

## **La nutrition**

La disponibilité des nutriments dans l'environnement est un facteur clé de la croissance et de la survie des organismes. En effet, pour faire face aux dépenses engendrées par son métabolisme de base et sa thermorégulation, pour pouvoir se développer, et permettre les interactions entre tous les systèmes qui le constituent, tout organisme supérieur (métazoaires) a besoin d'énergie qu'il va puiser dans les nutriments. Ces derniers sont généralement classés en deux catégories, les macronutriments (glucides, protides, lipides) et les micronutriments (vitamines et minéraux). Leur digestion permet de transformer les macromolécules telles que les sucres complexes, les protéines, et les graisses en molécules plus simples, que sont les sucres simples, les acides aminés et les acides gras, respectivement.

Chaque nutriment assure une fonction spécifique qui le rend indispensable notamment à l'équilibre énergétique de l'individu, les besoins de ce dernier variant avec l'âge, son stade de développement, ou bien son statut reproductif.

Les sucres représentent la principale source énergétique des animaux supérieurs. Ils permettent d'alimenter tous les organes responsables des fonctions vitales (cerveau, muscles, etc...). Seule source d'azote, les protéines sont indispensables à la vie. Elles contiennent principalement du carbone, de l'hydrogène, de l'oxygène et de l'azote. Elles sont constituées par des combinaisons ou des duplications d'acides aminés dont la place respective de chacun détermine la forme et la fonction particulière de chaque protéine. Parmi ces acides aminés, il existe ceux que l'organisme n'est pas capable de synthétiser, appelés « acides aminés essentiels », et qui doivent nécessairement être apportés par l'alimentation. Les nutriments et notamment les protéines servent à construire et à renouveler les structures cellulaires de l'individu. Elles contrôlent notamment l'expression des gènes, et la synthèse d'enzymes et d'hormones qui participent à différentes voies métaboliques. C'est aussi grâce à elles que l'individu peut se défendre contre les divers agents infectieux. Les acides gras sont des composants nécessaires des phospholipides dont dépendent l'intégrité de la structure et la fonction de presque toutes les membranes cellulaires internes et externes. Ils servent également à la synthèse des cires cuticulaires, de nombreuses phéromones et de composés de défense (Howard et Blomquist, 2005).

A l'inverse des macronutriments, les micronutriments représentent les nutriments nécessaires en petites quantités, voir traces, pour l'organisme. On recense notamment les vitamines, les sels minéraux, les oligoéléments et les stérols. Leurs rôles sont très variés (constitution des tissus,

transferts de molécules, synthèse d'enzymes ou d'hormones, etc...) mais leurs présences sont indispensables à la bonne assimilation, transformation et utilisation des macronutriments.

Enfin, l'eau n'est pas considérée comme un nutriment mais doit être bien évidemment soulignée comme étant essentielle. En effet, elle participe à la thermorégulation, au système de transport et d'excrétion, aux réactions chimiques (glycolyse nécessaire à la production d'ATP (adénosine triphosphate), énergie servant notamment à la contraction musculaire), à la composition de tous les tissus, à la lubrification des articulations et des organes du système digestif.

### **L'abeille domestique comme modèle d'étude**

L'abeille domestique, *Apis mellifera L.*, est, de par de nombreux aspects, un modèle très intéressant pour étudier l'influence de la nutrition sur la santé et la survie des individus. Cette espèce appartient à la catégorie des insectes dits « sociaux ». Une société est un ensemble d'individus de la même espèce, vivant dans un même lieu, organisés en coopérant pour la division du travail, dans le but de survivre (Wilson, 1971). *A. mellifera L.* fait partie des insectes qui présentent les plus hauts degrés de socialité, les insectes « eusociaux ». Les individus de la même colonie coopèrent dans l'élevage des jeunes mais ne prennent pas tous part aux tâches reproductrices, des individus stériles (les ouvrières) travaillant au bénéfice d'un individu reproducteur (la reine) ; en outre deux générations d'individus peuvent se chevaucher et sont capables de contribuer ensemble au travail de la colonie (Michener, 1969). La récolte des réserves alimentaires a lieu non seulement pour les propres besoins de l'individu, mais aussi pour l'ensemble de la colonie, créant ainsi une forte dépendance de la santé et de la survie de la colonie aux ressources alimentaires. Or, l'abeille se nourrit presque exclusivement de nectar et de pollen qu'elle peut trouver dans les fleurs de plantes mellifères (plantes qui représentent un intérêt pour l'abeille). L'abeille est spécialisée à la récolte de ce type de ressources par ses caractéristiques morphologiques : un proboscis (langue) (Figure 1A) dont la pilosité et l'extrémité en forme de cuillère permettent de recueillir du nectar présent dans les nectaires des fleurs ; un jabot, petite poche formée par un renflement de l'œsophage, servant de réservoir pour le nectar, et laissant à l'abeille la possibilité de régurgiter afin de composer les réserves de la colonie ; et des pattes (Figure 1B et C) permettant la récupération des grains de pollen et le stockage sous forme de pelotes dans des corbeilles à pollen.

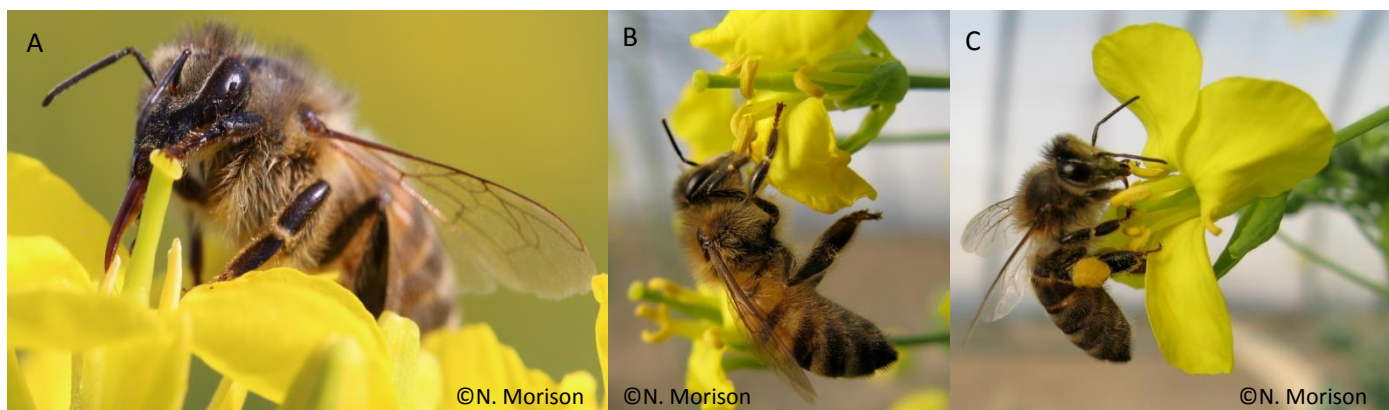


Figure 1 : *Apis mellifera* en train de récolter, du nectar grâce à son proboscis en A, et du pollen sur ses pattes en B et C, sur des fleurs de colza sous serre.

