Thomson, G. M. (1922).** The naturalisation of plants and animals in New Zealand. *Cambridge University*.
- Thomson, J. D. (1986).** Pollen transport and deposition by bumble bees in *Erythronium*: influences of floral nectar and bee grooming. *The Journal of Ecology*, 329-341.
- Thomson, J. D., Price, M. V., Waser, N. M., & Stratton, D. A. (1986).** Comparative studies of pollen and fluorescent dye transport by bumble bees visiting *Erythronium grandiflorum*. *Oecologia*, 69(4), 561-566.
- Thorp, R. W. (1979).** Structural, behavioral, and physiological adaptations of bees (Apoidea) for collecting pollen. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 788-812.
- Ting, K. C., Zhou, E. G., & Saini, N. (2004).** Determination of imidacloprid in fruits and vegetables by liquid chromatography with diode array and nitrogen-specific chemiluminescence detection. *Journal of AOAC International*, 87(4), 997-1002.
- Tohmé, G., & Tohmé, H. (2010).** Espèces nouvelles de plantes du Liban. *Lebanese Science Journal*, 11 (2), 133-138.
- Tosi, S., Nieh, J. C., Sgolastra, F., Cabbri, R., & Medrzycki, P. (2017).** Neonicotinoid pesticides and nutritional stress synergistically reduce survival in honey bees. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 284 (1869), 20171711.

- Toth, A. L., Kantarovich, S., Meisel, A. F., & Robinson, G. E. (2005).** Nutritional status influences socially regulated foraging ontogeny in honey bees. *Journal of Experimental Biology*, 208 (24), 4641-4649.
- Trottier, R. (1980).** Early Warning System for Apple Pest Management in Canada 1: Système de prévision pour la lutte dirigée contre les ravageurs des pommeraies au Canada. *EPPO Bulletin*, 10 (2), 253-257.
- Tscharntke, T., Bommarco, R., Clough, Y., Crist, T. O., Kleijn, D., Rand, T. A., Tylianakis, J. M., Van Nouhuys, S. & Vidal, S. (2007).** Conservation biological control and enemy diversity on a landscape scale. *Biol. Cont.*43, 294–309.
- Tuna, A. L., Bürün, B., Yokas, İ., & Coban, E. (2002).** The effects of heavy metals on pollen germination and pollen tube length in the tobacco plant. *Turkish Journal of Biology*, 26 (2), 109-113.
- Ullah, I., Ali, M., & Farooqi, A. (2010).** Chemical and nutritional properties of some maize (*Zea mays L.*) varieties grown in NWFP, Pakistan. *Pakistan journal of Nutrition*, 9 (11), 1113-1117.
- Vaissière, B. (2002).** Abeilles et pollinisation. *Courrier de la nature-Paris*, 24-27.
- Vanbergen, A. J., & Initiative, T. I. P. (2013).** Threats to an ecosystem service: pressures on pollinators. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 11 (5), 251-259.
- Vanderplanck, M., Leroy, B., Wathelet, B., Wattiez, R., & Michez, D. (2014).** Standardized protocol to evaluate pollen polypeptides as bee food source. *Apidologie*, 45 (2), 192-204.
- Vanderplanck, M., Michez, D., Vancraenenbroeck, S., & Lognay, G. (2011).** Micro-quantitative method for analysis of sterol levels in honeybees and their pollen loads. *Analytical letters*, 44 (10), 1807-1820.
- Vanderplanck, M., Moerman, R., Rasmont, P., Lognay, G., Wathelet, B., Wattiez, R., & Michez, D. (2014).** How does pollen chemistry impact development and feeding behaviour of polylectic bees?. *PloS one*, 9 (1), e86209.
- Van Rijn, P. C., & Wäckers, F. L. (2016).** Nectar accessibility determines fitness, flower choice and abundance of hoverflies that provide natural pest control. *Journal of Applied Ecology*, 53(3), 925-933.
- Vasquez, A., & Olofsson, T. C. (2009).** The lactic acid bacteria involved in the production of bee pollen and bee bread. *Journal of apicultural research*, 48 (3), 189-195.
- Vidal, J. (1963).** Systématique, Nomenclature et Phytonymie botanique populaire au Laos. *Journal d'agriculture traditionnelle et de botanique appliquée*, 10 (10), 438-448.
- Villeneuve, A.** Mise au point d'un protocole de caractérisation de la flore et de l'entomofaune des bandes fleuries.
- Vorlova, L., & Čelechovská, O. (2002).** Activity of enzymes and trace element content in the bee honey. *Acta Veterinaria Brno*, 71 (3), 375-378.
- Walton, J. (2017).** Chromatographie : histoire et tendances futures. Bronkhorst, France.
- Waser, N. M. (1986).** Flower constancy: definition, cause, and measurement. *The American Naturalist*, 127 (5), 593-603.
- Weiner, CN., Hilpert, A., Werner, M., Linsenmair, K.E., Bluthgen, N. (2010).** Pollen amino acids and flower specialization in solitary bees. *Apidologie* 41, 476-487.
- Wery, J. (1904).** Quelques expériences sur l'attraction des abeilles par les fleurs. *Hayez, imprimerie de l'Académie royale de Belgique*.
- Westphal, C., Bommarco, R., Carré, G., Lamborn, E., Morison, N., Petanidou, T., ... & Vaissière, B. E. (2008).** Measuring bee diversity in different European habitats and biogeographical regions. *Ecological monographs*, 78 (4), 653-671.

