

Partage des ressources polliniques entre abeilles domestiques (*Apis mellifera* L.) et bourdons (*Bombus terrestris* (L.)) en fonction de la présence ou de l'absence de b -sitostérol : mise au point d'une méthode expérimentale

Directeur de mémoire:
Professeur Pierre Rasmont

Mémoire présenté par
Frédéric Debaille
en vue de l'obtention
du grade légal de licencié
en Sciences Zoologiques

Année Académique 1994-1995

Résumé

Mots-clé: *Bombus terrestris*, *Apis mellifera*, stérols, partage des ressources.

Bien qu'ils soient taxonomiquement très proches, il semble exister une différence de métabolisme des stérols entre les abeilles et les bourdons: les abeilles utilisent préférentiellement le 24-méthylènecholestérol (précurseur du makistéron A, hormone de mue) pour élever leur couvain tandis que les bourdons semblent préférer le b -sitostérol.

Il pourrait exister un partage des ressources entre abeilles et bourdons basé sur la présence ou l'absence de b -sitostérol.

Lors d'expériences menées en serre avec des abeilles et des bourdons, nous avons testé l'appétence de deux pollens de composition connue additionnés ou non de b -sitostérol et distribués dans des fleurs artificielles de couleur jaune ou bleue.

Nous avons montré que les abeilles domestiques ont une forte répulsion vis-à-vis du b -sitostérol et que, dans le cas où des fleurs jaunes et des fleurs bleues contiennent le même pollen, les abeilles préfèrent les fleurs jaunes.

Nous avons aussi montré qu'en cas de conflit de choix entre la composition stérolique du pollen et la couleur de la fleur (fleurs jaunes avec pollen contenant du b -sitostérol), les abeilles ont tendance à privilégier le facteur couleur des fleurs (fleurs jaunes).

Les bourdons adoptent le même comportement lorsque le milieu est faiblement peuplé d'abeilles, mais lorsque le milieu est saturé, ils semblent être repoussés vers les fleurs délaissées par les abeilles, c'est-à-dire les fleurs bleues et/ou celles dont le pollen est additionné de b -sitostérol.

Nous avons aussi constaté des différences au niveau du choix des couleurs par les bourdons selon qu'il s'agit de la sous-espèce *Bombus terrestris terrestris* (L.), qui semble préférer les fleurs jaunes, ou de la sous-espèce *Bombus terrestris lusitanicus* Krüger qui, elle, préfère les fleurs bleues. Cependant, il n'a pas été clairement établi que ces différences de choix sont dues aux différences de sous-espèce. Il se peut en effet qu'elles soient dues à des différences de saturation du milieu par les abeilles.

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier M. le professeur [P. Rasmont](#) de l'[Université de Mons-Hainaut](#) pour m'avoir accueilli dans son laboratoire et pour les nombreux conseils qu'il m'a prodigués tout au long de l'avancement de ce travail.

Je remercie également M. le professeur J.-C. Verhaeghe pour l'attention qu'il a apportée à ce travail et pour le temps qu'il a bien voulu me consacrer.

J'aimerais aussi remercier le D^r I^r G. Lognay de la Faculté des Sciences Agronomiques de Gembloux qui a effectué les analyses stéroliques du pollen et M. I^r E. Bruneau du Centre Apicole de Recherche et d'Information de Louvain-la-Neuve qui a effectué l'analyse de la composition des pelotes de pollen.

Que MM. I^r [Y. Barbier](#) et [M. Terzo](#) soient ici remerciés pour l'attention constante qu'ils ont apportée à ce travail.

Un grand merci aussi à M^{elle} Y. Djegham qui a organisé la maintenance des colonies de bourdons et m'a donné de nombreux conseils et à M^{me} A. Regali pour les nombreux éclaircissements qu'elle m'a apportés et sans lesquels ce travail n'aurait jamais été ce qu'il est.

Merci à MM. [E. Druart](#) et S. Rousseau pour l'intérêt constant qu'ils ont apporté à ce travail.

Je remercie aussi M. J.-P. Mottoul du Rucher-Ecole de Mons qui m'a fourni gracieusement les abeilles et tout le matériel nécessaire à leur élevage ainsi que de nombreux conseils pour mener à bien leur maintenance sous serre.

Je tiens aussi à remercier M. F. Delmarquette pour son aide technique et pour l'entretien de la serre et de ses abords.

Enfin, je remercie aussi tous ceux qui m'ont soutenu et aidé, mon frère [Didier](#) pour les photos et l'informatique, MM. J.-F. Godeau, S. Patiny et [X. Simon](#) ainsi que tout ceux qui de près ou de loin ont participé à l'élaboration de ce travail.



Introduction

Intérêt de l'étude des bourdons

On sait depuis quelques années que les bourdons sont d'excellents pollinisateurs pour les cultures de tomates sous serre et qu'ils sont nettement plus économiques que les méthodes mécaniques de pollinisation (DeWael *et al.*, 1990; Navez & Budin, 1990). De plus, leur taux de fécondations réussies est supérieur à celui obtenu par les abeilles (Banda & Paxton, 1991). Ce succès des bourdons est conditionné par la réussite de l'élevage d'une espèce: *Bombus terrestris* (L). La bonne conduite de l'élevage de cette espèce passe par une connaissance approfondie de sa diète. L'objet de ce travail concerne la fraction stérolique de celle-ci.

Importance des stérols dans l'alimentation des insectes

Tout comme pour les vertébrés, le cholestérol est un composé alimentaire de grande importance pour les insectes. Toutefois, alors que les vertébrés sont capables de synthétiser tout ou partie de la ration de cholestérol, les insectes en sont incapables. Tout leur cholestérol doit provenir de l'alimentation: c'est une molécule essentielle de leur ration alimentaire.

Le cholestérol, molécule à 27 atomes de carbone, intervient chez les insectes dans la synthèse de l'hormone de mue ou ecdysone, elle aussi à 27 atomes de carbone. Les insectes carnassiers ou nécrophages trouvent le cholestérol tel quel dans leur alimentation et peuvent donc synthétiser directement l'ecdysone à partir de ce cholestérol.

Les végétaux ne contenant pas de cholestérol, les insectes phytophages, qui ne trouvent dans leur diète que des phytostérols à 28 ou 29 atomes de carbone, sont obligés de modifier le squelette carboné de ces molécules, pour leur enlever un ou deux atomes de carbone, de façon à obtenir l'ecdysone. Cette réaction d'enlèvement d'un atome de carbone est la **désalkylation**. Les voies métaboliques utilisées pour passer des phytostérols C₂₈ et C₂₉ aux stérols C₂₇ et au cholestérol sont très diversifiées et certains insectes sont incapables de réaliser la désalkylation (Svoboda *et al.*, 1980; Herbert *et al.*, 1980) (figure 1 et [annexes](#)).

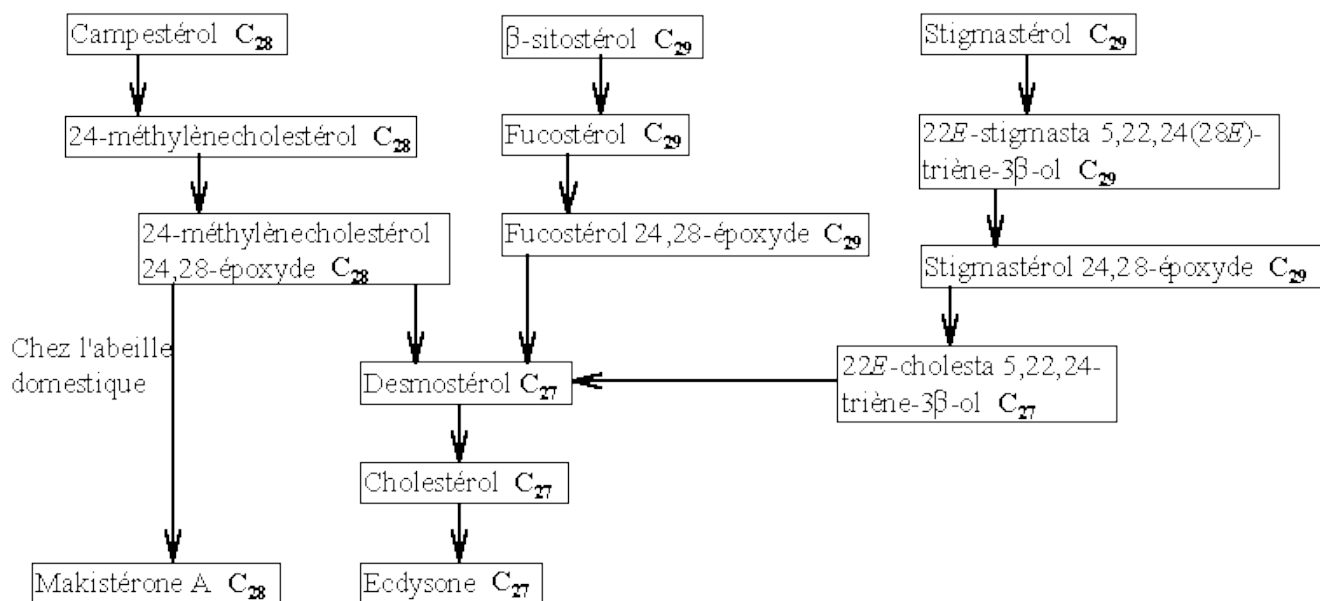


Figure 1: schéma général de désalkylation du sitostérol, du campestérol et du stigmastérol en cholestérol chez les insectes (schéma original d'après Svoboda et al, 1991 et Ikekawa et al., 1993)

L'abeille domestique (*Apis mellifera* L.) fait partie des insectes incapables de réaliser cette désalkylation (Svoboda *et al.* 1983): elle utilise comme hormone de mue non pas une ecdysone (C₂₇) mais le makistéronne A (C₂₈) (Feldlaufer *et al.*, 1985, 1986a & 1986b).

Svoboda *et al.* (1980 & 1981) ont montré que la survie des larves d'abeilles est plus longue lorsqu'elles sont nourries par des ouvrières alimentées avec une diète enrichie en 24-méthylènecholestérol (C₂₈). De plus, indépendamment de la composition en stérols de l'alimentation des ouvrières, le 24-méthylènecholestérol est toujours le stérol le plus abondant dans les tissus des larves (Svoboda *et al.*, 1991). Tous ces résultats laissent supposer que l'abeille domestique utilise le 24-méthylènecholestérol (C₂₈) pour synthétiser le makistéronne A (C₂₈) dont elle a besoin, sans avoir recours à la désalkylation.

Les abeilles étant les plus proches parents des bourdons, on peut s'attendre à ce que ces derniers puissent aussi utiliser le makistéronne A comme hormone de mue et, par conséquent, le 24-méthylènecholestérol comme stérol alimentaire essentiel. Or, dans le sud de la France, et en particulier dans le Var, il existe une génération d'hiver de *Bombus terrestris* (L.) qui n'a, à cette époque de l'année, que des fleurs d'arbousier (*Arbutus unedo* L.) à sa disposition (Rasmont, 1984). Des analyses du pollen de cette plante ont montré que le stérol le plus abondant était le β-sitostérol (± 40% des stérols totaux) et que le 24-méthylènecholestérol était pratiquement absent (moins de 1,5% des stérols totaux) (Viville, 1992; Rasmont *et al.*, 1994; Rasmont *et al.*, en préparation).

Des expériences d'appétence menées ces dernières années ont montré que, en laboratoire, les bourdons préfèrent un pollen riche en β-sitostérol (Regali *et al.*, en préparation). Les bourdons seraient ainsi capables d'utiliser le β-sitostérol comme précurseur de l'hormone de mue.

But du travail

Comme cela a été exposé précédemment, il semble donc y avoir une différence de métabolisme des stérols entre les abeilles et les bourdons. Si ces différences se traduisent par des différences significatives d'appétence pour du pollen préparé et fourni directement aux colonies, ce qui est maintenant établi (*cf. supra*), on peut se demander si l'abeille domestique et les bourdons (*Bombus terrestris* (L.)) perçoivent la présence des stérols lorsqu'ils butinent.

On peut aussi se demander si les différences stéroliques du pollen des fleurs se traduisent par des différences de choix lors du butinage.

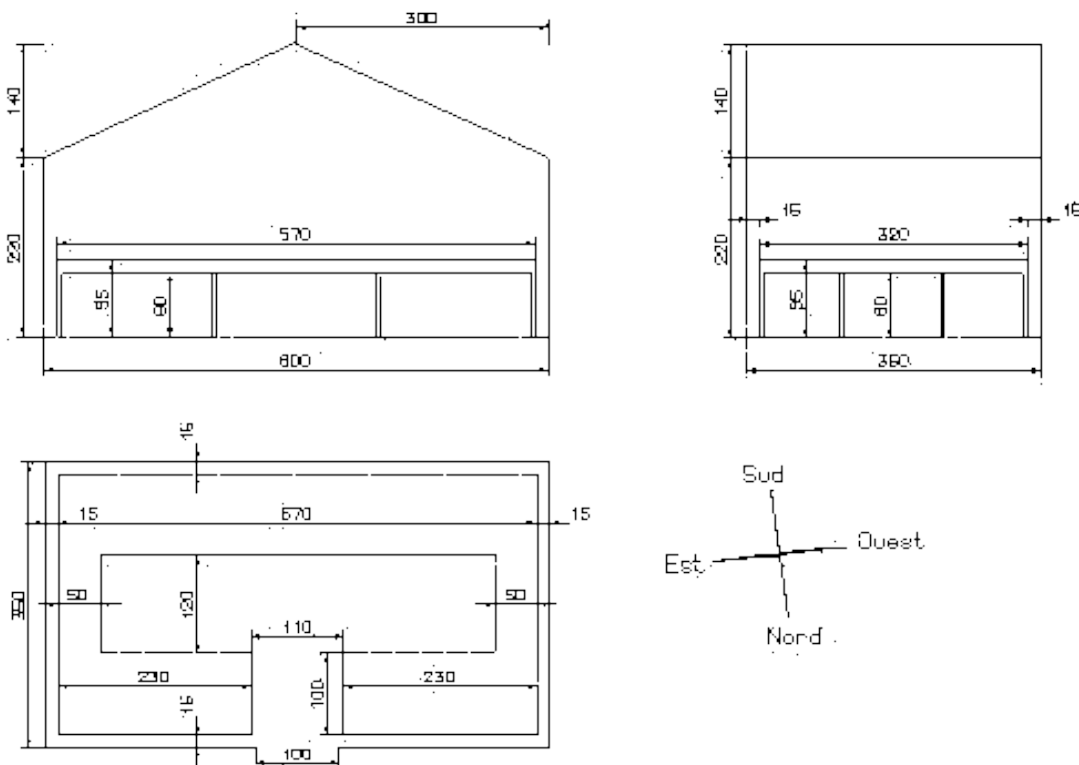
Le présent travail vise à établir l'existence de ces différences de perception et de choix des stérols lors du butinage de l'abeille domestique et de *Bombus terrestris*.

Si ces différences lors du butinage sont établies, alors l'existence d'un partage des ressources dû aux stérols est probable.

L'hypothèse de travail est qu'il existe un partage des ressources entre abeilles et bourdons en fonction de la présence ou de l'absence de b-sitostérol dans le pollen des fleurs. Si ce partage existe réellement, la distribution des abeilles et des bourdons d'un peuplement mixte sur les fleurs sera différente selon la composition du pollen.

Matériel et méthodes

Conditions d'expérimentation



Les expériences ont été menées dans une serre froide, c'est à dire une serre ne comprenant pas de dispositif de climatisation (figures 2 & 3). Par conséquent, la température et l'éclairage ont été mesurés à chaque expérimentation afin d'être éventuellement pris en ligne de compte lors du traitement des données.

Figure 2: plan de la serre (dessin original, cotations en cm)



Figure 3: photographie de l'intérieur de la serre réalisée à partir du seuil d'entrée

La température a été mesurée à l'aide d'un thermomètre maxima-minima précis à un demi-degré près et situé à l'abri du soleil. L'intensité lumineuse a été mesurée à l'aide d'un luxmètre Gossen Lunasix 3 au niveau de chacune des parcelles de fleurs.

Des expériences précédentes menées avec des abeilles sous abris ont montré que l'éclairage est un facteur plus important que la température. Avec un éclairage d'au moins 3.000 lux, les butineuses sortent à partir d'une température de 12°C environ. De même, le comportement de butinage semble rester normal jusqu'à des températures de 40°C, surtout si la ruche se trouve à une température inférieure (Lecomte, 1955 cité par Pouvreau, 1984).