Mais l'abeille est aussi spécialisée par ses capacités à digérer le pollen efficacement et à assimiler les nutriments de manière optimale (Schmidt et Buchman, 1985).

Toutefois, l'accès aux ressources trophiques est variable dans le temps et dans l'espace et l'abeille domestique peut butiner à de grandes distances de la ruche. De plus, les plantes mellifères dont l'abeille dispose varient en fonction de la localisation du rucher et de la saison. Beekman et Ratnieks (2000) ont déterminé grâce à l'étude de la danse des butineuses qui retournaient à la ruche que certaines butineuses parcouraient 6 km, voire plus de 9 km pour récolter du pollen. Cependant, dans la majorité des situations, les butineuses restent à une distance de 5 km autour de la ruche (Beekman et Ratnieks, 2000 ; Steffan-Dewenter et Kuhn, 2003 ; Odoux *et al.*, 2009). La structure du paysage a une incidence sur l'abondance, la taille, la qualité et la diversité des ressources florales disponibles pour une colonie d'abeilles. Un paysage complexe avec une grande diversité d'habitats, dont des éléments fixes (tels que les arbres) semi-naturels en forte proportion, doit assurer un approvisionnement plus continu en nectar et pollen que les paysages structurellement simples, moins riches en éléments fixes (Beekman et Ratnieks, 2000; Steffan-Dewenter *et al.*, 2002).

Alors que l'abeille est inféodée aux ressources florales, de grandes variations dans la disponibilité, en termes de quantité, qualité ou diversité des ressources peuvent avoir de fortes conséquences sur l'organisation, le développement et la survie des abeilles. Or les colonies d'abeilles domestiques connaissent aujourd'hui une surmortalité et de fréquents affaiblissements. En France, ce syndrome se caractérise par des mortalités hivernales qui dépassent largement les 10 % de mortalités considérés comme acceptables (Holzmann *et al.*, 2011). Il y a aussi des problèmes concernant les reines, qui survivraient deux fois moins

longtemps qu'auparavant d'après les apiculteurs. Des pertes chez les colonies d'abeilles domestiques sont aussi observées aux Etats-Unis, sous le nom de « Colony Collapse Disorder ». Ce syndrome est caractérisé par une dépopulation de la ruche, avec la présence d'une reine, de couvain (oeufs, laves, nymphes) et de réserves alimentaires, mais absence de la population d'ouvrières correspondant à une telle colonie. L'hypothèse d'un facteur unique responsable de ces syndromes n'a pas pu être démontrée par la communauté scientifique. Les hypothèses actuelles reposent sur l'effet conjugué de stress biotiques et abiotiques, qui interagiraient ensemble (Van Engelsdorp *et al.*, 2009). L'hypothèse d'une nutrition de mauvaise qualité affectant la résistance des abeilles aux différents stress est également mise en avant (Van Engelsdorp *et al.*, 2008 ; Naug, 2009). En effet, la diminution de la biodiversité, liée notamment à la monoculture, a pour conséquence une réduction du nombre d'espèces de plantes disponibles et une irrégularité dans le temps des ressources présentes dans le milieu. Un déficit en terme d'abondance, de diversité et / ou de qualité des apports polliniques, peuvent affecter l'intégrité des fonctions vitales des colonies d'abeilles, se répercutant en cascade sur le fonctionnement des colonies.

### **III- L'alimentation de l'abeille domestique**

#### **A- Le nectar / le miel, une source d'énergie**

L'abeille adulte se nourrit de miel. Les besoins pour une colonie sont estimés à 80 kg par an (in Winston, 1987). Une abeille adulte a besoin au minimum de 4 mg de sucres par jour pour survivre (Barker et Lehner, 1974), mais l'optimum pour fournir tout l'ATP nécessaire aux tâches journalières est de 11 mg de matière sèche de sucre par jour (Huang *et al.*, 1998). C'est par l'apport de miel que l'abeille comble ses besoins en carbohydrates pour le vol ou toute autre tâche nécessaire à la vie de la colonie (Figure 3). De même, Mao *et al.* (2013) ont déterminé que le miel pouvait contenir certaines substances telles que l'acide p-coumarique qui augmente l'expression de gènes de l'immunité et de détoxification. L'ouvrière butineuse récolte le nectar en fonction de sa richesse en sucres, son abondance, sa facilité d'accès, et la distance à parcourir pour le prélever. En laboratoire, les abeilles préfèrent les nectars contenant du saccharose, et dont les concentrations en sucres se situent entre 15 et 50 % (Waller, 1972), mais elles évitent ceux trop visqueux, difficiles à collecter. Le nectar des fleurs contient de 5 à 80 % de sucres, principalement du saccharose, glucose, et fructose (in Winston, 1987). L' $\alpha$ -méthyl glucoside, le maltose, le tréhalose, et le mélézitose ont aussi une valeur nutritionnelle pour l'abeille, tandis

que les autres sucres n'apportent rien ou peu. Certains sucres comme le mannose, le galactose, ou le rhamnose sont connus pour être toxiques pour l'abeille (Von Friesch, 1934). Cela est une conséquence d'apports excédents la dégradation des sucres par l'organisme, qui va provoquer une sorte « d'overdose » de sucres ou de ses métabolites qui s'accumulent dans certains organes (Barker, 1977).

Le nectar peut être consommé directement mais il est plus souvent concentré sous forme de miel (Maurizio, 1975). On distingue le nectar, produit par la plante, et le miel, élaboré par les abeilles à partir de celui-ci. Pour transformer le nectar en miel, les abeilles le placent dans des cellules et font évaporer l'eau qu'il contient par absorption-régurgitation puis ventilation, jusqu'à atteindre des quantités de moins de 18 % d'eau, afin d'éviter le développement de levures. Mais cette transformation est aussi dûe à l'action des enzymes (invertases, diastases, glucose oxydases) ajoutées au nectar par l'ouvrière lorsqu'elle l'ingurgite pour le transporter (Simpson, 1960). Les sucres complexes des nectars sont ainsi clivés en sucres simples, pour une meilleure assimilation et conservation. Les substances azotées formées par les acides aminés libres et les protéines sont très peu représentées dans le miel (0,26 %), tout comme la proportion de lipides, de matières minérales (environ 0,1 %) ou de vitamines, qui proviennent le plus souvent de grains de pollens contenus dans le miel et non du nectar lui-même.