- Westphal, C., Steffan-Dewenter, I. and Tschardt, T. (2003).** Mass flowering crops enhance pollinator densities at a landscape scale. *Ecology Letters*, 6 (11), pp. 961–965.
- Whitehorn, P. R., O'Connor, S., Wackers, F. L. & Goulson, D. (2012).** Neonicotinoid pesticide reduces bumble bee colony growth and queen production. *Science* 336, 351–352.
- Williams, I.H. (1994).** The dependence of crop production within the European Union on pollination by honey bees. *Agricultural Science Reviews*; 6: 229-257.
- Williams IH & Christian DG (2015).** Observations on *Phacelia tanacetifolia* Bentham (Hydrophyllaceae) as a food plant for honey bees and bumble bees. *Journal of Apicultural Research*,30:1, 3-12
- Williams, G. M., Kroes, R., & Munro, I. C. (2000).** Safety evaluation and risk assessment of the herbicide Roundup and its active ingredient, glyphosate, for humans. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 31 (2), 117-165.
- Williams, N. M., Crone, E. E., T'ai, H. R., Minckley, R. L., Packer, L., & Potts, S. G. (2010).** Ecological and life-history traits predict bee species responses to environmental disturbances. *Biological Conservation*, 143(10), 2280-2291.)
- Williams, P.H. (1982).** The distribution and decline of British bumble bees (*Bombus* Latr.). *Journal of Apicultural Research*, 21, 236-245.
- Willmer, P. (2011).** Pollination and floral ecology. *Princeton University Press*.
- Wilson, C., & Tisdell, C. (2001).** Why farmers continue to use pesticides despite environmental, health and sustainability costs. *Ecological economics*, 39 (3), 449-462.
- Wilson, P., & Thomson, J. D. (1996).** How do flowers diverge? In *Floral biology* (pp. 88-111). Springer, Boston, MA.
- Winfree, R., Aguilar, R., Vázquez, D. P., LeBuhn, G., & Aizen, M. A. (2009).** A meta-analysis of bees' responses to anthropogenic disturbance. *Ecology*, 90(8), 2068-2076.
- Wolfgang, D. & Werner, R. (2013).** Guide des insectes de France et d'Europe. Edition : *Delachaux & Niestlé*.
- Woodward, F. I., & Woodward, F. I. (1987).** *Climate and plant distribution*. Cambridge University Press.
- Yachi, S. & Loreau, M. (1999).** Biodiversity and ecosystem productivity in a fluctuating environment: the insurance hypothesis. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 96, 1463–1468.
- Yang, K., Wu, D., Ye, X., Liu, D., Chen, J., & Sun, P. (2013).** Characterization of chemical composition of bee pollen in China. *Journal of agricultural and food chemistry*, 61 (3), 708-718.
- Yang, S.D., Seo, P.J., Yoon, H.K., and Park, C.M. (2011).** The *Arabidopsis* NAC transcription factor VNI2 integrates abscisic acid signals into leaf senescence via the COR/RD genes. *Plant Cell*. 23, 2155–2168.
- Young, H. J. & Stanton, M. L. (1990).** Influence of environmental quality on pollen competitive ability in wild radish. *Science*, 248 (4963), 1631-1633.
- Zandonella, P., Dumas, C., & Gaude, T. (1981).** Sécrétions et biologie florale. I. Nature, origine et rôle des sécrétions dans la pollinisation et la fécondation: revue des données récentes. *Apidologie*, 12 (4), 383-396.
- Zhang, D., Armitage, A. M., Affolter, J. M., & Dirr, M. A. (1996).** Environmental Control of Flowering and Growth of *Achillea millefolium* L. Summer Pastels'. *HortScience*, 31 (3), 364-365.
- Zhang, W., Jiang, F., & Ou, J. (2011).** Global pesticide consumption and pollution: with China as a focus. *Proceedings of the International Academy of Ecology and Environmental Sciences*, 1 (2), 125.