Les bourdons sortent à une température et une luminosité inférieures à celles nécessaires aux abeilles (Alford, 1975). Cependant, une température trop élevée entraîne un net ralentissement de l'activité de butinage. Afin d'éviter un excès de température néfaste à la sortie des bourdons, la serre a été chaulée. La perte de luminosité qui en résulte est d'environ 40 % de l'éclairage (en lux).

Alimentation

L'alimentation des apoïdes est constituée principalement de nectar et de pollen.

Nectar

Le nectar des fleurs est constitué principalement d'eau et de sucres (20 à 70%), essentiellement du sucrose, du glucose et du fructose mais aussi du galactose, du mannose, du maltose et du raffinose en beaucoup plus faibles concentrations. Il contient aussi des traces d'acides aminés, de protéines, de lipides et d'autres composés organiques et inorganiques (Waddington, 1987).

Le nectar qui a été distribué lors de ces expérimentations est constitué d'un mélange de 50 % d'eau et de 50 % de saccharose (en poids) et a été fourni à volonté à proximité de chacune des plaques de fleurs (figure 4).



Figure 4: nourrisseur à sirop utilisé lors de ce travail

Pollen

Le pollen est la base de l'alimentation des larves et c'est lui qui fournit toutes les protéines, les lipides, les vitamines et les minéraux nécessaires à leur développement (Waddington, 1987).

Le pollen de base qui a été utilisé est du pollen de saule (*Salix* sp.) pur à plus de 75% (Tableau I). Ce pollen est riche en 24-méthylènecholestérol et pauvre en b-sitostérol (tableau II). Le pollen à utiliser se présentait sous forme de pelotes et, afin de pouvoir y incorporer le b-sitostérol, il a été nécessaire de le triturer à l'aide d'un pilon. A une partie de ce pollen, on ajoute 0,3% (0,3g/100g pollen frais) de b-sitostérol (Caldic Belgium) pour former le pollen enrichi, l'autre partie forme le pollen de base. Il a d'autre part été vérifié que cette trituration n'endommageait pas les grains de pollen.

Le pourcentage total des stérols du pollen est compris entre 0,1 et 0,4% du poids sec (0,1 à 0,4% MS) (Stanley & Linskens, 1974 *in* Demol, 1994). La proportion de 24-méthylènecholestérol dans les larves de reines d'abeilles domestiques est de 0,25% MF et de 0,3% MF dans la gelée royale (Barbier & Bogdanovsky *in* Chauvin, 1968a). Le pollen distribué contenant environ 70% de matière sèche, un ajout de 0,3% MF de b-sitostérol (0,3 g de b-sitostérol/100 g de pollen frais) correspond en fait à un ajout de 0,21% MS de b-sitostérol (0,21 g de b-sitostérol/100 g de pollen frais). De plus, les expériences précédentes menées dans le service (Regali *et al.*, en préparation) ont toutes été effectuées avec un ajout de 0,3% MF de b-sitostérol et c'est afin d'avoir un point de référence que cette proportion a été utilisée lors de ce travail.

L'analyse de la composition des pelotes de pollen a été effectuée par le Centre Apicole de Recherche et d'Information A.S.B.L., à Louvain-la-Neuve. Une analyse précise de la

composition stérolique du pollen utilisé a été effectuée à la Faculté des Sciences Agronomiques de Gembloux par le D^r F. G. Lognay. Cette analyse a été effectuée selon le procédé de Lognay *et al.* (1992).

Tableau I: composition des pelotes de pollen

Lot 1	Lot 2
79,9% de <i>Salix</i> sp.	75% de <i>Salix</i> sp.
15,3% de Fruitiers	17% de Fruitiers
2,6% de <i>Fragaria vesca</i>	6,7% de Brassicaceae
1,8% de <i>Taraxacum</i> sp.	1,3% d'Asteraceae
0,4% de Brassicaceae	

Tableau II: analyse GCMS (chromatographie gazeuse et spectrométrie de masse) et CPG (chromatographie en phase gazeuse) du pollen de saule

Stérols	Echantillon 1		Echantillon 2	
	mg/g MS	% total	mg/g MS	% total
Cholestérol	0,03	0,56	0,04	0,55
23-déhydrocholestanol	0,03	0,60	0,07	0,90
23-déhydrocampestanol	0,06	1,18	0,10	1,28
24-méthylènecholestérol et Campestanol	3,35	65,50	4,90	64,54
b -sitostérol	0,67	12,82	0,82	10,82
D 5-avénastérol	0,24	4,66	0,87	11,50
D 7-stigmastérol	0,03	0,62	0,05	0,61
D 7-avénastérol	0,14	2,74	0,09	1,24
Non identifié (tr = 1,21)	0,45	8,69	0,43	5,60
Total mg/g MS	5,19		7,79	

Pour le total, tous les pics dont le temps de rétention est compris entre le cholestérol et le bétuline ont été pris en considération.

Distribution du pollen

Le pollen est distribué à l'intérieur de fleurs artificielles en tissu. Ces fleurs sont de deux couleurs: bleues ou jaunes. Elles sont piquées par groupe de dix sur une plaque de polystyrène expansé (19 x 26 cm) recouverte de papier brun pour faciliter son nettoyage après chaque séance d'observations (figures 5 & 6). Ce nettoyage a pour objet d'enlever toute trace éventuelle de marquage chimique de la part des abeilles ou des bourdons (Free, 1987;

Cameron, 1981). La plaque et les fleurs sont lavées avec de l'eau chaude. Quatre séries de plaques et de fleurs ont été utilisées de façon à laisser plusieurs heures entre deux utilisations d'une série de plaques donnée.



Figure 5: plaque de fleurs jaunes utilisée lors de ce travail



Figure 6: plaque de fleurs bleues utilisée lors de ce travail

Le pollen de base et le pollen enrichi en β -sitostérol sont chacun associés à une couleur de fleurs pour permettre aux abeilles et aux bourdons de le reconnaître facilement. Les couleurs associées aux deux types de pollens sont changées au début de chaque séquence d'observations qui dure une semaine, ceci pour éviter que les différences observées dans les fréquences de butinage ne soient dues à la couleur de la fleur plutôt qu'à son contenu en stérol (Backhaus, 1993).

Répartition du pollen dans les fleurs

Une série d'observations s'étend sur quatre semaines. Chaque semaine comporte cinq jours d'expérimentation et deux jours de "repos" pour les insectes (et pour l'observateur). Sauf imprévu, chaque semaine comprend 20 séances d'observations et chaque semaine, l'association pollen-couleur des fleurs change. Pendant les deux jours de repos, les animaux sont nourris à volonté dans des coupelles en plastique contenant un pollen multifleurs (pollen de nourrissage).

Chaque plaque de dix fleurs contient approximativement 1,4 g de pollen. Les plaques sont au nombre de huit et sont numérotées. Les fleurs jaunes se trouvent sur les plaques impaires, les bleues sur les paires.

Etant donné que l'éclairage naturel n'est pas uniformément réparti dans la serre, les parterres de fleurs ont été permutés lors de chaque séance d'observations afin de minimiser l'influence de ces deux facteurs. La position des plaques dans la serre a été tirée au sort.

Répartition des plaques de fleurs

Les plaques de fleurs sont disposées dans la serre et on effectue toutes les deux minutes un comptage du nombre d'abeilles et de bourdons présents sur chacune d'entre elles. Ces comptages sont répétés durant vingt minutes (il y a donc 11 comptages par séance

d'observations). Après ces vingt minutes, les plaques sont enlevées de la serre et sont nettoyées.

Les fleurs sont distribuées de manière aléatoire afin de supprimer, ou tout au moins minimiser, l'influence de la température, de la luminosité et de la mémorisation spatiale des insectes.

Le schéma de cette expérience est donné à la figure 7.

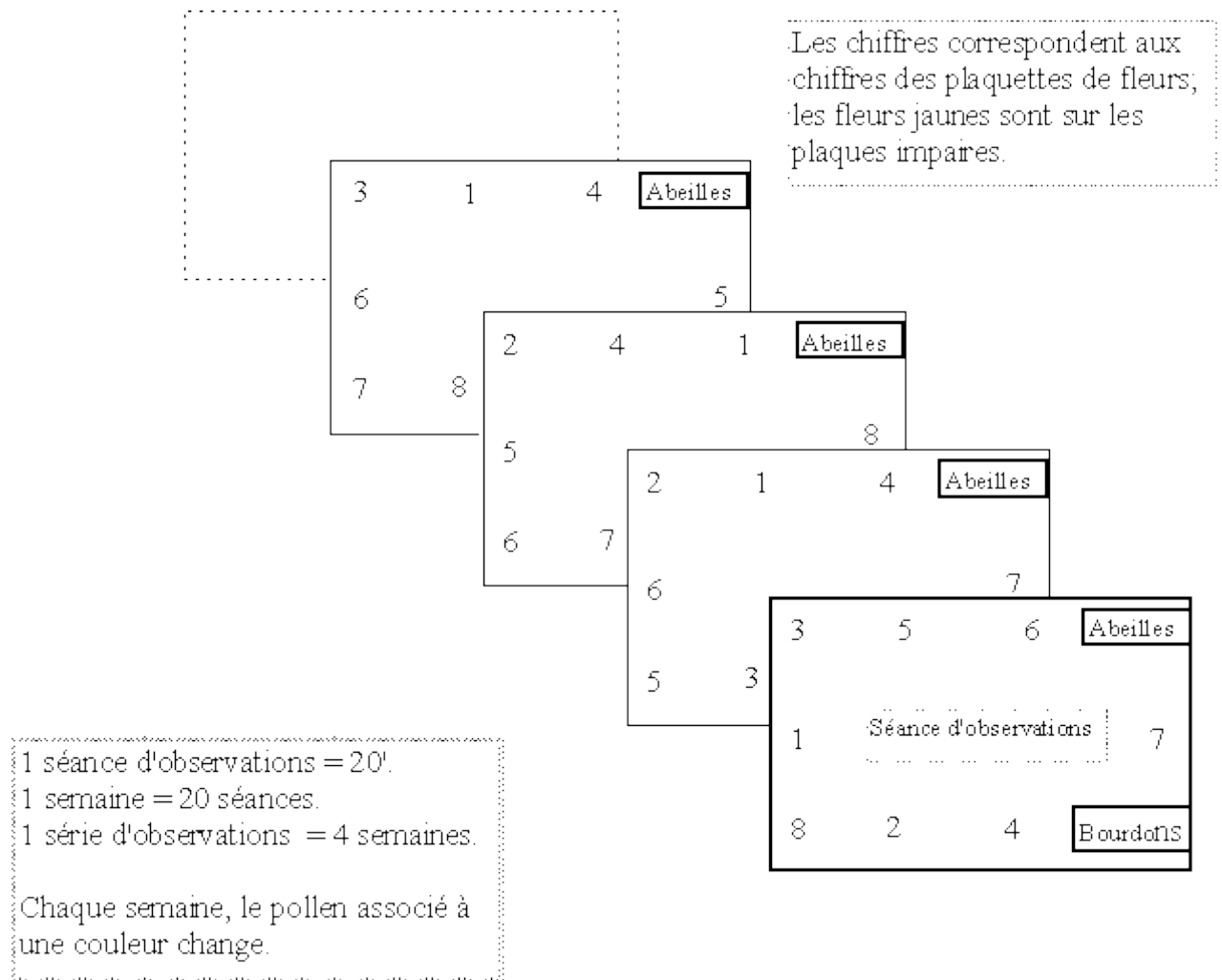


Figure 7: schéma du dispositif expérimental

Origine des colonies

Les abeilles ainsi que tout le matériel nécessaire à leur élevage ont été aimablement prêtés par Jean Philippe Mottoul, du Rucher Ecole de Mons. Ces abeilles appartiennent à la race *Apis mellifera mellifera* L.

Les colonies de bourdons proviennent de l'élevage réalisé par Yasmina Djegham pour le laboratoire de zoologie de l'Université de Mons-Hainaut. Les bourdons employés lors de la première série d'observations proviennent du Languedoc-Roussillon (sud de la France) et appartiennent à la sous-espèce *Bombus terrestris lusitanicus* Krüger. Les bourdons utilisés

lors des séries d'observations ultérieures proviennent de Belgique (région de Mons) et appartiennent à la sous-espèce *Bombus terrestris terrestris* (L.).

Analyse des résultats

Les tests statistiques mesurent la probabilité que les différences mesurées entre les observations soient dues au seul fait du hasard (hypothèse nulle H_0).

Bien que les conditions d'application des tests paramétriques ne soient pas toutes réunies ici (distribution normale des populations, variances des populations identiques et connues, observations indépendantes), une analyse de la variance (anova) a été effectuée. En effet:

1. *"La validité de l'analyse de la variance a été démontrée en supposant les populations normales et de même variance, et les échantillons aléatoires, simples et indépendants.";*
1. *"En ce qui concerne l'hypothèse de normalité [...], il suffit en pratique d'éviter d'employer l'analyse de la variance lorsque les distributions des populations-parents sont très différentes des distributions normales (distribution en i ou en j par exemple [...]). Dire que l'analyse de la variance est, dans les limites qui viennent d'être esquissées, peu sensible à la non-normalité des populations-parents, c'est dire que, dans ces limites, des risques réels de première espèce de l'ordre de 4 à 7% correspondent généralement à un risque théorique de 5% (niveau de signification 0,05), et des risques réels de l'ordre de 0,5 à 2% à un risque théorique de 1% (niveau 0,01).";*
2. *"De même, l'hypothèse d'égalité des variances ou hypothèse d'homoscédasticité est d'importance relativement secondaire lorsque les effectifs des échantillons sont tous égaux. Dans ces conditions, l'analyse de la variance est, comme le test t , une méthode robuste, tant en ce qui concerne la normalité qu'au point de vue de l'égalité des variances. Il n'en est cependant pas ainsi quand les effectifs des échantillons sont variables. Le risque de première espèce peut alors être influencé considérablement par une inégalité de variance." (Dagnelie, 1975: 123-124). Ce risque de première espèce ou risque a consisté en un rejet de l'hypothèse nulle H_0 (différences entre les observations dues au hasard) alors que celle-ci est vraie.*

Le protocole expérimental a été élaboré afin de pouvoir utiliser l'analyse de la variance qui est l'un des tests statistiques les plus puissants qui existent. Toutefois, étant donné la disproportion entre la population d'abeilles et celle de bourdons, lors de la première série d'observations, il conviendra de discuter à ce moment de la pertinence de l'anova. Dans certaines situations, il est en effet possible que la troisième condition énoncée par Dagnelie (homoscédasticité) soit violée.

L'analyse de la variance utilisée ici est un modèle croisé d'anova à trois critères de classification et à échantillons d'une seule observation.

Les différentes séances d'observations n'ont pas été considérées comme des répétitions mais comme des observations différentes. De cette manière, la variance maximale se trouve entre les différentes séances faites au cours du temps: c'est ce que l'on appelle le critère bloc. C'est pour cela que les plaquettes de fleurs sont permutées avant chaque séance d'observations. Cette permutation aléatoire est primordiale car les conditions d'éclaircissement et d'éloignement

des nids ne sont pas homogènes. Ce facteur bloc est donc aléatoire par essence. Les deux facteurs fixes sont l'espèce et le couple couleur/stérol. On est donc bien en face d'un modèle croisé. L'anova à deux critères de classification aurait pu être utilisée mais la sensibilité du test est augmentée en ajoutant le critère bloc (Dagnelie, 1975).

Tableau III: tableau d'analyse de la variance à 3 critères de classification: réalisation des calculs dans le cas d'échantillons d'une seule observation

ij\k	1	2	3	r	Totaux
X _{11k}	X _{11.}
...
X _{1qk}	X _{1q.}
...
X _{p1k}	X _{p1.}
...
X _{pqk}	X _{pq.}
X _{1.k}	X _{1..}
...
X _{p.k}	X _{p..}
X _{.1k}	X _{.1.}
...
X _{.qk}	X _{.q.}
X _{.k}	X _{...}

$i[1 \otimes p]$: indice du premier facteur fixe (abeille ou bourdon);

$j[1 \otimes q]$: indice du deuxième facteur fixe (fleurs jaunes ou bleues);

$k[1 \otimes r]$: indice du facteur aléatoire (bloc).

Dans ce cas-ci, $p = 2$ (abeilles et bourdons); $q = 2$ (fleurs jaunes et fleurs bleues); $r = 20$ (vingt séances d'observations (blocs) par semaine sauf cas particuliers (cf. supra)).