## B- Le pollen, élément indispensable au développement de l'abeille

### *La composition du pollen*

Le pollen a une composition variable, selon la plante dont il provient. Il contient généralement entre 6 et 28 % de protéines (inWinston, 1987) (ce chiffre pouvant aller de 2,5 à 61 % d'après Roulston *et al.* (2000)). Il contient entre 1 et 20 % de lipides selon qu'il provient de plantes anémophiles (dont le pollen est transporté par le vent), qui sont pauvres en lipides, ou de plantes entomophiles (dont le pollen est transporté par les insectes pollinisateurs), qui sont quant à elles plus riches, bien que leur composition en lipides ne dépasse que rarement les 5 % de la masse totale. Le pollen présente aussi des glucides, formés essentiellement de sucres (glucose, fructose, en quantité de l'ordre de 15 %) mais provenant en réalité du nectar utilisé par l'abeille pour façonner les pelotes de pollen. La plupart des grains de pollens contiennent moins de 0,5 % de stérols, les plus importants pour l'abeille semblant être le cholestérol et le 24-méthylène cholestérol (Svoboda *et al.*, 1980). Puis on retrouve des vitamines, notamment des vitamines des groupes B (indispensables pour la majorité des insectes d'après Dadd (1973)) et C, et des

minéraux. De Groot (1953) a répertorié l'arginine, l'histidine, la lysine, le tryptophane, la phénylalanine, la méthionine, la thréonine, la leucine, l'isoleucine, et la valine comme les acides aminés essentiels pour le développement et la croissance de l'abeille. Ils sont présents dans la majorité des pollens en quantité variable.

Quand le pollen est ramené à la ruche sous forme de pelotes (Figure 2A), les abeilles y ajoutent grâce à leur « salive », des micro-organismes, des genres *Pseudomonas*, *Lactobacillus* et *Saccharomyces*, pour éviter sa germination tout en prévenant des attaques bactériennes (Pain et Maugenet, 1966). Lorsque le pollen est complètement fermenté, il est appelé « pain d'abeille » (Figure 2B). Il peut ainsi être digéré plus facilement par l'abeille, ou être stocké pendant des mois.

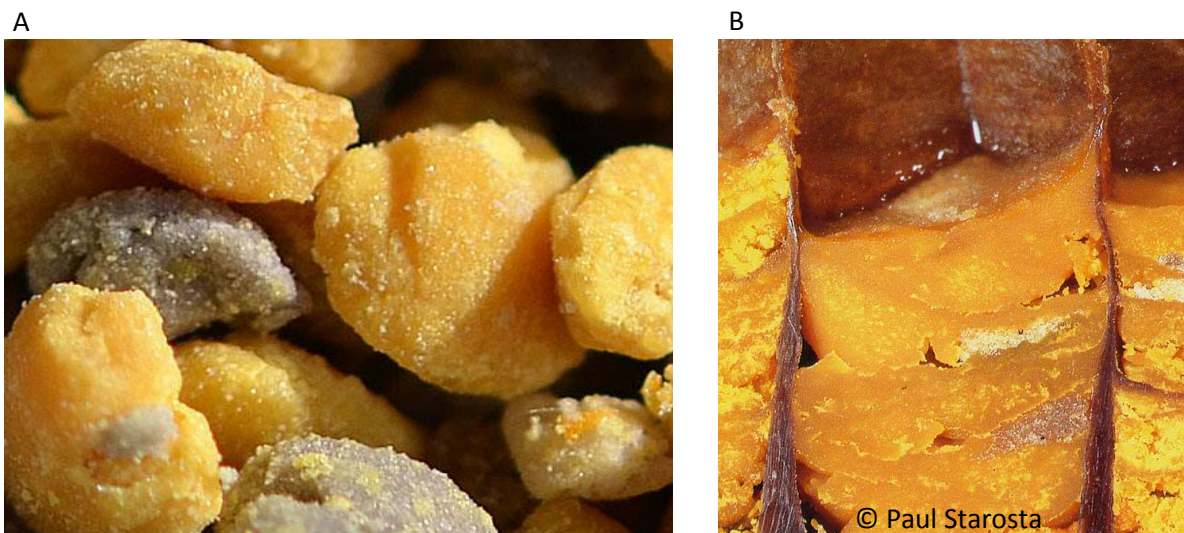


Figure 2: Pollen sous forme de pelotes en A, ou de pain d'abeille en B.

### *Les besoins en pollen de l'abeille domestique*

Le pollen, principale source de protéines, est indispensable à l'abeille adulte (Figure 3). Les besoins d'une colonie sont estimés entre 20 et 40 kg de pollen par an, tandis que la consommation individuelle est estimée à 3,4 - 4,3 mg de pollen par jour (Louveaux, 1954 ; Crailsheim *et al.*, 1992). Cependant, la consommation de pollen varie selon les colonies considérées en fonction de leur génotype (Free, 1980 ; Kulincevic et Rothenbuhler, 1989). Ce sont les abeilles dites « nourrices » qui consomment le plus de pollen (Pain et Maugenet, 1966 ;

Crailsheim *et al.*, 1992). En effet, le rôle de nourrices incombe aux plus jeunes ouvrières présentes dans la ruche. Or, ce sont les jeunes abeilles qui consomment du pollen, et ce pendant une dizaine de jours après leur naissance (Hagedorn et Moeller, 1967). Cette consommation plus importante chez les jeunes abeilles se justifie de plusieurs façons : le pollen permet à l'abeille d'achever son développement, d'assurer la croissance des glandes hypopharyngiennes et la constitution de réserves lipidiques, augmentant les taux de *vitellogénine*, hormone produite dans les corps gras des abeilles.

Les nourrices sont chargées de nourrir et élever le couvain. Cependant, moins de 5 % des protéines apportées à ce dernier proviennent du pollen (Barbendreier *et al.*, 2004). Les 95 % restants, ainsi que la partie lipidique et les vitamines de la nourriture donnée aux larves, proviennent de sécrétions des glandes hypopharyngiennes des nourrices, appelées « gelée royale » (Patel *et al.*, 1960). Les larves reçoivent ainsi une alimentation mixte, composée de pollen, de miel et de gelée royale. La composition est différente en fonction de la caste d'appartenance de la larve. Pour élever une larve qui deviendra une ouvrière, la nourrice fournira de la gelée royale en quantité plus faible et pendant une durée plus limitée que pour une larve qui deviendra une reine. De même, l'alimentation de la reine se compose d'un mélange de miel et de gelée royale tout au long de sa vie. Cette nourriture lui est fournie par les abeilles dites « courtisanes », qui constituent un petit regroupement d'abeilles qui satisfont ses besoins. Ce partage de nourriture est appelé « trophallaxie ».

#### *Deux types de ressources florales disponibles pour l'abeille*

Le pollen provient de deux types de ressources florales, les fleurs de plantes sauvages et les fleurs de plantes cultivées. Odoux *et al.*, (2012) ont recensé les espèces de pollens récoltés par les colonies localisées sur une exploitation agricole dans l'ouest de la France. La contribution des différents habitats pour les pollens récoltés était de 62 % pour les grandes cultures, 32 % pour les zones boisées, 4 % provenant des prairies, et 1 % des jardins. Les abeilles de ce rucher ont donc prélevé du pollen de fleurs sauvages malgré la prédominance des pollens de cultures. De même, Requier (2013) a remarqué que les abeilles récoltaient des pollens d'espèces variées, et ce même durant les périodes de floraison des cultures massives. Ces résultats sont en accord avec l'étude de Rollin *et al.* (2013) qui affirme que les abeilles domestiques, si elles sont le plus souvent observées sur des fleurs de cultures, sont tout de même présentes sur les fleurs sauvages qui poussent aux alentours.