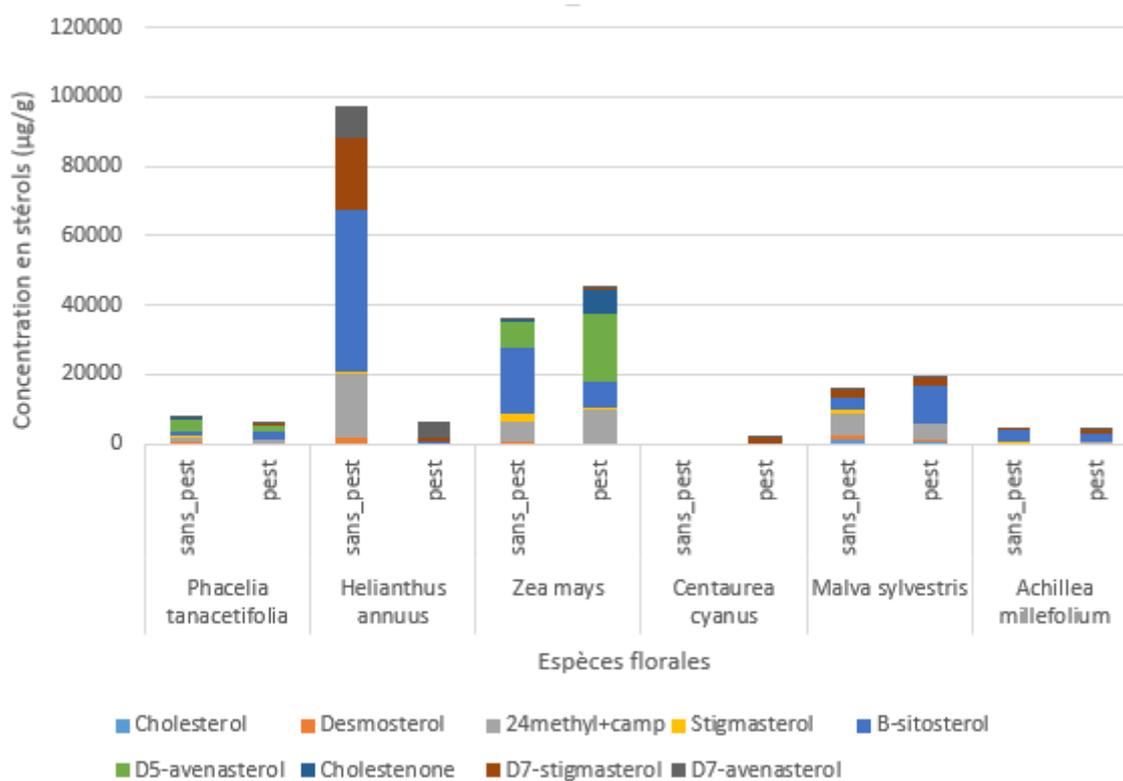
**Zhu, G., Wu, H., Guo, J., & Kimaro, F. M. (2004).** Microbial degradation of fipronil in clay loam soil. *Water, Air, and Soil Pollution*, 153(1-4), 35-44.

**Ziegler, A.M., Cocks, L.R.M. & Bambach, R.K. (1968).** The composition and structure of Lower Silurian marine communities. *Lethaia*, Vol. 1, pp. 1-27. Oslo.

**Zurbuchen, A., Landert, L., Klaiber, J., Müller, A., Hein, S., & Dorn, S. (2010).** Maximum foraging ranges in solitary bees: only few individuals have the capability to cover long foraging distances. *Biological Conservation*, 143 (3), 669-676.