Les formules employées sont les suivantes:

$$T = \sum_{i=1}^p \sum_{j=1}^q \sum_{k=1}^r X_{ijk}^2 ;$$

$$X_{...} = \sum_{i=1}^p \sum_{j=1}^q \sum_{k=1}^r X_{ijk}$$

$$C = \frac{X_{...}^2}{pqr} ;$$

$$SCE_t = T - C$$

$$SCE_a = \frac{1}{qr} \sum_{i=1}^p X_{i..}^2 - C ;$$

$$SCE_{ab} = \frac{1}{r} \sum_{i=1}^p \sum_{j=1}^q X_{ij.}^2 - C - SCE_a - SCE_b$$

$$SCE_b = \frac{1}{pr} \sum_{j=1}^q X_{.j.}^2 - C ;$$

$$SCE_{ac} = \frac{1}{q} \sum_{i=1}^p \sum_{k=1}^r X_{i.k}^2 - C - SCE_a - SCE_c$$

$$SCE_c = \frac{1}{pq} \sum_{k=1}^r X_{..k}^2 - C ;$$

$$SCE_{bc} = \frac{1}{p} \sum_{j=1}^q \sum_{k=1}^r X_{.jk}^2 - C - SCE_b - SCE_c$$

$$SCE_{abc} = SCE_t - SCE_a - SCE_b - SCE_c - SCE_{ab} - SCE_{ac} - SCE_{bc}$$

$$CM_a = \frac{SCE_a}{(p-1)} ;$$

$$CM_b = \frac{SCE_b}{(q-1)} ;$$

$$CM_c = \frac{SCE_c}{(r-1)}$$

$$CM_{ab} = \frac{SCE_{ab}}{(p-1)(q-1)} ;$$

$$CM_{ac} = \frac{SCE_{ac}}{(p-1)(r-1)}$$

$$CM_{bc} = \frac{SCE_{bc}}{(q-1)(r-1)} ;$$

$$CM_{abc} = \frac{SCE_{abc}}{(p-1)(q-1)(r-1)}$$

Pour le calcul de F , les deux facteurs fixes a et b (ici, espèce et couleur) doivent être comparés chacun à leur interaction avec le facteur aléatoire c (bloc):

$$F_a = \frac{CM_a}{CM_{ac}} \text{ et } F_b = \frac{CM_b}{CM_{bc}}$$

l'interaction $a-b$ étant comparée à l'interaction des trois facteurs:

$$F_{ab} = \frac{CM_{ab}}{CM_{abc}}$$

Tableau IV: tableau d'analyse de la variance à 3 critères de classification, échantillons d'une seule observation

Sources de variation	DL	SCE	CM	F observée	F théorique		
					95%	99%	99,9%
a	(p-1)	SCE _a	CM _a	F _a *			
b	(q-1)	SCE _b	CM _b	F _b **			
c	(r-1)	SCE _c	CM _c				
a-b	(p-1)(q-1)	SCE _{ab}	CM _{ab}	F _{ab} ***			
a-c	(p-1)(r-1)	SCE _{ac}	CM _{ac}				
b-c	(q-1)(r-1)	SCE _{bc}	CM _{bc}				
a-b-c	(p-1)(q-1)(r-1)	SCE _{abc}	CM _{abc}				
Totaux	pqr-1	SCE _t					

DL = degrés de liberté; SCE = somme des carrés des écarts;

CM = carrés moyens; F_{observée} = variable F résultant du calcul;

F_{théorique} = valeur théorique de la distribution F (Dagnelie, 1975: 412-417);

astérisques = degré de signification (95, 99 ou 99,9%)

a = facteur fixe espèce;

b = facteur fixe couleur des fleurs;

c = facteur bloc aléatoire.

L'anova à deux critères de classification a cependant été utilisée lors des tests réalisés uniquement avec les abeilles (deuxième et quatrième séries d'observations). Il s'agit alors d'un modèle croisé d'anova à deux critères de classification et à échantillons d'une seule observation.

Tableau V: tableau d'analyse de la variance à 3 critères de classification: réalisation des calculs dans le cas d'échantillons d'une seule observation

i\j	1	2	...	q	X _{i.}
1	x ₁₁	x ₁₂	...	x _{1q}	X _{1.}
2	x _{2q}	X _{2.}
...
p	x _{p1}	x _{pq}	X _{p.}
X _{.j}	X _{.1}	X _{.2}	...	X _{.q}	X _{..}

i[1@ p]: indice du facteur fixe (couleur des fleurs);

$j[1 \otimes q]$: indice du facteur aléatoire (bloc).

Dans ce cas-ci, $p = 2$ (fleurs jaunes ou bleues); $q = 20$ (vingt séances d'observations (blocs) par semaine sauf cas particuliers (cf. supra)).

Les formules employées sont les suivantes:

$$T = \sum_{i=1}^p \sum_{j=1}^q X_{ij}^2$$

$$C = \frac{X^2}{pq};$$

$$SCE_t = T - C$$

$$SCE_a = \frac{1}{q} \sum_{i=1}^p X_{i.}^2 - C;$$

$$SCE_{ab} = SCE_t - SCE_a - SCE_b$$

$$SCE_b = \frac{1}{p} \sum_{j=1}^q X_{.j}^2 - C;$$

$$CM_a = \frac{SCE_a}{(p-1)};$$

$$CM_{ab} = \frac{SCE_{ab}}{(p-1)(q-1)}$$

$$CM_b = \frac{SCE_b}{(q-1)};$$

Pour le calcul de F , le facteur fixe a (ici, la couleur des fleurs) doit être comparé à son interaction avec le facteur aléatoire b (bloc):

$$F_a = \frac{CM_a}{CM_{ab}}$$

Tableau VI: tableau d'analyse de la variance à 2 critères de classification, échantillons d'une seule observation

Sources de variation	DL	SCE	CM	F observée	F théorique		
					95%	99%	99,9%
a	(p-1)	SCE _a	CM _a	F _a ***			
b	(q-1)	SCE _b	CM _b				
a-b	(p-1)(q-1)	SCE _{ab}	CM _{ab}				
Totaux	pq-1	SCE _t					

DL = degrés de liberté; SCE = somme des carrés des écarts;

CM = carrés moyens; F_{observée} = variable F résultant du calcul;

$F_{théorique}$ = valeur théorique de la distribution F (Dagnelie, 1975: 412-417);

astérisques = degré de signification (95, 99 ou 99,9%)

a = facteur fixe couleur des fleurs;

b = facteur bloc aléatoire.

En plus de l'analyse de la variance, un test non paramétrique a été effectué: il s'agit du test de c^2 avec la correction de continuité de Yates (Debusshere, 1990).

$$\chi^2 = \sum_i \sum_j \frac{(|O_{ij} - E_{ij}| - \frac{1}{2})^2}{E_{ij}}$$

Ce test est réalisé à partir des totaux de fin de semaine. Il mesure donc la tendance générale de cette semaine et non les séances d'observations. C'est ce qui explique que, certaines semaines, le test d'anova et le test c^2 semblent en contradiction. Ces contradictions peuvent s'expliquer comme ceci: au cours d'une séance d'observations, la variance principale n'est pas le facteur couleur/stérol mais un ou plusieurs facteurs aléatoires externes qu'il est impossible de maîtriser dans le cadre de ce travail (éclairage, distance nid-plaquettes de fleurs, ...); à la fin d'une semaine d'observations, ce ou ces facteurs aléatoires s'annulent alors que le facteur couleur/stérol se renforce (en théorie de l'information, cela revient à augmenter le rapport signal/bruit).

Résultats et discussions préliminaires

Essai du dispositif expérimental

Dix-huit séances d'observations ont été effectuées du 7 au 15 février 1995 avec du pollen multifleurs de nourrissage, ceci afin de vérifier le bon fonctionnement du dispositif expérimental.

Une ruche à 5 cadres a été utilisée à l'intérieur de la serre car prélever un cadre à cette période de l'année risquait de fragmenter la "grappe" formée pour l'hiver, ce qui aurait entraîné la rupture de la thermorégulation de la colonie et sa perte irrémédiable. Cette ruche, qui contenait approximativement 10.000 abeilles, a été installée dans la serre le 23 décembre 1994 mais les abeilles n'ont commencé à sortir pour récolter de la nourriture que début janvier.

Une colonie d'une trentaine de bourdons a été introduite dans la serre le 13 janvier au matin. Dans l'après midi, ces derniers avaient déjà commencé à récolter du pollen et du sirop.

La distribution de pollen a alors commencé à l'intérieur de fleurs artificielles jaunes et bleu foncé, mais ces dernières n'ayant aucun succès aussi bien auprès des abeilles que des bourdons, elles ont été remplacées par des fleurs bleu clair, visiblement plus attirantes pour ces insectes (figure 8).

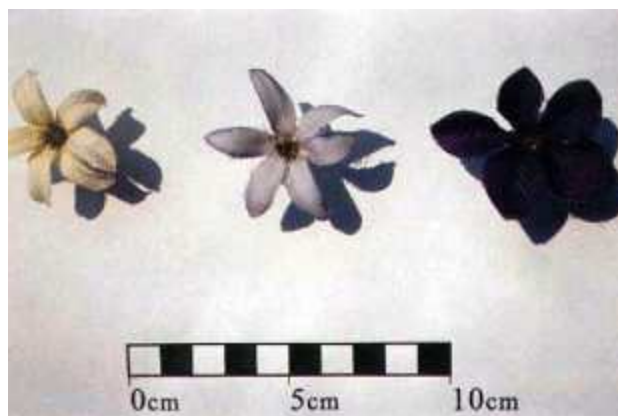


Figure 8: fleurs utilisées lors de ce travail (gauche: jaune; centre: bleu clair; droite: bleu foncé)

Résultats

Tableau de contingence

Nombre total de visites	Bourdons	Abeilles	Total
Fleurs jaunes	152	9959	
Fleurs bleues	299	8488	

	χ^2_{obs}		$\chi^2_{0,95}$	$\chi^2_{0,99}$	$\chi^2_{0,999}$
Abeilles	117,300	***	3,841	6,635	10,827
Bourdons	47,914	***	3,841	6,635	10,827

On constate que les différences de butinage observées entre les fleurs jaunes et les fleurs bleues à la fin d'une semaine d'observations sont très hautement significatives, et ce aussi bien pour les abeilles que pour les bourdons. Les abeilles préfèrent les fleurs jaunes (9959 comptages contre 8488 sur les bleues) et les bourdons, les bleues (299 comptages contre 152 sur les jaunes).

Tableau d'analyse de la variance à 3 critères

Sources de variation	DL	SCE	CM	F observée		F théorique		
						95%	99%	99,9%
Espèce	1	4498000,22	4498000,22	382,13	***	4,38	8,18	15,1
Couleur	1	24346,89	24346,89	24,98	***	4,38	8,18	15,1
Bloc	17	239713,44	14100,79					
Esp.-coul.	1	36360,06	36360,06	39,73	***	4,38	8,18	15,1
Esp.-bloc	17	200104,28	11770,84					
Coul.-bloc	17	16566,61	974,51					
Esp.-coul.-bloc	17	15558,44	915,20					

On constate que les différences observées entre les abeilles et les bourdons, entre le butinage des fleurs bleues et des fleurs jaunes et entre les interactions espèces-couleurs sont très hautement significatives.

Bien que l'on ne soit pas dans les conditions optimales d'utilisation de l'anova (populations d'abeilles 40 fois plus importantes que les populations de bourdons), il y a corrélation entre les résultats de l'anova et ceux du test de c^2 , ce qui démontre la robustesse de l'anova.

Analyse de ces résultats

Ces quelques résultats permettent déjà de constater que les bourdons préfèrent les fleurs bleues et que les abeilles préfèrent les fleurs jaunes. La préférence des bourdons pour les fleurs bleues a tendance à s'accroître avec le temps alors qu'elle semble constante chez les abeilles (figure 9). On peut donc supposer que, dans la présente situation, il existe un partage des ressources entre les abeilles et les bourdons en fonction de la couleur des fleurs.

Répartition des bourdons (à gauche) et des abeilles (à droite) sur les deux types de fleurs au cours des séances d'observation

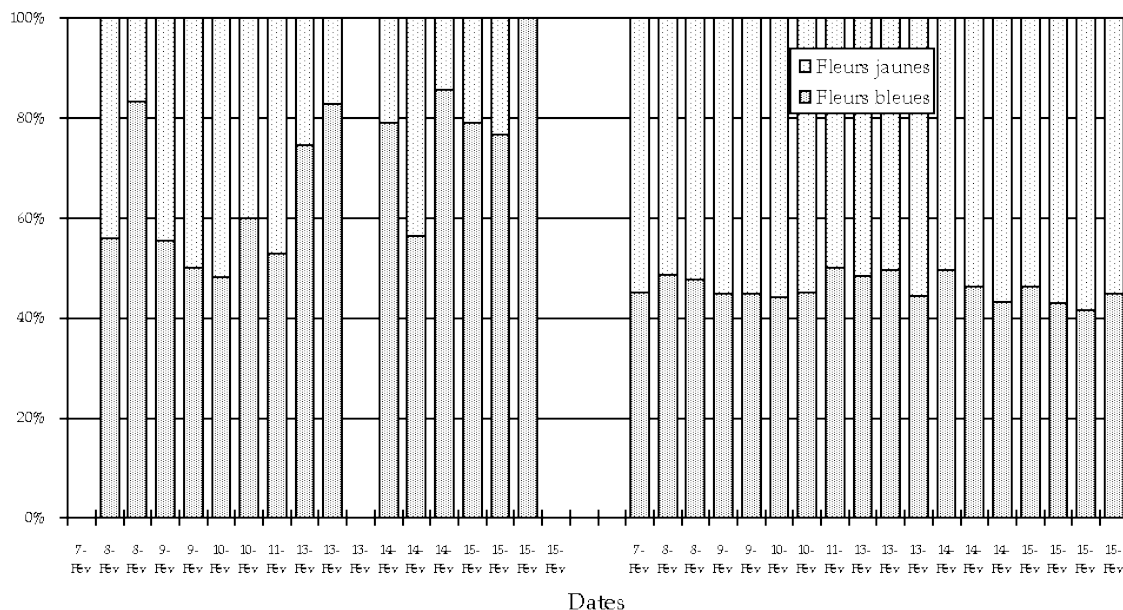


Figure 9: graphique de répartition des insectes au cours des séances d'observations

Première série d'observations

Cette première série d'observations a été effectuée du 20 février au 17 mars 1995.

Cette série comportait 4 semaines, chacune comportant 20 séances d'observations. La première semaine, le b-sitostérol se trouvait dans les fleurs jaunes, la deuxième dans toutes les fleurs, la troisième dans les fleurs bleues et la quatrième semaine il n'y avait pas de b-sitostérol.

Semaine du 20 au 24 février 1995; b-sitostérol dans les fleurs jaunes

Tableau de contingence

Nombre total de visites	Bourdons	Abeilles	Total
Fleurs jaunes	216	8630	
Fleurs bleues	182	8557	

	χ^2_{obs}	$\chi^2_{0,95}$	$\chi^2_{0,99}$	$\chi^2_{0,999}$
Abeilles	0,310	3,841	6,635	10,827
Bourdons	2,905	3,841	6,635	10,827

On constate qu'à la fin de cette semaine d'observations, il n'y a pas de différences entre le butinage des fleurs jaunes et celui des fleurs bleues et ce, aussi bien chez les abeilles que chez les bourdons.

Tableau d'analyse de la variance à 3 critères

Sources de variation	DL	SCE	CM	F observée	F théorique			
					95%	99%	99,9%	
Espèce	1	3523381,51	3523381,51	487,12	***	4,38	8,18	15,1
Couleur	1	143,11	143,11	0,02		4,38	8,18	15,1
Bloc	19	385276,94	20277,73					
Esp.-coul.	1	19,01	19,01	0,003		4,38	8,18	15,1
Esp.-bloc	19	353943,24	18628,59					
Coul.-bloc	19	28542,64	1502,24					
Esp.-coul.-bloc	19	29799,74	1568,41					

On constate donc que les différences entre les abeilles et les bourdons sont très hautement significatives. Les différences entre les couleurs de fleurs et entre les interactions espèce-couleur ne sont pas significatives, ce qui avait déjà été observé avec le c^2 . Il n'y a donc pas de différences de butinage visibles lorsque le β -sitostérol se trouve dans les fleurs jaunes.

Les différences entre abeilles et bourdons peuvent s'expliquer par l'effet de recrutement des abeilles (von Frisch, 1955) alors qu'aucun effet de recrutement n'a été observé chez les bourdons (Heinrich, 1979) (figure 10).