Toutefois, la disponibilité et la valeur nutritionnelle de ces deux types de ressources varient dans le temps et dans l'espace, notamment avec l'intensification des paysages agricoles. En effet, l'agriculture intensive et la simplification des paysages qui l'accompagne réduisent la qualité de l'habitat à une échelle locale, tant d'un point de vue de la diversité que de la disponibilité des différentes ressources (Tscharrntke *et al.*, 2005) (Figure 4). Cela a des conséquences néfastes sur la survie des abeilles (Biesmeijer *et al.*, 2006 ; Potts *et al.*, 2010 ; Garibaldi *et al.*, 2011).

### *Les effets du manque de pollen sur l'abeille domestique*

D'après Mattila et Otis (2006), un déficit en pollen durant le stade larvaire peut influencer le comportement des abeilles nourrices qui en découleront. Mais ces analyses en plein champ ne permettent pas de transformer ces résultats en une généralité tant l'on observe de fluctuations d'une année à l'autre, particulièrement en raison de la variabilité environnementale. A l'inverse, les effets d'un manque de pollen sur les adultes ont fait l'objet d'un plus grand nombre d'études. Maurizio (1950) a démontré que l'apport de pollen influence la taille des glandes hypopharyngiennes, la quantité de corps gras, et la survie. De même, Haydack *et al.* (1970) observent une augmentation de la mortalité chez les abeilles qui ne reçoivent pas de pollen. De nombreuses études ont montré qu'en absence totale de pollen les abeilles sont plus sensibles aux pesticides (Wahl et Ulm, 1983), mais également à divers parasites et pathogènes, tels que les microsporidies (Rinderer et Elliott, 1977), les bactéries (Rinderer *et al.*, 1974), les virus (Degrandi-Hoffman *et al.*, 2010), ou encore l'acarien *Varroa destructor* (Janmaat et Winston, 2000).

En outre d'après Alaux *et al.* (2011), la présence de pollen permet d'augmenter l'expression des gènes de l'immunité. Il cite entre autres le gène codant pour la *vitellogénine*, très important et polyvalent chez l'abeille, impliqué aussi bien dans les fonctions immunitaires de cette dernière (Amdam *et al.*, 2004a et 2005, Seehuus *et al.*, 2006), que dans l'accumulation des réserves lipidiques et la survie des individus, mais également dans l'organisation sociale de la colonie, (Amdam *et al.*, 2002 et 2004b ; Corona *et al.*, 2007 ; Nelson *et al.*, 2007). Les résultats de Wang *et al.* (2014) vont dans le même sens puisque l'étude de différents gènes, dont celui codant pour la *vitellogénine* démontre un plus fort niveau d'expression pour ce gène et une



meilleure survie des abeilles lorsque ces dernières consomment du pollen. Pour finir, Corby-Harris *et al.* (2014) ont observé une influence du pollen sur l'expression de certains gènes impliqués dans la physiologie et le développement des nourrices.

Ces modifications observées au niveau individuel peuvent avoir des conséquences au niveau de toute la colonie. Des études sur les effets du manque de pollen sur l'organisation, le développement, et la survie des colonies ont été menées. Il a été démontré qu'un manque de pollen peut influencer l'organisation de la colonie car les abeilles nourrices deviennent alors butineuses plus rapidement (Schulz *et al.*, 1998) et le couvain sera élevé moins longtemps (Mattila et Otis, 2007). Un défaut d'apport en pollen peut entraîner un développement moindre du couvain : on observe d'abord des larves sous-alimentées et mal operculées, puis si la carence se poursuit, les nourrices vont d'abord privilégier l'élevage des larves les plus âgées qui demandent moins d'apport protéique et de soins, jusqu'à enfin arrêter totalement l'élevage. Un phénomène de cannibalisme peut être observé sur les œufs et les larves les plus jeunes dans des cas extrêmes de manque de protéines (Newton et Michl, 1974 ; Blaschon *et al.*, 1999 ; Schmickl et Crailsheim, 2001 et 2002). Ainsi, Eischen et Graham (2008) mettent en évidence qu'une colonie qui reçoit des apports en pollen sera plus peuplée qu'une colonie carencée.

#### *Les pollens ont des valeurs nutritionnelles différentes de par leur composition*

Cependant en conditions naturelles, les abeilles se retrouvent rarement en carence totale de pollen. Elles sont le plus souvent confrontées à de fortes variations spatiales et temporelles dans la quantité, la qualité et la diversité des ressources polliniques disponibles (Decourtye *et al.*, 2010). Une abeille butineuse récolte le pollen en fonction de sa distance par rapport à la ruche, de son abondance, de sa facilité de récolte et de son goût, ou teneur en phagostimulants (éléments naturel qui induit une envie de s'alimenter), de son odeur, de sa couleur, mais de manière intéressante, pas de sa valeur nutritionnelle (Levin et Bohart, 1955 ; Stanley et Linskens, 1974 ; Schmidt, 1982 ; Jay, 1986 ; Dobson et Bergstrom, 2000 ; Pernal et Currie, 2002 ; Diaz *et al.*, 2013). Schmidt *et al.* (1987 et 1995) et Knox *et al.* (1971) observent des différences sur la longévité des abeilles en fonction du type de pollen consommé. Il y a donc différentes valeurs nutritionnelles en fonction du pollen consommé, cela ayant une répercussion sur la santé de l'abeille. Cette valeur est conférée par la composition chimique du pollen (taux de protéines, lipides, acides aminés, vitamines, etc...). Toutefois, la plupart des études qui testent les effets de la qualité du pollen sur l'abeille utilisent le taux de protéines comme variable

indicative. D'après Schmidt *et al.* (1987), les deux critères les plus importants pour augmenter la longévité des abeilles sont la quantité de pollen et le taux de protéines qu'il contient. Pour Roulston et Cane (2000), la qualité d'un pollen est déterminée par son taux de protéines. Kleinschmidt et Kondos (1976) concluent qu'un pollen avec moins de 20 % de protéines ne peut pas satisfaire les besoins d'une colonie pour lui permettre un élevage du couvain optimal, comparé à un pollen comportant plus de 25 % de protéines. Somerville et Nicol (2006) vont plus loin en définissant trois catégories de pollen en fonction de leur qualité : ceux de faible qualité comportant moins de 20 % de protéines, les pollens de bonne qualité comportant entre 20 et 25 % de protéines, et les excellents composés de plus de 25 % de protéines. Haydock (1970) et Roulston et Cane (2002) jugent que la quantité de protéines d'un pollen est le facteur le plus important permettant d'augmenter la survie des larves et des adultes. Pernal et Currie (2000) et Degrandi-Hoffman *et al.* (2010) observent des glandes hypopharyngiennes plus développées pour de plus fort taux de protéines ou avec des apports de suppléments protéiques. Une déficience en certains nutriments tels que les protéines peut provoquer une diminution de la réponse immunitaire chez les insectes, ainsi qu'une augmentation de leur sensibilité aux maladies (Field *et al.*, 2002 ; Li *et al.*, 2007). L'apport de nutriments va donc agir sur les systèmes immunitaires et de détoxification. Cela paraît logique si on considère les besoins importants de ces systèmes en énergie et en acides aminés, qui vont notamment permettre la division des cellules et la synthèse de protéines. Outre les protéines, un autre composant du pollen est parfois utilisé comme facteur de qualité, la composition en acides aminés. Pour McCaughey *et al.* (1980), Loper et Cohen (1987), et Cook *et al.* (2003), la valeur nutritionnelle d'un pollen dépend de sa composition en acides aminés essentiels, répertoriés par De Groot (1953).