## IX. Annexes

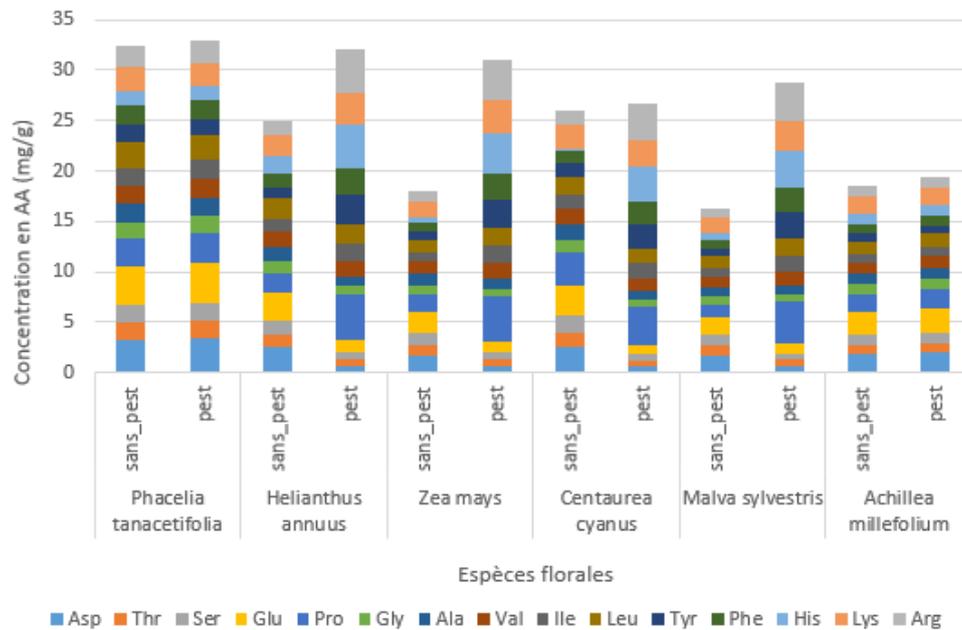
Annexe 1 : Comparaison des concentrations absolues en stérols dans le pollen des espèces florales *Phacelia tanacetifolia*, *Helianthus annuus*, *Zea mays*, *Centaurea cyanus*, *Malva sylvestris* et *Achillea millefolium* pour les deux sites.



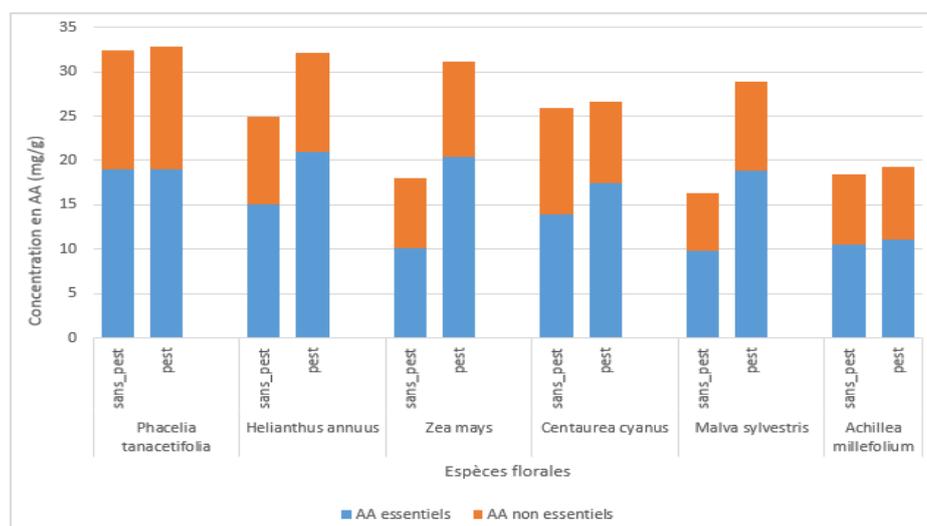
Annexe 2 : Composés stéroliques des pollens floraux. Les proportions individuelles de chacun des composés sont exprimées en pourcentage de la composition stérolique totale (moyenne  $\pm$  écart-type), la concentration en stérols totaux est exprimée en mg par g de pollen lyophilisé (moyenne  $\pm$  écart-type). Les valeurs en vert proviennent du pollen peu exposé aux pesticides et celles en orange du pollen fortement exposé aux pesticides. Les composés stéroliques de *Centaurea cyanus* n'ont pas pu être déterminés pour le site peu exposé aux pesticides.