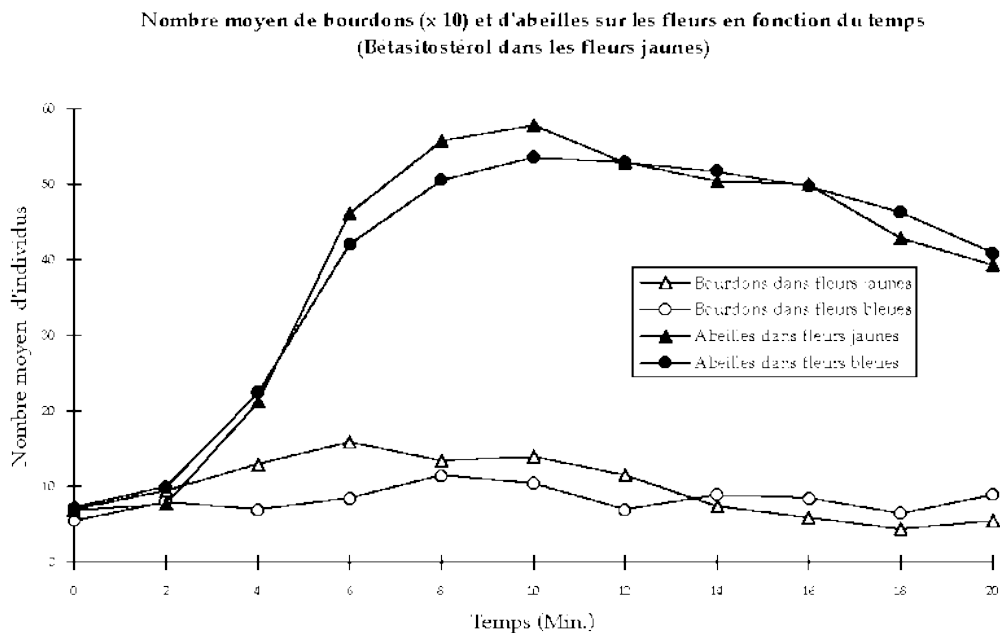


Figure 10: graphique du nombre moyen d'insectes en fonction du temps (moyenne sur 20 séances d'observations)

De nouveau, la robustesse de l'anova est mise en évidence par correspondance des résultats entre l'anova et le c^2 , et ce malgré une différence d'effectifs des populations importante (398 bourdons contre 17187 abeilles).

Semaine du 27 février au 3 mars 1995; b -sitostérol dans les fleurs jaunes et bleues

Tableau de contingence

	Nombre total de visites	Bourdons	Abeilles	Total
	Fleurs jaunes	248	9164	
	Fleurs bleues	331	9000	
	c^2_{obs}	$c^2_{0,95}$	$c^2_{0,99}$	$c^2_{0,999}$
Abeilles	1,481	3,841	6,635	10,827
Bourdons	11,898 ***	3,841	6,635	10,827

On constate que les différences de butinage observées à la fin de cette semaine d'observations sont très hautement significatives chez les bourdons alors qu'elles ne le sont pas chez les abeilles. Les bourdons semblent préférer les fleurs bleues (331 comptages sur les fleurs bleues contre 248 sur les jaunes) alors que les abeilles ne semblent pas avoir de préférence.

Tableau d'analyse de la variance à 3 critères

Sources de variation	DL	SCE	CM	F observée	F théorique		
					95%	99%	99,9%
Espèce	1	3865402,81	3865402,81	626,10 ***	4,38	8,18	15,1
Couleur	1	82,01	82,01	0,06	4,38	8,18	15,1
Bloc	19	141776,64	7461,93				
Esp.-coul.	1	762,61	762,61	0,76	4,38	8,18	15,1
Esp.-bloc	19	117301,44	6173,76				
Coul.-bloc	19	24467,24	1287,75				
Esp.-coul.-bloc	19	19065,64	1003,45				

On constate dans ce cas-ci aussi que seules les différences entre abeilles et bourdons sont très hautement significatives et que le phénomène de recrutement existant chez les abeilles et pas chez les bourdons peut expliquer ces différences (figure 11).

**Nombre moyen de bourdons (x 10) et d'abeilles sur les fleurs en fonction du temps
(Bétasitostérol dans toutes les fleurs)**

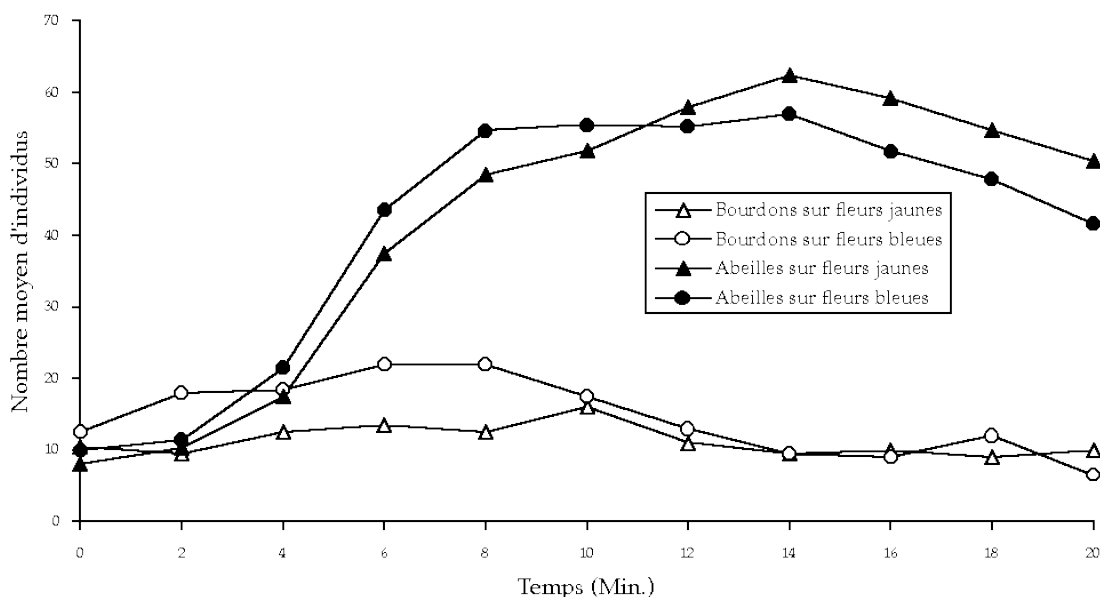


Figure 11: graphique du nombre moyen d'insectes en fonction du temps (moyenne sur 20 séances d'observations)

La contradiction entre l'anova et le c^2 peut s'expliquer par le fait que les conditions d'applications de l'anova ne sont pas réunies. En effet, l'égalité des variances (homoscédasticité) qui est secondaire en cas d'effectifs des échantillons égaux ne l'est pas ici puisque les abeilles sont plus de 30 fois plus nombreuses que les bourdons (18164 abeilles contre 579 bourdons). Il convient donc d'être prudent vis-à-vis des résultats obtenus ici avec l'anova, le risque α pouvant être élevé.

Semaine du 6 au 10 mars 1995; b -sitostérol dans les fleurs bleues

Tableau de contingence

Nombre total de visites	Bourdons	Abeilles	Total
Fleurs jaunes	158	10214	
Fleurs bleues	180	8210	

	c^2_{obs}	$c^2_{0,95}$	$c^2_{0,99}$	$c^2_{0,999}$
Abeilles	217,977 ***	3,841	6,635	10,827
Bourdons	1,432	3,841	6,635	10,827

On constate qu'à la fin de cette semaine d'observations, les différences observées entre le butinage des fleurs bleues et des fleurs jaunes par les abeilles sont très hautement significatives (10214 comptages sur les fleurs jaunes ne contenant pas de b -sitostérol contre

8210 sur les fleurs bleues qui contiennent ce stérol) alors qu'elles ne le sont pas chez les bourdons. Il semble donc que les abeilles évitent les fleurs contenant du *b*-sitostérol.

Tableau d'analyse de la variance à 3 critères

Sources de variation	DL	SCE	CM	F observée	F théorique		
					95%	99%	99,9%
Espèce	1	4088792,45	4088792,45	295,91 ***	4,38	8,18	15,1
Couleur	1	49104,05	49104,05	31,62 ***	4,38	8,18	15,1
Bloc	19	281314,95	14806,05				
Esp.-couleur	1	51308,45	51308,45	39,46 ***	4,38	8,18	15,1
Esp.-bloc	19	262535,55	13817,66				
Couleur.-bloc	19	29505,95	1552,94				
Esp.-couleur.-bloc	19	24706,55	1300,34				

Dans ce cas-ci, les différences observées entre les abeilles et les bourdons, entre le butinage des fleurs bleues et des fleurs jaunes et entre les interactions espèces-couleur sont très hautement significatives.

La contradiction entre l'anova et le c^2 peut s'expliquer, comme précédemment, par le fait que les conditions d'applications de l'anova ne sont pas réunies. En effet, l'égalité des variances (homoscédasticité) qui est secondaire en cas d'effectifs des échantillons égaux ne l'est pas ici puisque les abeilles sont plus de 50 fois plus nombreuses que les bourdons (18424 abeilles contre 338 bourdons). Il convient donc d'être prudent vis-à-vis des résultats obtenus ici avec l'anova, le risque α pouvant être élevé.

Semaine du 13 au 17 mars 1995; pas de *b*-sitostérol dans les fleurs

Tableau de contingence

Nombre total de visites	Bourdons	Abeilles	Total
Fleurs jaunes	100	11347	
Fleurs bleues	160	10822	

	c^2_{obs}		$c^2_{0,95}$	$c^2_{0,99}$	$c^2_{0,999}$
Abeilles	12,433 ***		3,841	6,635	10,827
Bourdons	13,846 ***		3,841	6,635	10,827

On remarque qu'à la fin de cette semaine d'observations, les différences observées entre le butinage des fleurs jaunes et des fleurs bleues par les abeilles et les bourdons sont très hautement significatives. Les bourdons semblent préférer les fleurs bleues (160 comptages contre 100 dans les fleurs jaunes) et les abeilles, les jaunes (11347 comptages contre 10822 dans les bleues).

Tableau d'analyse de la variance à 3 critères

Sources de variation	DL	SCE	CM	F observée	F théorique		
					95%	99%	99,9%
Espèce	1	6000053,51	6000053,51	1151,05 ***	4,38	8,18	15,1
Couleur	1	2702,81	2702,81	2,38	4,38	8,18	15,1
Bloc	19	108418,24	5706,22				
Esp.-coul.	1	4277,81	4277,81	1,71	4,38	8,18	15,1
Esp.-bloc	19	99041,24	5212,70				
Coul.-bloc	19	21606,94	1137,21				
Esp.-coul.-bloc	19	21147,94	1113,05				

On constate de nouveau que seules les différences entre les abeilles et les bourdons sont très hautement significatives alors que le test de c^2 indique qu'il y a des différences entre le butinage des fleurs jaunes et des fleurs bleues par les abeilles et les bourdons. Comme précédemment, il convient d'émettre des réserves sur les résultats obtenus avec l'anova.

Discussion de cette première série d'observations

- 1. Lorsqu'il y a du b -sitostérol dans les fleurs bleues et lorsque qu'il n'y a pas de b -sitostérol dans les fleurs, les abeilles préfèrent les fleurs jaunes, comme cela a déjà été constaté précédemment.*
- 2. Lorsqu'il y a du b -sitostérol dans les fleurs jaunes, les abeilles vont autant sur les fleurs bleues que sur les fleurs jaunes alors qu'elles ont montré précédemment une préférence pour les fleurs jaunes. Cela peut s'expliquer par un dilemme entre d'une part leur couleur préférée (le jaune) et d'autre part leur pollen préféré (celui ne contenant pas de b -sitostérol).*
- 3. Lorsque le b -sitostérol se trouve à la fois dans les fleurs jaunes et bleues, les abeilles butinent plus les fleurs jaunes mais ces différences ne sont pas significatives.*
- 4. Lorsque le pollen est le même dans les fleurs jaunes et les fleurs bleues, les bourdons préfèrent systématiquement les fleurs bleues, comme cela a déjà été constaté.*
- 5. Lorsque le b -sitostérol se trouve dans les fleurs jaunes ou lorsqu'il se trouve dans les fleurs bleues, les bourdons butinent plus souvent les fleurs contenant du b -sitostérol mais ces différences ne sont pas significatives. Le fait qu'il n'y ait pas de différence lorsque le pollen préféré (contenant du b -sitostérol) ne se trouve pas dans les fleurs de la couleur préférée (les bleues) pourrait s'expliquer, comme chez les abeilles, par un dilemme. Par contre, lorsque le pollen contenant du b -sitostérol se trouve dans les fleurs bleues, les bourdons devraient montrer une nette préférence pour les fleurs bleues or, les différences ne sont pas significatives. Il n'est donc pas possible à ce stade du travail de confirmer l'attraction des bourdons pour le b -sitostérol.*

Toutes ces constatations sont résumées à la figure 12.

Répartition des bourdons (à gauche) et des abeilles (à droite) sur les fleurs jaunes et bleues en fonction de la composition du pollen

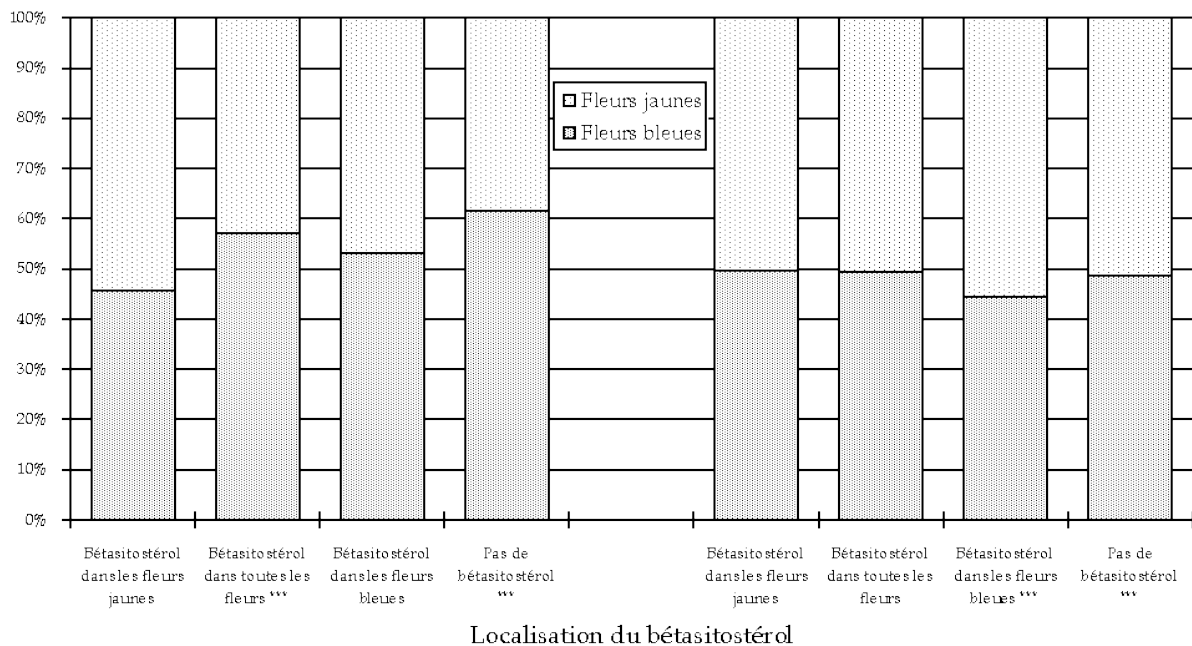


Figure 12: graphique de répartition des insectes en fonction de la composition du pollen (les * indiquent le degré de signification)

Deuxième série d'observations

Suite à la première série d'observations, quelques aménagements ont été opérés dans le protocole opératoire.

Tout d'abord, le sirop a été distribué à proximité de chacune des plaques et non plus en un seul endroit car il a été remarqué que les insectes étaient plus nombreux sur les plaquettes avoisinant le point de distribution du sirop.

Ensuite, le niveau général des plaques a été relevé de manière à ce que toutes les plaques soient visibles à partir de chacune d'entre-elles, alors qu'auparavant, elles étaient masquées par le rebord des bacs de culture.

Enfin, à cause des températures élevées de la serre, de l'eau a été fournie en suffisance à l'intérieur de la serre.

Le 15 avril 1995, le nombre total d'abeilles de la ruche a été estimé à 20.000. Cela correspond à un doublement de la population de la colonie en 4 mois, pendant la période hivernale et sans introduction de nourriture à l'intérieur de la ruche. Ces résultats sont surprenants et encourageants car selon Free (1978), "Such enclosed colonies often show a high mortality among their become so weak that combs of emerging bees must be introduced to strengthen them." ("De telles colonies enfermées montrent souvent une forte mortalité et deviennent si faibles qu'il faut introduire de nouveaux rayons contenant des abeilles prêtes à

émerger pour les renforcer."). Ceci montre bien que les conditions expérimentales de maintenance sont bonnes.