Au niveau de la colonie, les effets de la qualité du pollen sont beaucoup moins étudiés car les expérimentations sont beaucoup plus difficiles à mener, du fait de l'action des facteurs extérieurs. Cependant, Campana et Moeller (1977) ont observé que le type de pollen consommé influence le comportement d'élevage du couvain par les nourrices (taux de couvain operculé).

### *Les abeilles consomment préférentiellement des mélanges de pollen*

Schmidt (1984) a observé que les abeilles préféraient consommer un pollen polyfloral que monofloral, cela étant renforcé par leur comportement polylectique. En effet, les abeilles collectent et consomment une grande variété de pollens (Louveaux, 1959 ; Dimou et Thrasylvoulou, 2009). Somerville et Nicol (2006) ont analysé le taux de protéines et la

composition en acides aminés pour 62 types de pollens différents, et ils observent que si les pollens sont consommés seuls, la plupart d'entre eux ne permettent pas de satisfaire les besoins des abeilles. La diversité dans la consommation des pollens apparaît comme un facteur important. Ces résultats sont en accord avec ceux observés par Girard *et al.* (2012) qui observent que certaines cultures de mauvaise qualité, ou des cultures ayant à proximité une faible qualité et/ou diversité de ressources polliniques ne permettent pas aux abeilles d'élever le couvain de manière optimale en plein champs. En laboratoire, Tasei et Aupinel (2008) notent des différences sur le développement des larves de *Bombus terrestris*, en fonction de la qualité du pollen consommé (taux de protéines) et de sa diversité. Les larves nourries avec du pollen contenant de plus forts taux de protéines, ou avec le mélange sont celles qui sont les plus grosses (poids). Par ailleurs, Alaux *et al.* (2010a) ont trouvé une augmentation de « l'immunité sociale » (représentée ici par l'activité de l'enzyme glucose oxydase) lorsque l'abeille était nourrie avec un mélange de pollens plutôt qu'avec un pollen monofloral. De même Foley *et al.* (2012) observent que des larves nourries avec du pollen de pissenlit ou avec un mélange de pollens ont une meilleure résistance au champignon parasite *Aspergillus*. Il faut toutefois nuancer l'importance de la diversité des pollens consommés, la qualité demeurant un paramètre à considérer. En effet, en se basant sur le développement des larves, Singh et Singh (1996) suggèrent qu'il est plus intéressant pour l'abeille de consommer un pollen de bonne qualité (taux de lipides et composition en acides aminés) tel que la moutarde, plutôt qu'un mélange de pollens, mais de qualité inférieur.

Cependant et pour finir, peu d'expérimentations ont finalement été réalisées sur les effets de la quantité, la diversité, ou la qualité en tenant compte de la valeur nutritionnelle totale, sur la santé de l'abeille au niveau physiologique et biomoléculaire, et sur la résistance au stresser *N. ceranae*.

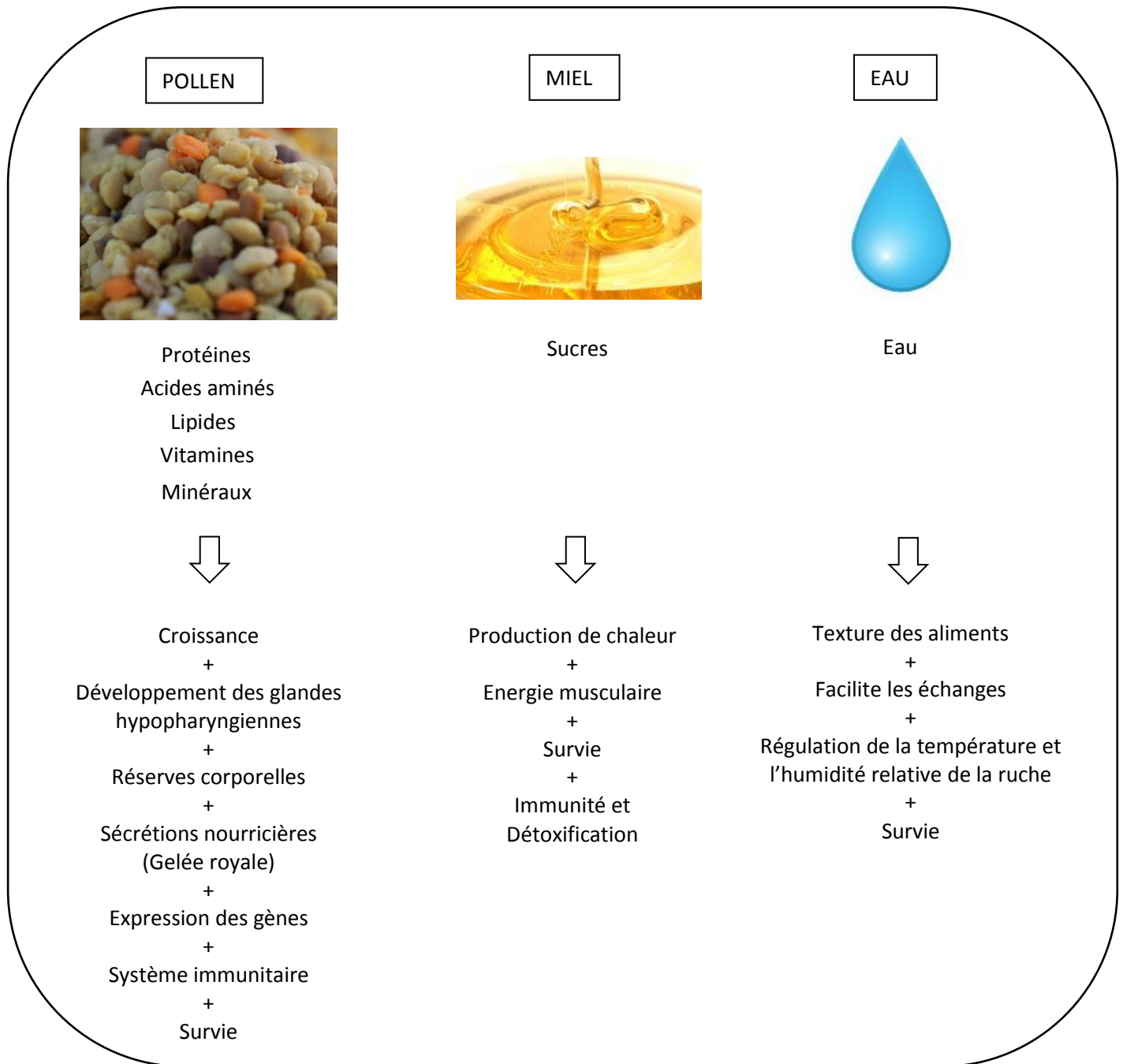
### *Les besoins de l'abeille en eau*

L'abeille est composée d'environ 70% en poids d'eau, elle ne peut donc pas survivre plus de quelques jours sans en consommer (Herbert, 1992) (Figure 3). De plus, elle l'utilise pour gérer les textures des miels, de la gelée royale et des aliments qu'elle consomme, et pour faciliter les échanges. La gelée royale servant à nourrir les larves peut contenir jusqu'à 66% d'eau (Herbert, 1992). L'eau est également utilisée pour la thermorégulation dans la ruche. Les abeilles déposent de l'eau sur les cadres afin de modifier la température et l'humidité relative de la