Espèces Stérols	<i>Achillea millefolium</i>	<i>Centaurea cyanus</i>	<i>Helianthus annuus</i>	<i>Malva sylvestris</i>	<i>Phacelia tanacetifolia</i>	<i>Zea mays</i>
Cholestérol	12,8 $\pm$ 7,8		0,5 $\pm$ 0,46	8,7 $\pm$ 1,5	2,5	0,8
	2,9 $\pm$ 0,8	19,7 $\pm$ 9,9	0	4,4 $\pm$ 1,2	1,6 $\pm$ 0,46	0
Desmostérol	1,0 $\pm$ 0,6		2,0 $\pm$ 1,9	4,2 $\pm$ 0,6	5,3	0,2
	2,6 $\pm$ 0,5	1,2 $\pm$ 0,6	0	3,5 $\pm$ 2,5	2,8 $\pm$ 1,2	0,2 $\pm$ 0,05
24-méthylènecholestérol + campestérol	3,6 $\pm$ 2,1		13,5 $\pm$ 5,8	42,2 $\pm$ 4,9	15,0	16,2
	5,4 $\pm$ 4,1	1,6 $\pm$ 0,8	0	30,1 $\pm$ 21,6	34,8 $\pm$ 26,7	24,8 $\pm$ 9,3
Stigmastérol	1,7 $\pm$ 0,9		3,4 $\pm$ 3,3	11,8 $\pm$ 9,9	5,1	6,8
	1,9 $\pm$ 1,2	1,7 $\pm$ 0,8	0	18,4 $\pm$ 9,9	5,9 $\pm$ 4,0	2,2 $\pm$ 0,8
B-sitostérol	42,4 $\pm$ 24,9		29,1 $\pm$ 19,8	20,9 $\pm$ 2,5	15,0	52,9
	45,4 $\pm$ 36,3	2,3 $\pm$ 1,2	5,2 $\pm$ 4,2	33,6 $\pm$ 26,1	44,0 $\pm$ 24,3	27,9 $\pm$ 21,1
$\Delta$ 5-avenastérol	0		3,8 $\pm$ 3,7	0	50,6	20,1
	2,6 $\pm$ 2,5	8,8 $\pm$ 4,4	16,5 $\pm$ 6,9	7,3 $\pm$ 7,2	47,2 $\pm$ 30,7	35,0 $\pm$ 23,6
Cholesténone	0		1,8 $\pm$ 1,7	0	2,8	1,1
	0	7,3 $\pm$ 3,7	0	0	4,8 $\pm$ 3,0	7,3 $\pm$ 4,7
$\Delta$ 7-stigmastérol	38,6 $\pm$ 26,44		12,4 $\pm$ 9,3	12,2 $\pm$ 7,1	3,1	0,8
	24,3 $\pm$ 20,5	75,6 $\pm$ 36,7	22,7 $\pm$ 14,8	12,8 $\pm$ 0,5	13,0 $\pm$ 5,9	1,4 $\pm$ 0,8
$\Delta$ 7-avenastérol	0		33,6 $\pm$ 25,4	0,1 $\pm$ 0,06	0,6	1,0
	10,1 $\pm$ 8,8	54,6 $\pm$ 27,3	66,7 $\pm$ 66,3	3,2 $\pm$ 3,1	1,24 $\pm$ 0,1	2,4 $\pm$ 1,4
Total (mg/g)	8,7 $\pm$ 5,7		97,6 $\pm$ 13,1	15,9 $\pm$ 7,9	7,7	36,2
	4,5 $\pm$ 2,0	2,4 $\pm$ 1,4	6,6 $\pm$ 3,2	19,3 $\pm$ 2,7	5,8 $\pm$ 3,7	52,8 $\pm$ 37,4

Annexe 3 : Comparaison des concentrations absolues en acides aminés totaux (AAT) dans le pollen des espèces florales *Phacelia tanacetifolia*, *Helianthus annuus*, *Zea mays*, *Centaurea cyanus*, *Malva sylvestris* et *Achillea millefolium* pour les deux sites.