Figure 13: modèle de ruchette utilisée lors de ce travail

Deux cadres contenant du jeune couvain ont alors été prélevés dans la ruche principale pour les placer dans une ruchette (figure 13) contenant déjà un cadre vide, constituant ainsi une ruchette orpheline. La ruche principale a ensuite été remise à l'extérieur. La ruchette orpheline a été placée dans la serre pour l'expérience suivante. Le nombre d'abeilles de la ruchette a été estimé à 3.000. Cette manipulation a pu être réalisée sans risquer de modifier le comportement de butinage car tant qu'il y a du couvain à élever, les abeilles continuent à récolter du pollen comme si la reine se trouvait encore parmi elles (Free, 1967; Chauvin, 1968c).

Le 17 avril 1995, une colonie d'une trentaine de bourdons a été introduite dans la serre.

Du 17 au 24 avril, la luminosité inférieure à 1.500 lux et la température peu élevée (moins de 20°C) ont fait que très peu d'abeilles et aucun bourdon ne sont sortis récolter du pollen.

A partir du 24 avril, la température et la luminosité ayant augmenté, on pouvait s'attendre à une sortie importante des butineuses, aussi bien chez les abeilles que chez les bourdons. Comme attendu, les abeilles sont bien sorties récolter du pollen et du sirop mais aucun bourdon n'a été observé sur les fleurs à pollen malgré la bonne santé apparente de la colonie (environ 15 nouvelles ouvrières en 10 jours de temps). Après examen minutieux et prolongé de la serre, un passage permettant aux abeilles et surtout aux bourdons de sortir butiner à l'extérieur a été découvert. Durant l'opération de colmatage, 3 bourdons lourdement chargés de pollen qui revenaient à la serre ont même été capturés. A première vue, le pollen récolté provenait d'arbres fruitiers, probablement du Prunus.

Il est intéressant de noter qu'une des raisons pour lesquelles on utilise des bourdons pour la pollinisation des cultures sous verre est qu'ils ont peu tendance à fuir à l'extérieur. Or, dans ce cas-ci, la quantité de pollen à l'intérieur de la serre était nettement plus importante que celle à l'extérieur et la proportion de b -sitostérol dans ce pollen était elle aussi plus élevée que dans la nature. Il semblerait donc que le b -sitostérol ne soit pas le seul facteur attractif pour les bourdons.

Une seconde colonie comportant une vingtaine de bourdons a remplacé la précédente dont les ouvrières cherchaient un moyen d'évasion mais ne récoltaient plus ni pollen ni sirop. Cette colonie a été introduite le 2 mai mais à ce moment, les abeilles commençaient à ne plus récolter de pollen, probablement parce que la totalité du couvain était émergé. Il est connu en effet que lorsqu'il n'y a plus de larves à nourrir, les abeilles ne récoltent plus de pollen mais seulement du nectar (Free, 1967). Il a donc été envisagé de remplacer aussi la colonie d'abeilles.

Le 7 mai 1995, la ruchette orpheline a été ouverte et effectivement, le couvain était bien entièrement éclos. Une cellule royale était présente. Ces abeilles ont donc été remises dans la colonie principale et un rayon contenant du couvain et quelques réserves a été placé dans la ruchette. Un millier d'abeilles et la "vieille reine" ont aussi été introduites dans cette ruchette qui fût replacée dans la serre. Cette ruchette n'est donc plus orpheline.

Semaine du 8 au 12 mai 1995; b -sitostérol dans les fleurs bleues

Durant cette série d'observations, les bourdons n'ont jamais été observés en train de récolter du pollen ou du sirop et ce, malgré le fait qu'une vingtaine d'entre eux fussent sortis de leur nid tous les jours. L'analyse de la variance a donc été effectuée sur seulement deux critères, le critère espèce n'ayant plus de raison d'être. Par ailleurs, les réserves émises concernant l'opportunité d'utilisation de l'anova n'ont plus lieu d'être ici puisque les populations d'abeilles sur les fleurs jaunes et bleues sont du même ordre de grandeur.

Tableau de contingence

Nombre total de visites	Fleurs jaunes	Fleurs bleues	Total
Abeilles	256	104	
	χ^2_{obs}	$\chi^2_{0,95}$	$\chi^2_{0,99}$
Abeilles	64,178 ***	3,841	6,635
			$\chi^2_{0,999}$
			10,827

On constate que les différences observées entre le butinage des fleurs jaunes et des fleurs bleues par les abeilles à la fin de cette semaine d'observations sont très hautement significatives.

Tableau d'analyse de la variance à 2 critères

Sources de variation	DL	SCE	CM	F observée		F théorique		
						95%	99%	99,9%
Couleur	1	577,60	577,60	27,48	***	4,38	8,18	15,1
Bloc	19	371	19,53					
Coul.-bloc	19	399,40	21,02					

On constate que les différences entre le butinage des fleurs jaunes et des fleurs bleues sont très hautement significatives. Cela pourrait être dû à la présence de b -sitostérol dans les fleurs bleues.

D'autre part, l'effet de recrutement n'est plus perceptible, probablement parce que les abeilles sont beaucoup moins nombreuses (figure 14).

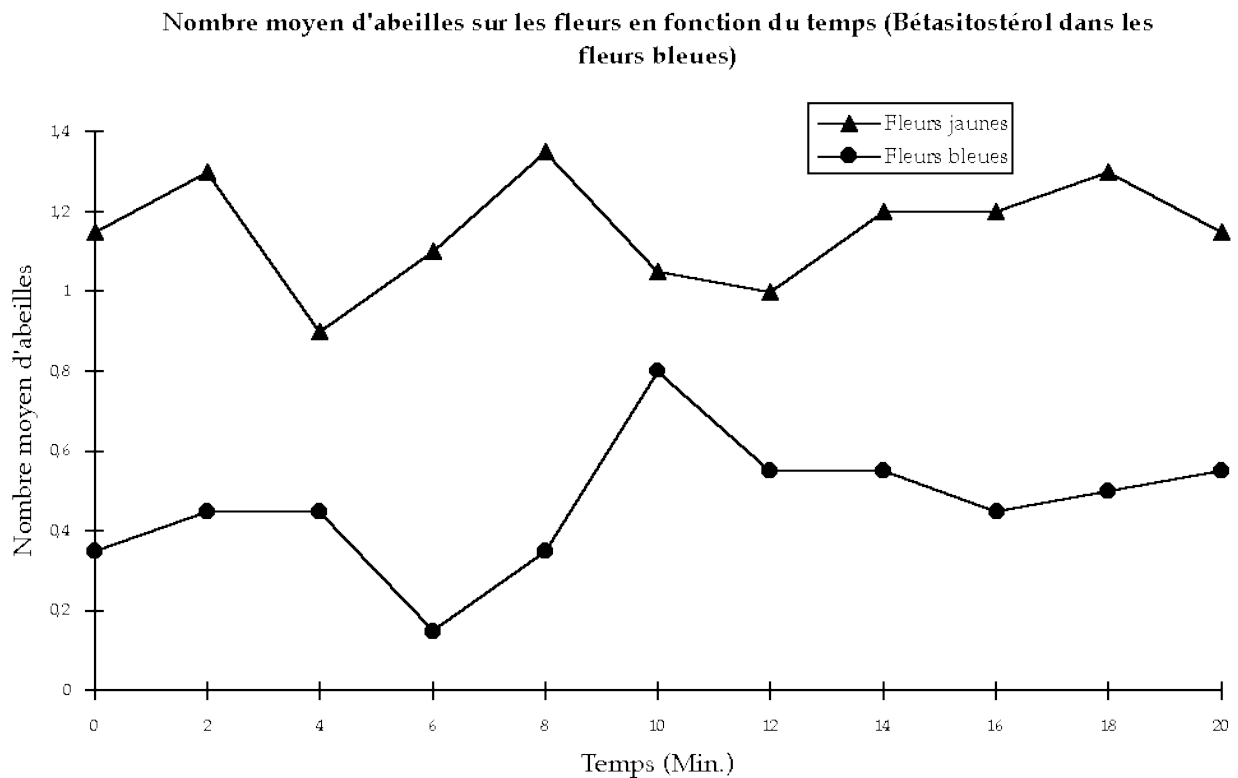


Figure 14: graphique du nombre moyen d'abeilles en fonction du temps (moyenne sur 20 séances d'observations)

En regard du nombre total d'abeilles ayant visité les fleurs jaunes et les fleurs bleues, on remarque que les fleurs jaunes ont été visitées par les abeilles deux fois plus souvent que les bleues (254 comptages sur les jaunes et 104 sur les bleues). On remarque aussi que les fleurs jaunes ont été systématiquement visitées plus souvent que les bleues, tout au long de la semaine (figure 15).

Répartition des abeilles sur les fleurs au cours du temps (Bétasitostérol dans les fleurs bleues)

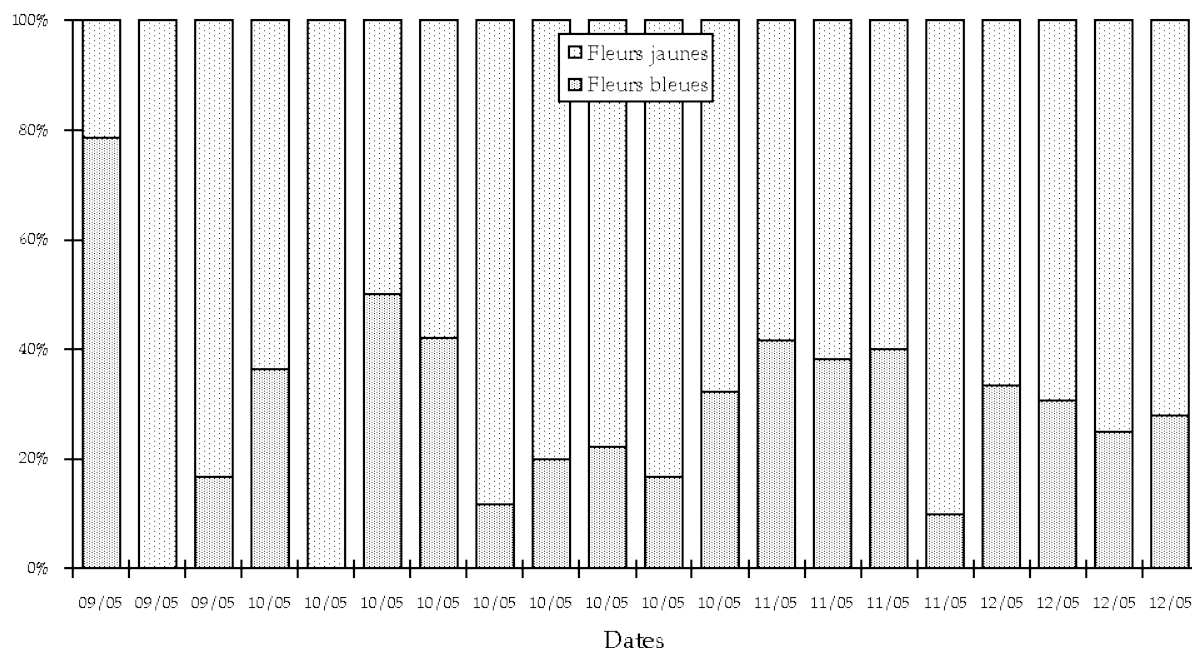


Figure 15: graphique de répartition des abeilles au cours des séances d'observations

Semaine du 15 au 19 mai 1995; b -sitostérol dans les fleurs jaunes

Etant donné que comme pour la semaine précédente, les bourdons n'ont pas butiné les fleurs cette semaine, l'analyse de la variance a donc été réalisée sur deux critères: le critère couleur des fleurs, et donc le pollen qui y est associé, et le critère temps.

De plus, les conditions météorologiques très défavorables en fin de semaine (luminosité inférieure à 1.500 lux, température minimale de 5°C et maximale de 15°C) ont fait qu'aucune abeille n'est sortie du jeudi au samedi. Il n'y a donc que 13 observations pour cette semaine.

Tableau de contingence

Nombre total de visites	Fleurs jaunes	Fleurs bleues	Total
Abeilles	62	141	
	χ^2_{obs}	$\chi^2_{0,95}$	$\chi^2_{0,99}$
Abeilles	30,744 ***	3,841	6,635
			$\chi^2_{0,999}$
			10,827

On constate qu'à la fin de cette semaine d'observations, les abeilles ont butiné préférentiellement, et de manière très fortement significative, les fleurs bleues (ne contenant pas de b -sitostérol) plutôt que les fleurs jaunes (qui en contenaient).

Tableau d'analyse de la variance à 2 critères

Sources de variation	DL	SCE	CM	F observée	F théorique		
					95%	99%	99,9%
Couleur	1	240,04	240,04	4,40 *	4,38	8,18	15,1
Bloc	12	81,54	6,79				
Coul.-bloc	12	654,46	54,54				

On remarque que les différences de butinage en faveur des fleurs bleues sont significatives.

Analyse de cette deuxième série d'observations

Si on regarde le nombre total des abeilles ayant visité les fleurs jaunes et les fleurs bleues, on remarque qu'il y a une nette préférence pour les fleurs jaunes (245 comptages sur les bleues et 318 sur les jaunes). Si l'on tient compte maintenant du nombre de comptage des abeilles sur les fleurs contenant du b -sitostérol, indépendamment de la couleur de la fleur, on s'aperçoit qu'il y a une très nette préférence pour les fleurs ne contenant pas ce stérol (166 comptages sur les fleurs contenant du b -sitostérol et 397 sur celles n'en contenant pas). Il semble donc établi que le b -sitostérol joue un rôle répulsif chez l'abeille domestique. Toutes choses étant égales d'autre part, celle-ci butine de préférence des fleurs ayant un pollen pauvre en b -sitostérol. Ce "manque d'appétit" pour le b -sitostérol avait déjà été constaté (Herbert et al.; 1980). De plus, l'abeille domestique semble préférer les fleurs jaunes, ce qui expliquerait que le seuil de signification des différences observées entre le butinage des fleurs jaunes contenant du b -sitostérol et des fleurs bleues n'en contenant pas soit seulement "statistiquement significatif" et non "très hautement significatif" comme lorsque le b -sitostérol est associé aux fleurs bleues. Il semblerait donc exister un **dilemme** entre la couleur **préférée** (le jaune) et le pollen **préféré** (sans b -sitostérol). L'abeille domestique résout le plus souvent ce dilemme en prenant en compte le critère stérol.

Troisième série d'observations

Le 20 mai, l'ouverture par laquelle les bourdons continuaient à sortir a été découverte. Moins d'une semaine après l'obstruction de l'orifice, les bourdons ont commencé à récolter du pollen sur les fleurs artificielles de la serre.

Semaine du 29 mai au 2 juin 1995; b -sitostérol dans les fleurs bleues

Tableau de contingence

Nombre total de visites	Bourdons	Abeilles	Total
Fleurs jaunes	485	798	
Fleurs bleues	50	716	
Total			

	χ^2_{obs}		$\chi^2_{0,95}$	$\chi^2_{0,99}$	$\chi^2_{0,999}$
Abeilles	4,441	*	3,841	6,635	10,827
Bourdons	353,692	***	3,841	6,635	10,827

On constate qu'à la fin de cette semaine, les différences observées entre le butinage des fleurs jaunes et de fleurs bleues sont significatives chez les abeilles et très hautement significatives chez les bourdons.

Tableau d'analyse de la variance à 3 critères

Sources de variation	DL	SCE	CM	$F_{observée}$		$F_{théorique}$		
						95%	99%	99,9%
Espèce	1	11980,51	11980,51	30,13	***	4,38	8,18	15,1
Couleur	1	3441,11	3441,11	25,15	***	4,38	8,18	15,1
Bloc	19	12094,74	636,57					
Esp.-coul.	1	1557,61	1557,61	23,94	***	4,38	8,18	15,1
Esp.-bloc	19	7555,24	397,64					
Coul.-bloc	19	2523,64	132,82					
Esp.-coul.-bloc	19	1236,14	65,06					

On constate que les différences observées entre les abeilles et les bourdons, entre le butinage des fleurs bleues et des fleurs jaunes et entre les interactions couleur-espèce sont très hautement significatives.

Contrairement à ce que l'on pouvait attendre suite à la première série d'observations, les bourdons ont été plus souvent observés sur les fleurs jaunes qui ne contenaient pas de b-sitostérol (485 comptages sur les fleurs jaunes contre 50 sur les fleurs bleues).