ruche. L'abeille ne boit presque pas en dessous de 20°C, peu de 25 à 30°C (0,4 mm<sup>3</sup>), et beaucoup au-dessus de 30°C (9,6 mm<sup>3</sup> à 35°C, et 19,7 mm<sup>3</sup> à 40°C) (in Chauvin, 1968). De même, plus la taille de la colonie est importante, moins les abeilles consomment d'eau, puisque les échanges trophalactiques sont plus fréquents, et donc les besoins individuels sont moindres (Free et Spencer Booth, 1958). Les abeilles préfèrent récolter de l'eau salée à 0,5 % (NaCl), ce qui augmente leur longévité et leur production de cire (Horr, 1998). Le sel peut notamment permettre à l'abeille de réguler son osmorégulation (Nicolson, 1990).

### *Le devenir des aliments*

Après consommation, les aliments humectés de salive progressent jusqu'au jabot, dans lequel ils sont stockés. Une première digestion peut y avoir lieu grâce aux enzymes salivaires produites par les glandes salivaires (ou labiales). Puis les éléments solides sont déversés dans l'intestin moyen, où la digestion principale a lieu (Bailey, 1952 ; Dietz, 1969). Les éléments directement assimilables tels que l'eau, les sels minéraux, les acides aminés, les sucres simples, les acides gras, et les vitamines, sont absorbés par la membrane de l'intestin. Ils pourront être stockés dans les tissus adipeux, ou bien circuler dans l'hémolymphe (dont le rôle chez les insectes est analogue à notre sang) d'où ils seront transportés vers les différents organes qui vont pouvoir les utiliser. Pour le stockage de réserves alimentaires, les abeilles possèdent des cellules sur les parties dorsales et ventrales de l'abdomen appelées corps gras ; ces derniers concentrent et stockent les protéines sous forme d'albumen, ainsi que le glycogène, ce dernier pouvant être rapidement converti en glucose. Le tissu adipeux est particulièrement développé chez les abeilles d'hiver qui doivent survivre durant toute la saison froide dans la ruche. Les éléments non directement assimilables tels que les protéines, les sucres complexes et l'amidon ou les graisses, subissent d'abord l'action des enzymes digestives (les protéases pour la partie protéique (Terra et Ferreira, 1994) et les sucrases pour les sucres (Huber et Mathison, 1976)) avant de pouvoir être utilisés. Les éléments non assimilables (une partie de l'amidon et des sucres complexes, la cellulose, la sporopollenine, etc...) sont excrétés. Les divers déchets peuvent être rejetés par les tubes de Malpighi, par l'ampoule rectale, ou par les voies respiratoires.



**Figure 3: Les apports des ressources alimentaires chez l'abeille domestique.**

#### IV- Dans l'environnement, l'abeille est soumise à des stress

##### *Modification des paysages par l'agriculture intensive*

L'agriculture intensive a abouti à une modification profonde du paysage. En effet, les agriculteurs ont augmenté leurs surfaces cultivées, au détriment des surfaces naturelles et semi-naturelles (prairies permanentes, friches, jardins, haies, bordures de champs et de cours d'eau) (Hines et Hendrix, 2005 ; Goulson *et al.*, 2008). La dégradation et la fragmentation de l'habitat contribuent au déclin des colonies d'abeilles dans le monde (Richards, 2001 ; Kremen *et al.*, 2002 ; Larsen *et al.*, 2005) (Figure 4). En effet, l'intensification des paysages agricoles provoque une diminution de la quantité, de la qualité, voire de la diversité des ressources en pollen pour l'abeille (Mattila et Ottis, 2006 ; Decourtye *et al.*, 2010). Les ouvrières nourrices doivent produire la nourriture qu'elles distribuent aux larves à partir de leurs glandes nourricières, glandes dont le développement dépend de l'apport protéique contenu dans le pollen. Si les abeilles n'ont pas ou peu de pollen, ou si elles ont du pollen de mauvaise qualité à leur disposition, les nourrices ne peuvent plus réaliser leurs tâches mettant toute la colonie en péril. La disponibilité des ressources florales est ainsi un point important à prendre en compte dans la santé et la survie des abeilles. Les apiculteurs rajoutent notamment du sirop ou des suppléments protéiques, mais ils ne fournissent pas une valeur nutritionnelle aussi intéressante que le nectar et le pollen récoltés par les abeilles (Pederson et Omholt, 1993).

##### *Présence de stressseurs biotiques dans les colonies*

D'autres facteurs pourraient expliquer le déclin des abeilles. La présence de parasites/pathogènes ou de pesticides a fait l'objet de nombreuses études visant à prouver qu'il s'agissait de la principale cause de ce déclin (Figure 4). Les principaux parasites et agents infectieux qui affectent les abeilles domestiques et provoquent d'importantes disparitions de colonies sont l'acarien *Varroa destructor* (Dainat *et al.*, 2012), les champignons du genre *Nosema* (Higes *et al.*, 2008a), les bactéries de type loque (Forsgren 2009), ainsi que de nombreux virus (Gregory *et al.*, 2005 ; Yang *et al.*, 2005 et 2007 ; Cox-Foster *et al.*, 2007 ; Highfield *et al.* 2009 ; Berthoud *et al.*, 2010). Notre étude se concentre sur *Nosema ceranae*. Il s'agit d'un parasite eucaryote, intracellulaire, obligatoire, d'abord détecté chez *Apis cerana*, puis chez *Apis mellifera* L. (Higes *et al.*, 2006). *N. ceranae* a remplacé *Nosema apis* dans les

ruchers depuis quelques années, et est beaucoup plus virulent que ce dernier puisqu'il provoque une plus forte mortalité (Paxton *et al.*, 2007 ; Fries, 2010). Il se développe rapidement dans l'intestin de son hôte après inoculation (Forsgren et Fries, 2010), et manipule ses fonctions clés pour son propre intérêt (Vidau *et al.*, 2014). Ainsi, *Nosema* cause un stress énergétique, et une diminution des capacités immunitaires et de la longévité des abeilles infectées (Martin-Hernandez, 2011; Antunez *et al.*, 2009 ; Higes *et al.*, 2007). En Espagne, la présence de ce champignon dans les ruchers provoque une dépopulation des ruches, une augmentation des mortalités hivernales, et une diminution des productions de miel (Higes *et al.*, 2008a). Il a d'ailleurs été cité comme étant une cause potentielle du syndrome d'effondrement des colonies (Higes *et al.*, 2008a et b, et 2010 ; Paxton, 2010). La contamination par les spores de *Nosema* peut avoir lieu par les matières fécales présentes dans la ruche, les échanges entre abeilles (contact, trophallaxie), ou par ingestion de pollen contaminé lors de la confection du pain d'abeille par des individus infectés (Higes *et al.*, 2008b et 2010 ; Smith, 2012).