Annexe 4 : Comparaison des concentrations absolues en acides aminés essentiels (EAA) dans le pollen des espèces florales *Phacelia tanacetifolia*, *Helianthus annuus*, *Zea mays*, *Centaurea cyanus*, *Malva sylvestris* et *Achillea millefolium* pour les deux sites.



Annexe 5 : Composés en acides aminés totaux et **essentiels** des pollens floraux. Les proportions individuelles de chacun des composés sont exprimées en pourcentage (moyenne  $\pm$  écart-type), la concentration en acides aminés totaux et **essentiels** est exprimée en mg par g de pollen lyophilisé (moyenne  $\pm$  écart-type). Les valeurs en vert proviennent du site sans pesticides et celles en orange du site avec pesticides.

<i>Espèces</i> Acides aminés	<i>Achillea</i> <i>millefolium</i>	<i>Centaurea cyanus</i>	<i>Helianthus</i> <i>annuus</i>	<i>Malva sylvestris</i>	<i>Phacelia tanacetifolia</i>	<i>Zea mays</i>
Alanine	5,8 $\pm$ 0,06 5,7 $\pm$ 0,10	5,9 2,9 $\pm$ 0,01	5,6 $\pm$ 0,05 2,9 $\pm$ 0,02	5,2 $\pm$ 0,10 2,9 $\pm$ 0,03	5,4 $\pm$ 0,09 5,6 $\pm$ 0,01	6,1 $\pm$ 0,11 2,9 $\pm$ 0,02
<b>Arginine</b>	5,1 $\pm$ 0,14 5,0 $\pm$ 0,17	5,3 13,3 $\pm$ 0,04	5,3 $\pm$ 0,14 13,4 $\pm$ 0,06	5,7 $\pm$ 0,11 13,4 $\pm$ 0,09	6,8 $\pm$ 0,36 6,8 $\pm$ 0,20	5,5 $\pm$ 0,25 13,3 $\pm$ 0,06
<b>Acide aspartique</b>	9,8 $\pm$ 0,24 10,2 $\pm$ 0,29	10,0 2,3 $\pm$ 0,05	10,0 $\pm$ 0,38 2,2 $\pm$ 0,02	10,8 $\pm$ 0,27 2,2 $\pm$ 0,05	9,9 $\pm$ 0,24 10,3 $\pm$ 0,41	9,8 $\pm$ 0,18 2,2 $\pm$ 0,03
Acide glutamique	12,5 $\pm$ 0,14 12,4 $\pm$ 0,23	11,4 3,6 $\pm$ 0,02	11,3 $\pm$ 0,02 3,5 $\pm$ 0,02	11,2 $\pm$ 0,24 3,5 $\pm$ 0,03	11,8 $\pm$ 0,09 12,0 $\pm$ 0,18	10,8 $\pm$ 0,17 3,5 $\pm$ 0,03
Glycine	5,0 $\pm$ 0,04 5,0 $\pm$ 0,11	5,0 2,5 $\pm$ 0,01	5,5 $\pm$ 0,04 2,5 $\pm$ 0,01	4,7 $\pm$ 0,09 2,5 $\pm$ 0,02	5,9 $\pm$ 0,09 5,0 $\pm$ 0,06	5,0 $\pm$ 0,14 2,5 $\pm$ 0,02
<b>Histidine</b>	5,6 $\pm$ 0,05 5,3 $\pm$ 0,12	0,2 13,2 $\pm$ 0,04	6,9 $\pm$ 0,08 13,2 $\pm$ 0,03	3,9 $\pm$ 0,08 13,2 $\pm$ 0,06	4,1 $\pm$ 0,31 3,9 $\pm$ 0,15	3,5 $\pm$ 0,06 13,2 $\pm$ 0,03
<b>Isoleucine</b>	5,5 $\pm$ 0,37 5,5 $\pm$ 0,47	5,3 5,3 $\pm$ 0,05	5,0 $\pm$ 0,21 5,4 $\pm$ 0,03	5,4 $\pm$ 0,53 5,4 $\pm$ 0,02	5,5 $\pm$ 0,13 5,5 $\pm$ 0,10	4,7 $\pm$ 0,22 5,4 $\pm$ 0,03
<b>Leucine</b>	7,8 $\pm$ 0,32 7,5 $\pm$ 0,11	7,3 5,6 $\pm$ 0,04	7,8 $\pm$ 0,20 5,7 $\pm$ 0,02	7,6 $\pm$ 0,28 5,5 $\pm$ 0,02	7,8 $\pm$ 0,13 7,5 $\pm$ 0,14	7,2 $\pm$ 0,17 5,7 $\pm$ 0,02
<b>Lysine</b>	9,6 $\pm$ 0,71 9,5 $\pm$ 0,23	9,5 10,0 $\pm$ 0,08	8,6 $\pm$ 0,21 10,1 $\pm$ 0,04	1,5 $\pm$ 0,25 2,9 $\pm$ 0,03	7,5 $\pm$ 0,50 7,0 $\pm$ 0,08	8,4 $\pm$ 0,34 10,0 $\pm$ 0,04
<b>Phénylalanine</b>	4,9 $\pm$ 0,21 4,8 $\pm$ 0,13	5,1 8,3 $\pm$ 0,09	5,4 $\pm$ 0,19 8,3 $\pm$ 0,11	9,2 $\pm$ 0,23 10,1 $\pm$ 0,13	6,0 $\pm$ 0,41 5,8 $\pm$ 0,16	4,9 $\pm$ 0,09 8,3 $\pm$ 0,13
Proline	9,5 $\pm$ 0,42 9,7 $\pm$ 0,15	12,8 14,5 $\pm$ 0,07	7,4 $\pm$ 0,11 14,3 $\pm$ 0,09	7,6 $\pm$ 2,17 14,3 $\pm$ 0,15	8,8 $\pm$ 1,25 9,0 $\pm$ 0,15	10,4 $\pm$ 0,44 14,4 $\pm$ 0,11