Semaine du 5 au 9 juin 1995; b-sitostérol dans les fleurs jaunes et bleues

Tableau de contingence

Nombre total de visites	Bourdons	Abeilles	Total
Fleurs jaunes	563	259	
Fleurs bleues	124	161	

	χ^2_{obs}		$\chi^2_{0,95}$	$\chi^2_{0,99}$	$\chi^2_{0,999}$
Abeilles	22,867	***	3,841	6,635	10,827
Bourdons	280,525	***	3,841	6,635	10,827

On remarque qu'à la fin de cette semaine d'observations, les différences observées entre le butinage des fleurs bleues et des fleurs jaunes par les abeilles et les bourdons sont très hautement significatives pour les uns comme pour les autres.

Tableau d'analyse de la variance à 3 critères

Sources de variation	DL	SCE	CM	F observée	F théorique			
					95%	99%	99,9%	
Espèce	1	891,11	891,11	16,23	***	4,38	8,18	15,1
Couleur	1	3604,61	3604,61	50,86	***	4,38	8,18	15,1
Bloc	19	1163,14	61,22					
Esp.-coul.	1	1453,51	1453,51	28,25	***	4,38	8,18	15,1
Esp.-bloc	19	1040,14	54,74					
Coul.-bloc	19	1346,64	70,88					
Esp.-coul.-bloc	19	977,74	51,46					

On constate ici aussi que les différences observées entre les abeilles et les bourdons, entre le butinage des fleurs bleues et des fleurs jaunes et entre les interactions couleur-espèce sont très hautement significatives.

De nouveau, contrairement à ce que l'on pouvait attendre suite à la première série d'observations, les bourdons ont préféré les fleurs jaunes plutôt que les bleues (563 comptages sur les fleurs jaunes contre 124 sur les bleues). Les abeilles quand à elles semblent préférer les fleurs jaunes (259 comptages sur les fleurs jaunes contre 161 sur les bleues), ce qui avait déjà été constaté précédemment.

Semaine du 12 au 16 juin 1995; b -sitostérol dans les fleurs jaunes

Tableau de contingence

Nombre total de visites	Bourdons	Abeilles	Total
Fleurs jaunes	541	238	
Fleurs bleues	170	272	

	c^2_{obs}	$c^2_{0,95}$	$c^2_{0,99}$	$c^2_{0,999}$
Abeilles	2,267	3,841	6,635	10,827
Bourdons	193,588 ***	3,841	6,635	10,827

On constate qu'à la fin de cette semaine d'observations, les différences observées entre le butinage des fleurs jaunes et des fleurs bleues sont très hautement significatives chez les bourdons mais ne le sont pas chez les abeilles. Les bourdons préfèrent encore les fleurs jaunes (contenant du *b*-sitostérol) alors que les abeilles ne montrent pas de différences. La répulsion des abeilles vis-à-vis du *b*-sitostérol n'est pas marquée ici probablement parce que les abeilles sont face à un dilemme parce que leurs fleurs préférées (les jaunes) contiennent le pollen qu'elles n'aiment pas (celui contenant le *b*-sitostérol).

Tableau d'analyse de la variance à 3 critères/ p >

Sources de variation	DL	SCE	CM	F observée	F théorique		
					95%	99%	99,9%
Espèce	1	505,01	505,01	4,33 *	4,38	8,18	15,1
Couleur	1	1419,61	1419,61	19,65 ***	4,38	8,18	15,1
Bloc	19	1872,74	98,57				
Esp.-coul.	1	2050,31	2050,31	34,11 ***	4,38	8,18	15,1
Esp.-bloc	19	2217,24	116,70				
Coul.-bloc	19	1372,64	72,24				
Esp.-coul.-bloc	19	1141,94	60,10				

On constate ici que les différences observées entre les abeilles et les bourdons sont statistiquement significatives. Celles observées entre le butinage des fleurs bleues et des fleurs jaunes et entre les interactions couleur-espèce sont très hautement significatives.

Encore une fois, les bourdons montrent une préférence pour les fleurs jaunes qui, dans ce cas-ci, contiennent du *b*-sitostérol (541 comptages sur les fleurs jaunes contre 170 sur les bleues). Les abeilles confirment leur répulsion vis-à-vis du *b*-sitostérol comme cela avait déjà été montré lors de la deuxième série d'observations (238 comptages sur les fleurs jaunes contenant du *b*-sitostérol contre 272 sur celles n'en contenant pas et ce malgré le fait que leur couleur "préférée" semble être le jaune). La contradiction entre le test de c^2 et l'anova au sujet des abeilles peut être expliquée si on regarde les données brutes (annexe X). En effet,

on voit clairement que les abeilles hésitent dans la première moitié de la semaine alors que dans la seconde moitié elles butinent toujours préférentiellement les fleurs bleues sans b-sitostérol. Au total de la semaine, les hésitations du début font pencher la balance en faveur d'un équilibre fleurs jaunes/fleurs bleues et c'est cela qu'indique le test de c^2 .

Semaine du 19 au 23 juin 1995; pas de b-sitostérol

Tableau de contingence

Nombre total de visites	Bourdons	Abeilles	Total
Fleurs jaunes	337	822	
Fleurs bleues	173	751	

	c^2_{obs}		$c^2_{0,95}$	$c^2_{0,99}$	$c^2_{0,999}$
Abeilles	3,205		3,841	6,635	10,827
Bourdons	52,737	***	3,841	6,635	10,827

On remarque à la fin de cette semaine d'observations que les différences observées entre le butinage des fleurs jaunes et des fleurs bleues sont très hautement significatives chez les bourdons alors qu'elles ne le sont pas chez les abeilles.

Tableau d'analyse de la variance à 3 critères

Sources de variation	DL	SCE	CM	$F_{observée}$		$F_{théorique}$		
						95%	99%	99,9%
Espèce	1	14124,61	14124,61	107,08	***	4,38	8,18	15,1
Couleur	1	690,31	690,31	5,80	*	4,38	8,18	15,1
Bloc	19	4435,64	233,45					
Esp.-coul.	1	108,11	108,11	1,13		4,38	8,18	15,1
Esp.-bloc	19	2506,14	131,90					
Coul.-bloc	19	2259,44	118,92					
Esp.-coul.-bloc	19	1818,64	95,72					

On constate ici que les différences observées entre les abeilles et les bourdons sont très hautement significatives. Celles observées entre le butinage des fleurs bleues et des fleurs jaunes sont statistiquement significatives.

Comme on pouvait s'y attendre, les bourdons ont de nouveau été observés plus fréquemment sur les fleurs jaunes (337 comptages sur les fleurs jaunes contre 173 sur les bleues).

Analyse de cette troisième série d'observations

Suite à cette troisième série d'observations, plusieurs hypothèses peuvent être formulées.

1. Les conditions de concurrence modifient le comportement de butinage. En effet, les conditions de concurrence étaient moins drastiques et beaucoup plus égalitaires lors de la troisième série d'observations que lors de la première et il se pourrait que les différences observées entre les comportements de butinage des bourdons des première et troisième séries d'observations soient dues à cela.
2. Les bourdons de Belgique (*ssp. terrestris*) et les bourdons méditerranéens (*ssp. lusitanicus*) n'ont pas les mêmes comportements de butinage. En effet, il a clairement été remarqué une préférence des bourdons belges pour les fleurs jaunes alors que les bourdons méditerranéens semblaient plus attirés par les fleurs bleues. Une tentative de vérification de ces deux hypothèses va d'être effectuée lors de la quatrième série d'observations.

Toutes ces constatations sont résumées à la figure 16.

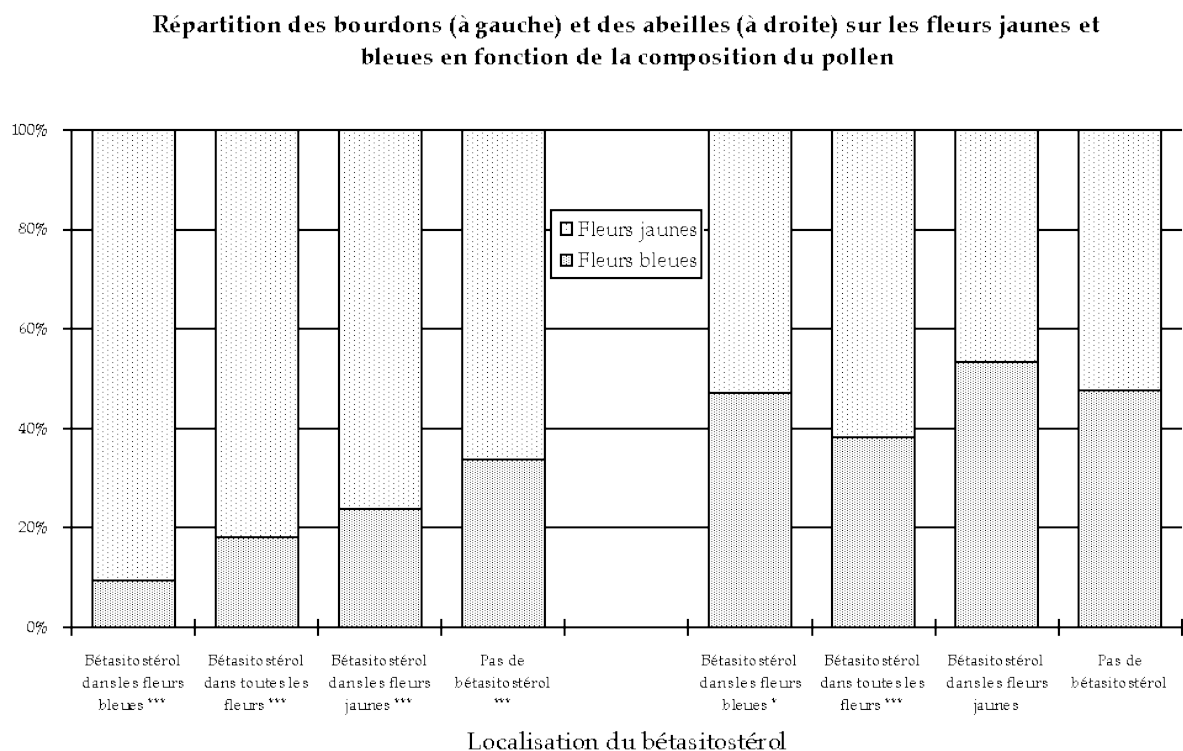


Figure 16: graphique de répartition des insectes en fonction de la composition du pollen (les * indiquent le degré de signification)

Quatrième série d'observations

Le but de cette quatrième série d'observations était de vérifier si les différences comportementales de butinage observées entre les bourdons de la première série d'observations et ceux de la troisième étaient dues à la saturation du milieu par les abeilles et donc aux conditions de concurrence intense. Pour cela, une nouvelle colonie de bourdons a été installée le 23 juin vers 16h00. Cette colonie est morte, probablement d'un excès de

chaleur, dans la soirée du 29. Le 30 juin, une autre colonie a été installée en veillant à lui fournir une bonne couche d'ouate hydrofuge pour l'isolation thermique.

Les bourdons n'étant pas sortis récolter de pollen, les observations ont été réalisées avec les abeilles de la ruchette. Si les bourdons étaient sortis, la ruche principale aurait été introduite dans la serre pour la saturer en abeilles. Malheureusement, les colonies de bourdons disponibles étaient sur le déclin et le nombre de bourdons sortis récolter était largement insuffisant pour mener à bien cette série d'observations.

Les résultats suivants sont donc les comptages effectués avec la ruchette et non la ruche.

Semaine du 26 au 30 juin 1995; *b*-sitostérol dans les fleurs jaunes

Tableau de contingence

Nombre total de visites	Fleurs jaunes	Fleurs bleues	Total
Abeilles	784	1077	

	χ^2_{obs}		$\chi^2_{0,95}$	$\chi^2_{0,99}$	$\chi^2_{0,999}$
Abeilles	46,131	***	3,841	6,635	10,827

On constate à la fin de cette semaine d'observations que les différences observées entre le butinage des fleurs jaunes et des fleurs bleues par les abeilles sont très hautement significatives.

Tableau d'analyse de la variance à 2 critères

Sources de variation	DL	SCE	CM	F observée	F théorique		
					95%	99%	99,9%
Couleur	1	2146,23	2146,23	8,88 **	4,38	8,18	15,1
Bloc	19	9492,48	499,60				
Coul.-bloc	19	4591,28	241,65				

On constate que les différences observées entre le butinage des fleurs jaunes et des fleurs bleues par les abeilles sont donc hautement significatives. Ces différences peuvent s'expliquer par la présence de *b*-sitostérol dans les fleurs jaunes et à l'action répulsive qu'il joue sur les abeilles (784 comptages sur les fleurs contenant du *b*-sitostérol contre 1077 sur celles n'en contenant pas).

Semaine du 4 au 7 juillet 1995; *b*-sitostérol dans les fleurs bleues

Tableau de contingence

Nombre total de visites	Fleurs jaunes	Fleurs bleues	Total
Abeilles	1238	800	

	χ^2_{obs}		$\chi^2_{0,95}$	$\chi^2_{0,99}$	$\chi^2_{0,999}$
Abeilles	94,134 ***		3,841	6,635	10,827

On remarque qu'à la fin de cette semaine d'observations, les différences observées entre le butinage des fleurs jaunes et des fleurs bleues par les abeilles sont très hautement significatives.

Tableau d'analyse de la variance à 2 critères

Sources de variation	DL	SCE	CM	F observée	F théorique		
					95%	99%	99,9%
Couleur	1	4796,10	4796,90	19,22 ***	4,38	8,18	15,1
Bloc	19	6557,90	345,15				
Coul.-bloc	19	4741,90	249,58				

On constate que les différences observées entre le butinage des fleurs jaunes et des fleurs bleues par les abeilles sont très hautement significatives. Ces différences peuvent s'expliquer par la présence de *b*-sitostérol dans les fleurs bleues et à l'action répulsive qu'il joue sur les abeilles (800 comptages sur les fleurs contenant du *b*-sitostérol contre 1238 sur celles n'en contenant pas).

Semaine du 10 au 14 juillet 1995; pas de *b*-sitostérol

Tableau de contingence

Nombre total de visites	Fleurs jaunes	Fleurs bleues	Total
Abeilles	1518	1475	

	χ^2_{obs}	$\chi^2_{0,95}$	$\chi^2_{0,99}$	$\chi^2_{0,999}$
Abeilles	0,618	3,841	6,635	10,827

A la fin de cette semaine d'observations, on ne remarque pas de différences significatives entre le butinage des fleurs jaunes et des fleurs bleues par les abeilles.

Tableau d'analyse de la variance à 2 critères/p>

Sources de variation	DL	SCE	CM	F observée	F théorique		
					95%	99%	99,9%
Couleur	1	46,23	46,23	0,19	4,38	8,18	15,1
Bloc	19	21345,28	1123,44				
Coul.-bloc	19	4516,28	237,70				

On constate que les différences observées entre le butinage des fleurs jaunes et des fleurs bleues par les abeilles ne sont pas significatives.

Semaine du 17 au 21 juillet 1995; b -sitostérol dans les fleurs jaunes

Tableau de contingence

Nombre total de visites	Fleurs jaunes	Fleurs bleues	Total
Abeilles	860	1124	

	c^2_{obs}		$c^2_{0,95}$	$c^2_{0,99}$	$c^2_{0,999}$
Abeilles	35,129	***	3,841	6,635	10,827

A la fin de cette semaine d'observations, on remarque des différences très hautement significatives entre le butinage des fleurs jaunes et des fleurs bleues par les abeilles.

Tableau d'analyse de la variance à 2 critères

Sources de variation	DL	SCE	CM	F observée	F théorique		
					95%	99%	99,9%
Couleur	1	1742,40	1742,40	13,96 **	4,38	8,18	15,1
Bloc	19	8069,60	424,72				
Coul.-bloc	19	2371,60	124,82				

On constate que les différences observées entre le butinage des fleurs jaunes et des fleurs bleues par les abeilles sont hautement significatives. Ces différences peuvent s'expliquer par la présence de b -sitostérol dans les fleurs jaunes et à l'action répulsive qu'il joue sur les abeilles (860 comptages sur les fleurs contenant du b -sitostérol contre 1124 sur celles n'en contenant pas).