#### *Intoxications par les pesticides*

En ce qui concerne les pesticides, les principales substances incriminées dans le déclin des abeilles sont les herbicides et les insecticides, et depuis quelques années les néonicotinoïdes (Cressey, 2013), insecticides systémiques qui persistent dans toutes les parties de la plante (Trapp et Pussemier, 1991). Des effets létaux et sub-létaux sont observés sur les abeilles (Figure 4). En effet, les pesticides peuvent agir au niveau physiologique, immunitaire, de l'apprentissage, du comportement, et/ou de la communication (Decourtye *et al.*, 2003 et 2005 ; Desneux *et al.* 2007 ; Henry *et al.* 2012). L'exposition peut se faire par contact direct avec ces produits lors de leur application, par contact avec des substances contaminées, ou bien par ingestion de pollen ou nectar contaminé (Goulson, 2010; Krupke *et al.*, 2012). Aux Etats-Unis, Frazier *et al.* (2008) ont détecté un grand nombre de pesticides différents dans les cires et les pollens. En France, une étude des pelotes de pollen récoltées par les abeilles sur des fleurs environnantes aux ruchers, a montré la présence de nombreux pesticides utilisés en agriculture, quelquefois à des concentrations inquiétantes (Chauzat *et al.*, 2006). De plus, certaines semences enrobées sont toujours utilisées pour les cultures de colza ou maïs, et les teneurs en pesticides des pollens et nectars que ces plantes mellifères produisent ne sont pas encore bien évaluées, mais peuvent être fortement toxiques (Van Engelsdorp and Meixner, 2010). Les molécules utilisées pour lutter contre les pathogènes des abeilles, tel que le fluvalinate et le coumaphos, acaricides utilisés pour lutter contre le *Varroa*, sont aussi à prendre en compte dans

les divers modes de contamination des abeilles par les pesticides. Frazier *et al.* (2008) et Martel *et al.* (2007) ont trouvé des traces de ces deux produits dans 100 % des échantillons de cires testés aux États-Unis et en France.

#### *Autres facteurs possibles*

Enfin, il existe d'autres facteurs pouvant affaiblir les colonies d'abeilles, mais qui ne semblent pas être à eux seuls responsables du déclin des abeilles. Parmi ces causes, les pratiques apicoles peuvent être incriminées, la sélection génétique induisant une diminution de la variabilité génétique chez les abeilles, et aboutissant à une baisse de l'efficacité des abeilles à lutter contre les maladies (Tarpy, 2003 ; Van Engelsdorp et Meixner, 2010 ; Büchler *et al.*, 2014) ou simplement les techniques apicoles utilisées (transhumance, localisation des ruchers, gestion des ressources naturelles ou artificielles). Les changements climatiques auraient aussi leur part de responsabilité (Figure 4), du fait de l'influence du climat sur le développement des fleurs et la production de nectar dont dépendent l'activité de butinage et le développement des colonies. De plus, certaines conditions climatiques sont particulièrement favorables à l'apparition de certains pathogènes et notamment les fortes températures ou les périodes d'humidité (Le Conte *et al.*, 2008 ; Van Engelsdorp et Meixner, 2010). Blaschon *et al.* (1999) ont montré que le climat pouvait avoir des conséquences directes sur les réserves de la colonie. Au cours de leur expérience, il a été démontré que le maintien de conditions pluvieuses durant plusieurs jours provoquait une perte presque totale des réserves polliniques, contrairement aux réserves en miel qui n'étaient que très faiblement affectées. Enfin, Szabo *et al.* (1980) ont observé une corrélation entre les conditions climatiques, l'activité de vol des abeilles, et le gain de poids des colonies.