S. Palumbo – Variation des quantités des ressources florales des abeilles en milieu agricole – 2018

Sérine	5,6 ± 0,10	6,6	5,2 ± 0,15	6,5 ± 0,16	5,4 ± 0,10	6,8 ± 0,19
	5,7 ± 0,11	2,1 ± 0,02	2,0 ± 0,01	2,1 ± 0,03	5,4 ± 0,02	2,0 ± 0,02
<b>Thréonine</b>	<b>4,8 ± 0,12</b>	<b>5,1</b>	<b>5,3 ± 0,11</b>	<b>5,7 ± 0,13</b>	<b>5,3 ± 0,07</b>	<b>5,8 ± 0,10</b>
	<b>4,8 ± 0,07</b>	<b>2,2 ± 0,03</b>	<b>2,2 ± 0,1</b>	<b>2,2 ± 0,04</b>	<b>5,3 ± 0,09</b>	<b>2,2 ± 0,02</b>
Tyrosine	4,3 ± 0,26	4,9	4,6 ± 0,06	4,5 ± 0,12	5,2 ± 0,38	4,3 ± 0,38
	4,3 ± 0,17	9,1 ± 0,06	9,2 ± 0,09	9,1 ± 0,12	5,0 ± 0,21	9,1 ± 0,11
<b>Valine</b>	<b>5,8 ± 0,10</b>	<b>5,9</b>	<b>6,1 ± 0,25</b>	<b>6,5 ± 0,21</b>	<b>5,6 ± 0,25</b>	<b>6,8 ± 0,26</b>
	<b>6,1 ± 0,18</b>	<b>5,1 ± 0,04</b>	<b>5,1 ± 0,02</b>	<b>5,1 ± 0,02</b>	<b>5,7 ± 0,22</b>	<b>5,2 ± 0,03</b>
Total AAE (mg/g)	<b>10,6 ± 0,37</b>	<b>13,9 ± 0,74</b>	<b>15,0 ± 0,44</b>	<b>9,8 ± 0,35</b>	<b>19,0 ± 0,56</b>	<b>10,2 ± 0,35</b>
	<b>11,1 ± 0,41</b>	<b>17,4 ± 1,12</b>	<b>21,0 ± 1,36</b>	<b>18,9 ± 1,22</b>	<b>19,1 ± 0,60</b>	<b>20,4 ± 1,31</b>
Total AAT (mg/g)	18,5 ± 0,46	25,9 ± 0,81	24,9 ± 0,49	16,3 ± 0,36	32,5 ± 0,69	18,0 ± 0,40
	19,3 ± 0,49	26,7 ± 1,18	32,1 ± 1,42	26,7 ± 1,18	32,9 ± 0,73	31,1 ± 1,38