Analyse de cette quatrième série d'observations

Répartition des abeilles sur les fleurs au cours des différentes semaines d'observations

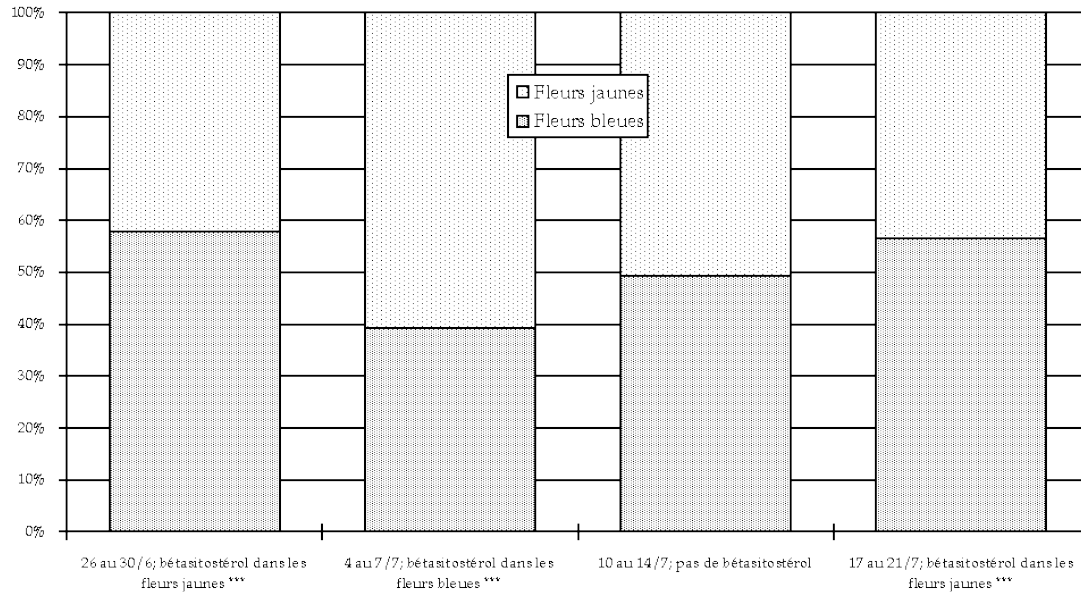


Figure 17: graphique de répartition des abeilles en fonction de la composition du pollen (les * indiquent le degré de signification)

On remarque à nouveau une répulsion des abeilles vis-à-vis du b -sitostérol (2444 comptages sur les fleurs à b -sitostérol et 3439 sur celles n'en contenant pas) et ce quelle que soit la couleur de la fleur qui y est associée (figure 17).

De plus, les abeilles ont préféré les fleurs sans b -sitostérol dans 86% des observations (52 comptages sur 60), quelle que soit la couleur de la fleur associée à ce b -sitostérol (figure 18).

Répartition des abeilles sur les deux types de fleurs au cours des séances d'observations

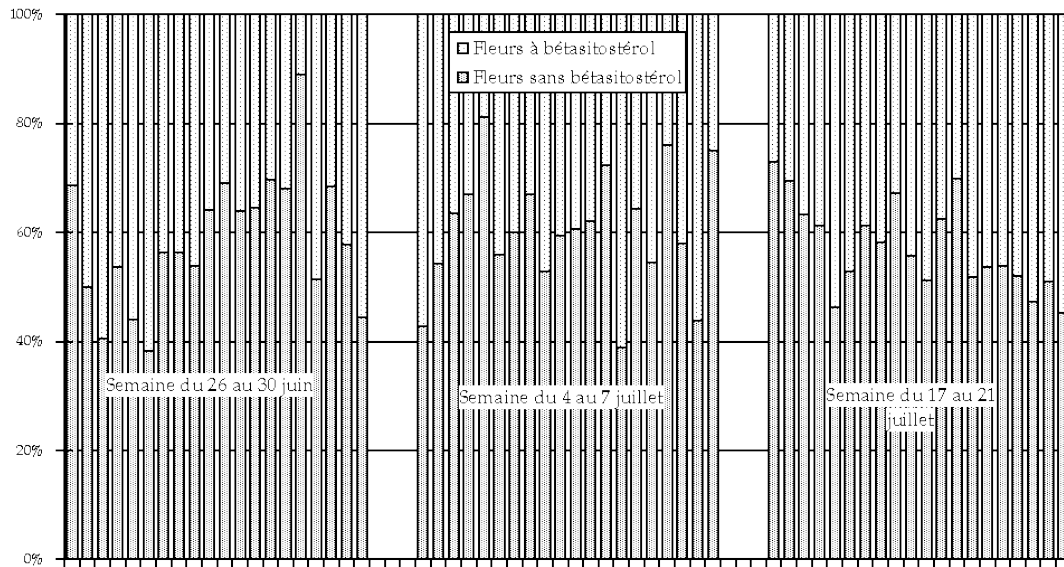


Figure 18: graphique de répartition des abeilles sur les fleurs au cours des séances d'observations

Discussion

Utilisation d'abeilles et de bourdons en serre

Selon de nombreux auteurs (Chauvin, 1968c; Free, 1978; Pouvreau, 1984), la survie à long terme (plus d'un mois) de colonies d'abeilles sous serre est pratiquement impossible à cause d'un taux de mortalité très élevé. De plus ces auteurs recommandent de fournir pollen et sirop à l'intérieur de la colonie. Or, au cours de ce travail, une colonie d'environ 10.000 abeilles a doublé pendant les quatre mois passés à l'intérieur de la serre alors qu'aucun apport de nourriture n'a été effectué à l'intérieur de la colonie.

En ce qui concerne les bourdons, le succès qui est le leur actuellement pour la pollinisation des tomates sous serre n'est pas dû au fait qu'ils n'ont pas tendance à quitter la serre et qu'ils butinent à proximité de leur nid (DeWael, 1990), mais plutôt au fait que le pollen (ou la fleur) de tomate leur semble suffisamment attractif pour ne pas aller voir ailleurs. En effet, bien que la quantité de pollen soit plus importante dans les fleurs artificielles mise à leur disposition à l'intérieur de la serre que dans les fleurs naturelles poussant à l'extérieur, les bourdons ont délaissé les fleurs artificielles dès qu'un moyen d'évasion a été découvert. Cela laisse supposer que ce n'est pas seulement la quantité de pollen qui détermine le choix d'une fleur à butiner.

Résumé des résultats statistiques

Tableau VII: résumé des résultats statistiques

	Test de χ^2				anova	
	Abeilles		Bourdons		Signif.	
	Couleur	Signif.	Couleur	Signif.	Coul.	Inter.
pollen multifleurs	J	***	B	***	***	***
β –sitostérol dans les fleurs jaunes	J	-	B	-	-	-
β –sitostérol dans toutes les fleurs	J	-	B	***	-	-
β –sitostérol dans les fleurs bleues	J	***	B	-	***	***
pas de β –sitostérol	J	***	B	***	-	-
β –sitostérol dans les fleurs bleues	J	***	pas de bourdons		***	s.o.
β –sitostérol dans les fleurs jaunes	B	***	pas de bourdons		*	s.o.
β –sitostérol dans les fleurs bleues	J	*	J	***	***	***
β –sitostérol dans toutes les fleurs	J	***	J	***	***	***
β –sitostérol dans les fleurs jaunes	B	-	J	***	***	***
pas de β –sitostérol	J	-	J	***	*	-
β –sitostérol dans les fleurs jaunes	B	***	pas de bourdons		**	s.o.
β –sitostérol dans les fleurs bleues	J	***	pas de bourdons		***	s.o.
pas de β –sitostérol	J	-	pas de bourdons		-	s.o.
β –sitostérol dans les fleurs jaunes	B	***	pas de bourdons		***	s.o.

B = fleurs bleues; **J** = fleurs jaunes.

La première colonne indique l'association couleur/stérol.

La colonne couleur indique la couleur des plaquettes sur lesquelles les insectes ont été le plus souvent observés.

La colonne signif. indique le degré de signification du test statistique effectué.

Pour l'anova, la première colonne indique la signification des différences entre couleurs de fleurs (et donc entre stérol associé); la seconde colonne indique la signification des interactions espèce/couleur; s.o. indique que ce test est sans objet étant donné l'absence de bourdons.

Effet du b -sitostérol sur les abeilles

L'effet négatif du b -sitostérol sur l'élevage de couvain par les abeilles, qui a été mis en évidence par Herbert *et al* (1980), semble se traduire aussi par un effet répulsif de ce b -sitostérol lorsque les abeilles ont le choix entre du pollen contenant beaucoup de b -sitostérol (plus de 2,1 mg/g MS) et du pollen n'en contenant que très peu (0,67 à 0,82 mg/g MS, tableau II) (voir tableau VII).

Effet du b -sitostérol sur les bourdons

Des tests d'appétence réalisés avec des bourdons (*Bombus terrestris*) encagés ont montré que du pollen (colza ou tournesol) supplémenté en b -sitostérol était consommé préférentiellement au même pollen non supplémenté (Regali, 1993; Regali *et al*, en préparation).

Au cours de cette expérience, les bourdons n'ont pas montré de préférence significative pour le pollen supplémenté en b -sitostérol malgré le fait que les bourdons méditerranéens (*Bombus terrestris lusitanicus* Krüger) en milieu saturé d'abeilles ont butiné un peu plus souvent les fleurs contenant ce stérol (première série d'observations, voir tableau VII). Ceci montre la complexité des facteurs déterminants le choix de butinage des bourdons.

Théorie du butinage optimal

Jusqu'il y a peu, le comportement de butinage des bourdons n'était expliqué que par la nécessité d'optimiser la dépense énergétique (Heinrich, 1979; Zimmerman, 1982) et l'on ne tenait pas compte d'éventuelles préférences des bourdons vis-à-vis de la couleur des fleurs ou de la qualité de leur pollen. Le fait que les bourdons, pris individuellement, se concentrent sur un petit spectre de fleur était expliqué par l'avantage de diminuer le nombre de manipulations pour récolter le nectar ou le pollen et donc par un avantage "économique". De plus, la plupart des travaux effectués sur le comportement de butinage des bourdons se basent non pas sur la récolte du pollen mais sur celle du nectar.

Selon certains auteurs (Kügler, 1943 *in* Heinrich *et al*, 1977; Manning 1956 *in* Heinrich *et al*, 1977) le choix des fleurs butinées n'est pas basé sur leur couleur. De même, lors d'expériences sur le comportement de butinage des bourdons, Real (1991) a montré qu'à récompense et nombre de fleurs égal, les bourdons visitent autant des fleurs artificielles jaunes que des bleues. Cependant, Heinrich (1977, 1979) a montré que le temps de conditionnement des bourdons était variable selon que la fleur récompensante était bleue ou blanche (dès le premier jour pour les fleurs bleues, après 3 ou 4 jours pour les blanches) et que ce temps de conditionnement dépendait du nombre de fleurs visitées.

Lors de cette expérience, les bourdons ont montré des comportements de butinage différents de ceux auxquels on pouvait s'attendre selon les théories du butinage optimal (*optimal foraging*). En effet, alors que les fleurs avaient toutes la même forme et la même quantité de pollen, des différences dans le butinage de ces fleurs ont été plus ou moins marquées. C'est ainsi qu'il a été mis en évidence que, en milieu saturé d'abeilles domestiques et avec le même pollen dans toutes les fleurs, *Bombus terrestris lusitanicus* préfère les fleurs bleues plutôt que les jaunes (§ **Erreur! Source du renvoi introuvable.**). Il a aussi été montré que *Bombus terrestris terrestris*, en situation de faible concurrence avec les abeilles domestiques, butine de préférence les fleurs jaunes (§ **Erreur! Source du renvoi introuvable.**) (voir tableau VII).

Partage des ressources

Dans la nature, l'utilisation des mêmes ressources par les abeilles et les bourdons entraîne une compétition intense (Heinrich, 1979). Les interactions entre bourdons d'espèces différentes affectent aussi le comportement de butinage et les espèces les moins agressives sont exclues des fleurs de haute qualité par les espèces agressives (Alford, 1975; Waddington, 1987). Ceci peut expliquer pourquoi différentes espèces de bourdons ont des préférences pour différentes espèces de fleurs (Free *et al*, 1959). De plus, au sein des bourdons, le niveau de polylectisme (nombre d'espèces florales visitées par une espèce de bourdon) est variable selon les espèces. *Bombus terrestris* visite ainsi plus de 100 espèces de fleurs alors que *B. gerstaeckeri* (Morawitz) par exemple ne visite qu'un seul genre (*Aconitum*) (Rasmont, 1988).

Les bourdons sont particulièrement attirés par des fleurs irrégulières et présentant une structure tridimensionnelle (Alford, 1975; Pouvreau, 1984).

Les abeilles montrent une fidélité individuelle vis à vis d'une même espèce de fleur au cours d'une sortie comme le montrent les analyses du pollen des pelotes (Chauvin, 1968b; Louveaux, 1984). Cette fidélité d'un individu vis-à-vis d'une espèce de fleur se remarque aussi chez les bourdons (Proctor & Yeo, 1973; Heinrich, 1979).

Au cours de ce travail, aucune attaque réelle d'un bourdon par une abeille ou *vice versa* n'a été observée. Cependant, lors de contacts entre abeille et bourdon, le bourdon essaye d'abord de repousser l'abeille à l'aide de ses pattes et, en cas d'insistance de la part de l'abeille, il change de fleur (observations personnelles). Il se pourrait donc que la **persévérance**, plutôt que l'agressivité, favorise l'accès aux meilleures fleurs. Le fait qu'il n'y ait pas eu de comportement agressif des abeilles à l'encontre des bourdons ou de l'expérimentateur peut s'expliquer par le fait que des abeilles confinées dans une enceinte sont moins agressives (Chauvin, 1968c). Par contre, dans la nature, l'abeille domestique se montre réellement agressive vis-à-vis des bourdons (Rasmont, comm. pers.).

Le partage des ressources entre les abeilles et les bourdons n'a été mis en évidence que sous certaines conditions (tableau VII):

1. en milieu saturé d'abeilles et avec le même pollen dans toutes les fleurs, *Bombus terrestris lusitanicus* a préféré les fleurs bleues et les abeilles domestiques les jaunes;
2. en milieu non saturé d'abeilles et avec du b -sitostérol dans les fleurs jaunes, *Bombus terrestris terrestris* a préféré les fleurs jaunes et les abeilles domestiques les bleues.

Dans tous les autres cas, le partage des ressources n'a pas clairement été mis en évidence par les moyens mis en oeuvre.

Lors des expériences en milieu non saturé en abeilles (deuxième, troisième et quatrième séries d'observations), ces dernières ont montré une préférence constante pour les fleurs jaunes sauf lorsque celles-ci contenaient du b -sitostérol (exception faite de la semaine du 10 au 17 juillet où il n'y avait pas de b -sitostérol et lors de laquelle les différences de butinage ne furent pas significatives malgré une légère préférence des abeilles pour les fleurs jaunes (1518 contre 1475).

Il a aussi été mis en évidence que le choix des couleurs par les bourdons n'est pas le même pour toutes les colonies. Ces différences pourraient être expliquées par des différences subsécifiques entre les *Bombus terrestris lusitanicus* du sud de la France et les *Bombus terrestris terrestris* de Belgique. En effet, dans le sud de la France, les fleurs bleues sont beaucoup plus abondantes que chez nous. Cette différence peut s'expliquer par le fait que, dans le sud de la France, les Anthophores (g. *Anthophora*) et les Eucères (g. *Eucera*) sont beaucoup plus abondantes qu'en Belgique. Or, ces insectes sont d'excellents pollinisateurs et ils ont une très nette préférence pour les fleurs bleues (Rasmont, comm. pers.). L'abondance de fleurs bleues dans le sud de la France pourrait donc s'expliquer par un effet collatéral dû à la présence de ces deux genres importants de pollinisateurs.

Il se pourrait aussi que le choix des bourdons pour les fleurs bleues en milieu saturé d'abeilles soit dû non pas à une préférence des bourdons pour les fleurs bleues mais à l'encombrement de l'accès aux fleurs jaunes qui elles, sont préférées par les abeilles. En effet, lorsque le milieu n'est plus saturé en abeilles, les bourdons visitent les mêmes fleurs qu'elles (les jaunes).

A l'issue de toutes ces observations, il me semble que l'on peut considérer les faits suivants comme établis:

1. les abeilles domestiques montrent une nette répulsion vis-à-vis du b - sitostérol;
2. les abeilles domestiques préfèrent les fleurs jaunes;
3. face à un conflit de choix entre la composition stérolique du pollen et la couleur de la fleur, les abeilles ont tendance à privilégier le facteur stérol (absence de b -sitostérol) par rapport au facteur couleur;
4. en milieu faiblement saturé d'abeilles et face à un conflit de choix entre la composition stérolique du pollen et la couleur de la fleur, les bourdons ont tendance à privilégier le facteur couleur par rapport au facteur stérol;
5. en milieu fortement saturé d'abeilles, ce qui est fréquent en région méditerranéenne, les bourdons semblent être repoussés vers les fleurs délaissées par les abeilles (celles dont le pollen contient du b -sitostérol).

Le partage des ressources entre abeilles domestiques et bourdons serait donc déterminé par les abeilles.

Conclusions

Un des objectifs de ce travail était de tester la faisabilité d'expériences de concurrence entre abeilles et bourdons sous serre. Cet objectif a été rempli et le protocole expérimental pour de telles expériences a été mis au point.