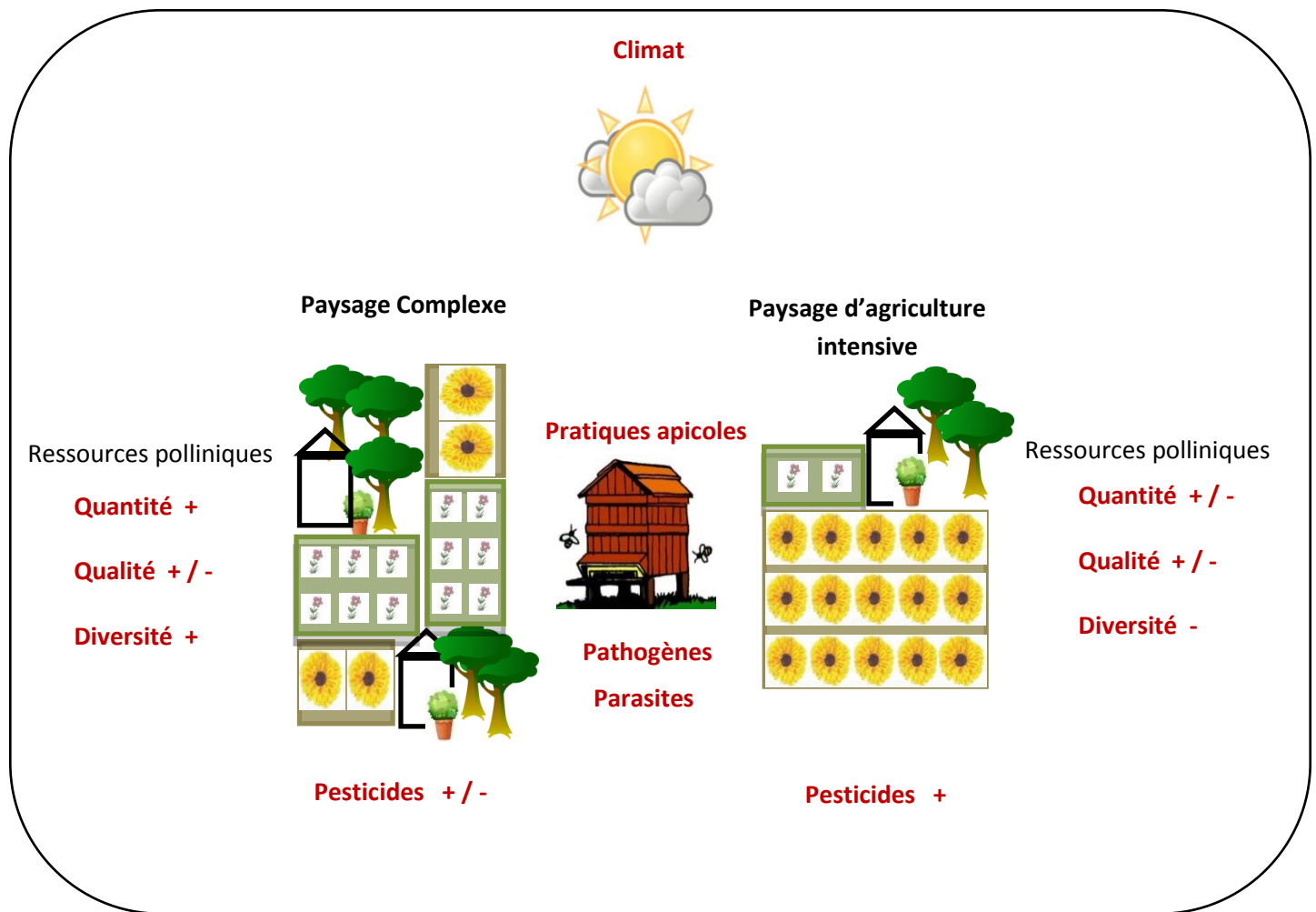
#### *Des causes multifactorielles*

Les différentes études ne permettant pas de mettre en évidence une cause unique responsable de ce déclin, les recherches se sont tournées vers des causes multifactorielles (Van Engelsdorp, 2009), les interactions entre facteurs ayant aussi fait l'objet d'études plus récentes. Colin et Belzunces (1992) ont étudié en laboratoire l'action conjuguée de deux pesticides, un insecticide pyréthrianoïde (la deltaméthrine) et un fongicide (le prochloraz) sur la santé d'*Apis mellifera L.*. Exposées indépendamment à l'un ou l'autre de ces produits, les abeilles ne présentaient pas des taux de mortalité supérieurs à ceux des abeilles témoins. Cependant, une action combinée des



deux pesticides entraînait une augmentation du taux de mortalité de l'ordre de 70 % comparativement au lot témoin.

Une sensibilité accrue face au champignon pathogène *N. ceranae* a également été observé par Wu *et al.* (2012), puis Pettis *et al.* (2013) en cas d'exposition à de hauts niveaux de résidus de pesticides, de même ordre de grandeur que les taux rencontrés dans le miel, la cire, ou le pollen. La co-exposition à *Nosema* et aux insecticides a fait l'objet de diverses études, aboutissant à chaque fois à la mise en évidence d'une mortalité accrue des ouvrières exposées aux deux stressés par rapport à celle des abeilles exposées à un seul stress (Alaux *et al.*, 2010b ; Vidau *et al.*, 2011). Yoder *et al.* (2013) ont observé que la présence de fongicides dans le pain d'abeille de colonies vivant sur des vergers entraînait une diminution logique de la flore fongique naturelle du pain d'abeille, ce qui avait pour conséquence une plus grande sensibilité des colonies à la maladie dite du « couvain plâtré » provoquée par le champignon *Ascosphaera apis*. L'apparition de maladies est souvent associée à un manque de nourriture comme c'est le cas pour la loque américaine par exemple (Forsgren, 2009). Le rôle des protéines dans l'activation des défenses immunitaires basées sur des réactions enzymatiques (par exemple l'encapsulation) est reconnu (DeGrandi-Hoffman *et al.*, 2010). Une carence en pollen peut ainsi affecter les défenses immunitaires de l'abeille et la rendre plus sensible aux pesticides et parasites. Le manque de nourriture augmentant la fréquence des trophallaxies (Feigenbaum et Naug, 2010), une colonie affamée sera davantage sujette aux transmissions virales.



**Figure 4 : Variabilité des ressources polliniques dans un environnement complexe ou en paysage d'agriculture intensive.** Le signe « + » signifie que le paramètre est fortement représenté et de manière régulière, à l'inverse le signe « - » signifie que le paramètre est faiblement représenté, de manière régulière. Enfin le signe « +/- » définit des ressources plus ou moins représentées, et de manière irrégulière.

## **Objectif et problématiques**



L'objectif général de cette étude est de tester les effets de l'alimentation pollinique sur la santé et la survie des abeilles. Notre hypothèse est la suivante : la variabilité de la quantité, la qualité, et la diversité des ressources polliniques influence la santé des abeilles, ainsi que leur résistance aux différents stress présents dans l'environnement.

Les abeilles se nourrissent de pollen durant les premiers jours après leur émergence. Les jeunes abeilles jouent le rôle de nourrice et sont indispensables à l'élevage du couvain, aux soins prodigués à la reine, et à l'alimentation de tous les individus de la colonie. Les deux principaux paramètres physiologiques qui définissent une nourrice sont le développement de ses glandes hypopharyngiennes, ainsi que la présence de nombreux corps gras, et donc de fort taux de *vitellogénine*. Ces deux paramètres nous serviront de témoins pour tester la santé de l'abeille au cours de notre étude, et couplé à la survie des individus, nous aurons une idée des impacts observables en conditions réelles sur l'organisation dans la ruche, et sur la survie de la colonie entière.

L'agriculture s'intensifie et les paysages agricoles représentent l'environnement typique dont disposent les abeilles, avec deux grands types de ressources florales : les fleurs de plantes sauvages, présentes dans les milieux interstitiels, les haies, les prairies, les jachères, et les cultures à floraison massives tels que le colza, le tournesol, la luzerne, le maïs. Ces deux types de pollens seront donc étudiés sur la santé de l'abeille au cours de notre étude.

Jusqu'à présent, l'importance de l'abondance pollinique a été testée en présence et absence de pollen. Mais les apports en pollen variant dans l'environnement, avec des périodes de pénuries, nous avons voulu déterminer le réel impact de la quantité de pollen sur la santé de l'abeille. La qualité du pollen est caractérisée comme un paramètre important de la nutrition des abeilles, mais les études ne concernent principalement que les taux de protéines et/ou la composition en acides aminés. Il paraît donc intéressant de confirmer qu'il s'agit bien des deux seuls composants à prendre en compte dans l'étude de la qualité du pollen. Enfin, il apparaît que les abeilles préfèrent consommer des mélanges de pollens plutôt que des pollens monofloraux, et que cela pourrait être bénéfique sur l'immunité de la colonie, mais dans quelles mesures cette diversité apporte-t-elle des bénéfices à l'abeille, et quel niveau de diversité lui est-il nécessaire ? Dans un premier temps, nous nous sommes donc questionnés sur les effets des variations observées en conditions réelles sur les ressources en pollen de fleurs sauvages et de culture, en

termes de quantité, de qualité, et de diversité, sur la physiologie d'abeilles nourrices et sur leur survie.

La santé de l'abeille ne se définit pas seulement par l'absence de maladie mais aussi par la présence de nombreux individus, bien nourris, capables d'élever du couvain et résistant aux différents stress (Brodtschneider *et al*, 2010). Or, de nombreuses études statuent des effets néfastes d'une multitude de stress sur la santé des abeilles et le devenir des colonies. La disponibilité des ressources polliniques apparaît comme un paramètre permettant de pallier à ces pertes. Nous nous sommes donc demandé dans un second temps quels sont les effets de la qualité et la diversité du pollen sur la résistance des abeilles au parasite *Nosema ceranae* ?

Les capacités digestives de l'abeille étant primordiales dans l'assimilation des nutriments que peuvent apporter les pollens, elles ont un impact direct sur les effets que peuvent avoir les pollens sur la résistance au parasite intestinal *Nosema*. Nous avons finalement étudié les activités de trois enzymes digestives identifiées chez l'abeille domestique, en présence du parasite.