Le second but de ce travail était de vérifier s'il existait ou non un partage des ressources entre les abeilles et les bourdons basé sur l'utilisation de b -sitostérol par les bourdons. Ce partage des ressources a été mis en évidence sous certaines conditions (voir 5. Discussion) et semble être déterminé par le nombre d'abeilles présentes dans le milieu.

Il a aussi été confirmé (deuxième et quatrième séries d'observations), dans le cadre d'une expérimentation en conditions réelles, que le b -sitostérol joue un rôle répulsif pour les

abeilles, ce qui avait déjà été montré lors de tests d'appétence en laboratoire (Herbert *et al.*, 1980).

Enfin, il a été montré que les abeilles et les bourdons ne résolvent pas de la même manière un conflit de choix entre la couleur de la fleur et la composition stéroliques du pollen. Les abeilles privilégient le facteur stérol (absence de b -sitostérol) alors que les bourdons privilégient le facteur couleur des fleurs, sauf si l'accès à ces fleurs leur est rendu difficile par la présence d'un grand nombre d'abeilles.

Bibliographie

Alford, D.V., 1975. - *Bumblebees*. Davis-Poynter, London, 352 pp.

Backhaus, W., 1993. - Color vision and color choice behavior of the honey bee. *Apidologie*, 24: 309-331.

Banda, H.J. & Paxton, R.J., 1991. - Pollination of greenhouse tomatoes by bees. *Acta Horticulturae*, 288: 194-198.

Cameron, S.A., 1981. - Chemical signals in bumble bee foraging. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 9: 257-260.

Chauvin, R., 1968a. - *Biologie et physiologie générales*. Traité de biologie de l'abeille, Tome I, Masson, Paris, 547 pp.

Chauvin, R., 1968b. - *Système nerveux, comportement et régulations sociales*. Traité de biologie de l'abeille, Tome II, Masson, Paris, 566 pp.

Chauvin, R., 1968c. - *Biologie appliquée*. Traité de biologie de l'abeille, Tome IV, Masson, Paris, 434 pp.

Dagnelie, P., 1975. - *Théorie et méthodes statistiques*, vol.2. Presses agronomiques de Gembloux, Gembloux, 463 pp.

Debusshere, P., 1990. - *Statistique, probabilités et informatique pour les sciences biomédicales*. Notes de cours à l'usage des étudiants de deuxième candidature en sciences médicales, pharmaceutiques et en biologie. Université de Mons-Hainaut.

Demol, P., 1994. - *Etude quantitative de la digestibilité des acides aminés et des stérols chez *Bombus terrestris* L. (Hymenoptera, Apidae)*. Mémoire de fin d'études, Université de Mons-Hainaut, 72 + XVII pp.

De Wael, L.; De Greef, M. & Van Laere, O., 1990. - La pollinisation par les insectes dans l'horticulture sous verre. *Agricontact*, 222 (4): 1-3.

Feldlaufer, M.F.; Herbert Jr, E.W.; Svoboda, J.A. & Thompson, M.J., 1985. - Makisterone A: the major ecdysteroid from the pupa of the honeybee *Apis mellifera*. *Insect Biochemistry*, 15 (5): 597-600.

- Feldlaufer, M.F.; Herbert Jr, E.W.; Svoboda, J.A. & Thompson, M.J., 1986a. - Biosynthesis of Makisterone A and 20-Hydroxyecdysone from labeled sterols by the Honeybee, *Apis mellifera*. *Archive of Insect Biochemistry and Physiology*, 3: 415-421.
- Feldlaufer, M.F.; Svoboda, J.A. & Herbert Jr, E.W., 1986b. - Makisterone A and 24-Methylenecholesterol from the ovaries of the honeybee, *Apis mellifera*. *Experientia*, 42: 200-201.
- Free, J.B., 1967. - Factors determining the collection of pollen by honeybee foragers. *Animal Behaviour*, 15 (1): 134-144.
- Free, J.B., 1978. - Insects and crop pollination. Ministry of agriculture, fisheries and food: 1-5.
- Free, J.B., 1987. - *Pheromones of social bees*, Chapman & Hall London, University Press, Cambridge, 218 pp.
- Free, J.B. & Butler, C.G., 1959. - *Bumblebees*, Collins, London.
- Frisch, von K., 1955. - *Vie et moeurs des abeilles*. Albin Michel, Paris, 255 pp.
- Heinrich, B., 1979. - *Bumblebee economics*. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts, 245 pp.
- Heinrich, B.; Mudge, P.R. & Deringis, P.G., 1977. - Laboratory analysis of flower constancy in foraging bumblebees: *Bombus ternarius* and *B. terricola*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 2: 247-265.
- Herbert Jr, E.W.; Svoboda, J.A.; Thompson, M.J. & Shimanuki, H., 1980. - Sterol utilization in honeybees fed a synthetic on brood rearing. *Journal of Insect Physiology*, 26: 287-289.
- Ikekawa, N.; Morisaki, M. & Fujimoto, Y., 1993. - Sterol metabolism in insects: dealkylation of pytosterol to cholesterol. *Acc. Chem. Res.*, 26 (4): 139-146.
- Lognay, G.; Boenke, P.; Wagstaffe, P.-J. & Severin, M., 1992. - Edible fats and oils reference materials for sterol analysis with particular attention to cholesterol. Part I. Investigation of some analytical aspects by experienced laboratories. *The Analyst*, 117 (7): 1093-1097.
- Louveaux, J., 1984 - L'abeille domestique dans ses relations avec les plantes cultivées. in Pesson, P., Louveaux, J. *Pollinisation et productions végétales*, I.N.R.A., Paris, 663 pp.
- Navez, B. & Budin, P., 1990. - Pollinisation des tomates sous serre en Provence; utilisation des bourdons; bilan d'une première année. *P.H.M.-Revue horticole*, 310: 29-32.

- Pouvreau, A., 1984. - Contrôle de la pollinisation des cultures sous serre. *in* Pesson, P.; Louveaux, J., 1984. - *Pollinisation et productions végétales*, I.N.R.A., Paris, 663 pp.
- Proctor, M. & Yeo, P., 1973. - *The pollination of flowers*. The new Naturalist, Collins, London, 418 pp.
- Rasmont, P., 1984. - *Bombus terrestris* dans le massif des Maures, une génération d'hiver?. *Bulletin et Annales de la Société royale belge d'Entomologie*, 120: 359-363.
- Rasmont, P., 1988. - *Monographie écologique et zoogéographique des Bourdons de France et de Belgique (Hymenoptera, Apidae, Bombinae)*. Thèse de doctorat, Faculté des Sciences Agronomiques de Gembloux, 309 + LXII pp.
- Rasmont, P.; Regali, A.; Lognay, G.; Marot, C.; Viville, P.; Baudart, E. & Falmagne, P., 1994. - Bumblebee foraging: is there a resource partitioning with *Apis mellifera* L. based on pollen sterolic fraction ? *Les Insectes sociaux*. XII^{ème} Congrès de l'UIEIS. Paris, Sorbonne.
- Rasmont, P.; Regali, A.; Lognay, G.; Baudart, E.; Marlier, M.; Delcarte, E.; Viville, P.; Marot, C.; Falmagne, P. & Verhaeghe, J.-C., en préparation. - The pollen and nectar of *Arbutus unedo* L., a typical bumblebee tree, compared with honeybee pollens: a contribution to the dietetics of *Bombus terrestris* (L.) (Hymenoptera, Apidae), 19 dact. pp.
- Real, L.A., 1991. - Animal choice behaviour and the evolution of cognitive architecture.
- Regali, A., 1993. - Besoins essentiels de *Bombus terrestris* auct. (Hymenoptera, Apidae) en stérols. Rapport d'activité I.R.S.I.A., non publié.
- Regali, A. & Rasmont, P., en préparation. - Effet de la supplémentation en b-sitostérol, cholestérol ou stigmastérol sur la quantité de nourriture ingérée par des colonies de *Bombus terrestris* (L.) (Hymenoptera, Apidae).
- Svoboda, J.A. & Feldlaufer, M.F., 1991. - Neutral sterol metabolism in insects. *Lipids*, 26(8): 614-618.
- Svoboda, J.A.; Herbert Jr, E.W. & Thompson, M.J., 1983. - Definitive evidence for lack of phytosterol dealkylation in honeybees. *Experientia*, 39: 1120-1121.
- Svoboda, J.A.; Herbert Jr, E.W.; Thompson, M.J. & Shimanuki, H., 1981. - The fate of radiolabeled C28 and C29 phytosterols in the honeybee. *Journal of Insect Physiology*, 27 (3): 183-188.
- Svoboda, J.A.; Thompson, M.J.; Herbert Jr, E.W. & Shimanuki, H., 1980. - Sterol utilization in honeybees fed a synthetic diet: analysis of prepupal sterols. *Journal of Insect Physiology*, 26: 291-294.

Viville, P., 1992 - *Contribution à la connaissance de la diète de Bombus terrestris auct.: analyse du pollen d'Arbutus unedo L.* Mémoire de fin d'études, Université de Mons-Hainaut, 137 pp.

Waddington, K.B., 1987. - Nutritional ecology of bees, 393-419 in Slansky Jr, F.; Rodriguez, J.G. - *Nutritional Ecology of Insects, Mites, Spiders and related Invertebrates*, Wiley-Interscience Publication, New-York.

Zimmerman, M., 1982. - Optimal foraging: random movement by pollen collecting bumblebees. *Oecologia*, 53: 394-398.



Annexes

Squelette de base des stéroïdes

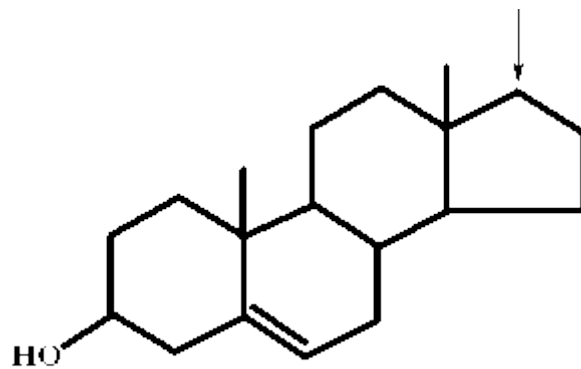


Figure 1: squelette de base des stéroïdes (la flèche indique le carbone 17 sur lequel vient se greffer la partie spécifique de chaque stérol)

Schéma structurel de désalkylation des phytostérols

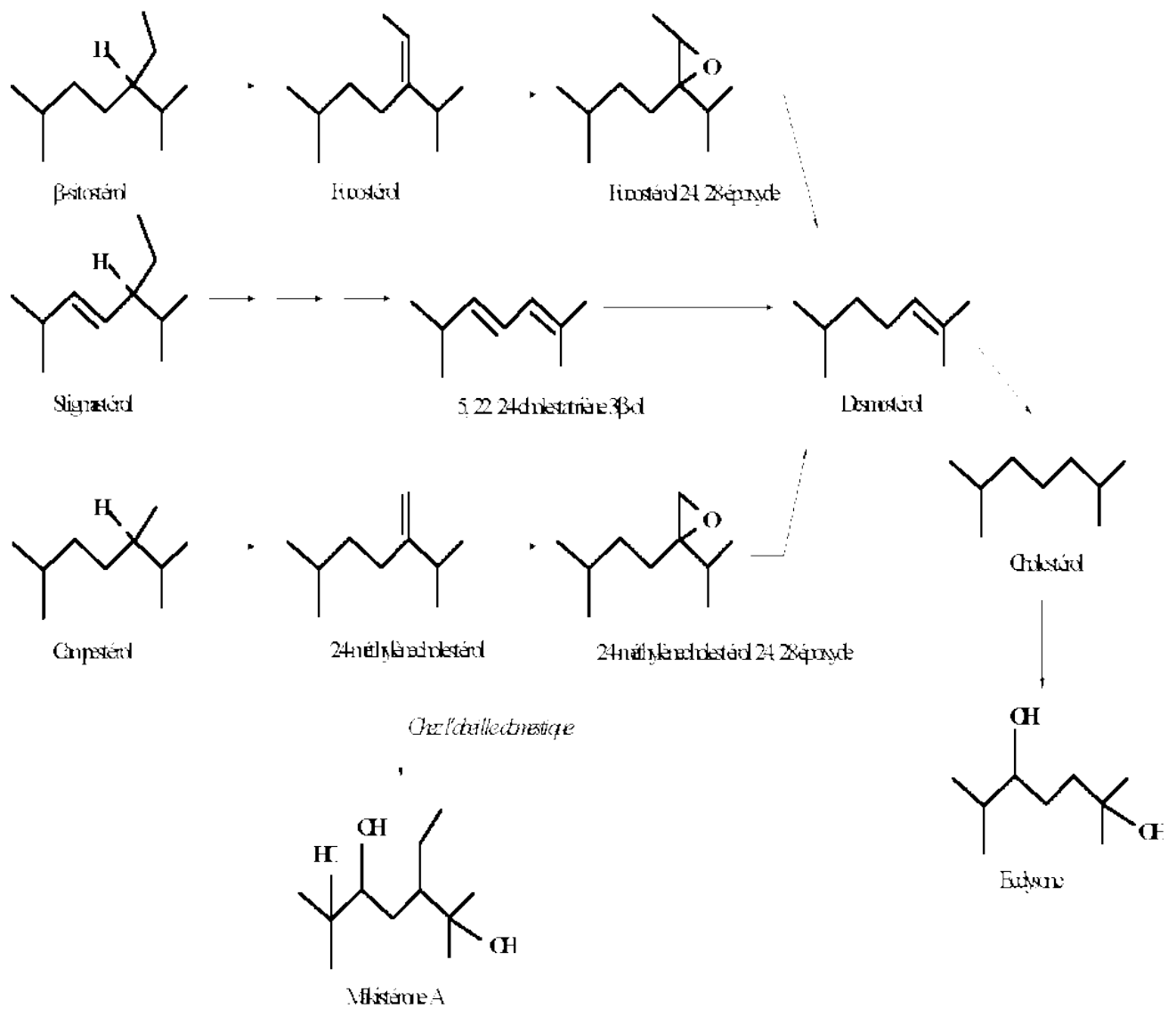
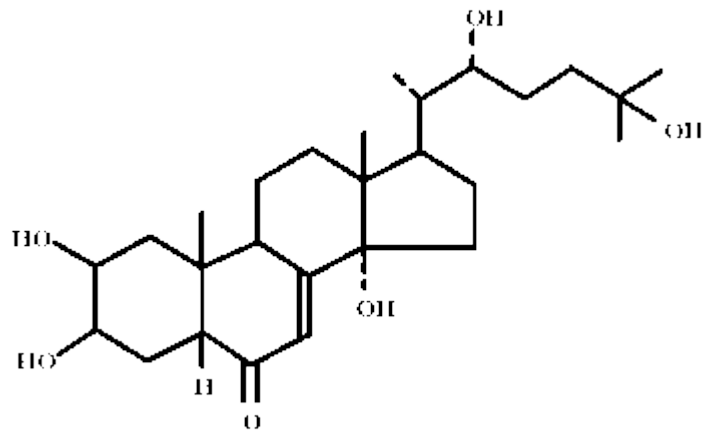
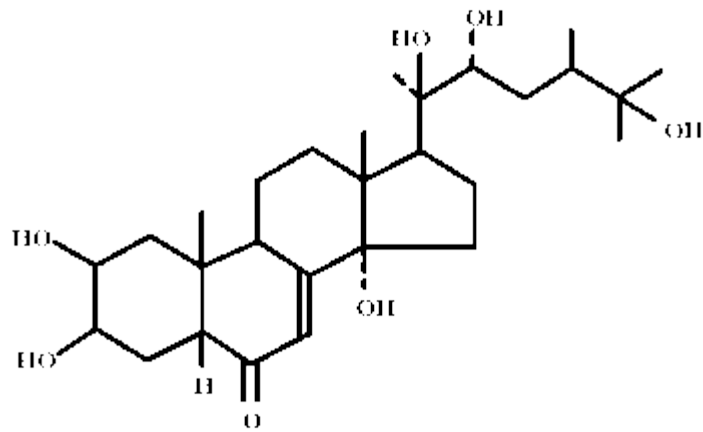


Figure 2: schéma structurel de désalkylation du Sitostérol, du Campesterol et du Stigmasterol en cholestérol (schéma original, d'après Svoboda *et al*, 1991 et Ikekawa *et al*, 1993)

Schémas de structure des ecdystéroïdes



Ecdysone



Makistéron A

Figure 3: Schéma de structure de l'ecdysone et du makistéron A (d'après Svoboda, 1991)