

Faculté des bioingénieurs

Interaction entre néonicotinoïdes et ressources florales pour évaluer la santé des pollinisateurs

Étude de cas à l'échelle du paysage agricole wallon

Auteur : Thomas Schmitz

Promoteurs : Yannick Agnan, Maxime Buron

Lecteurs : Julien Radoux, Louis Hautier

Année académique 2024-2025

Mémoire de fin d'études présenté en vue de l'obtention du diplôme de

Bioingénieur : sciences et technologies de l'environnement

Remerciements

Je tiens à remercier toutes les personnes qui ont contribué à l'aboutissement de ce mémoire.

Tout d'abord, je tiens à remercier mon promoteur Yannick Agnan ainsi que mon doctorant Maxime Buron pour leur accompagnement tout au long de l'année. Leur bonne humeur, leur disponibilité, leurs conseils avisés et leur soutien ont été d'une grande aide.

Je tiens aussi à remercier toutes les personnes du laboratoire ELIE pour leur accueil, les séminaires d'accompagnement et les midis mémorants, qui m'ont aidé dans la réalisation de ce travail.

Je remercie également Julien Radoux et Louis Hautier d'avoir accepté d'être les lecteurs de mon mémoire.

Finalement, je tiens à remercier ma famille, mes amis et toutes les personnes sans qui ces belles années d'études n'auraient pas eu la même saveur.

Table des matières

Remerciements	1
Table des matières	2
Liste des figures.....	4
Liste des tableaux.....	6
Avant-propos	7
1. Introduction	8
2. État de l’art	9
2.1. Rôle et importance de la pollinisation	9
2.1.1. Pollinisation et services écosystémiques	10
2.1.2. Diversité des pollinisateurs entomophiles	11
2.1.3. Déclin des pollinisateurs	12
2.2. Rôle du paysage dans la pollinisation	16
2.2.1. Diversité des paysages	16
2.2.2. Diversité des communautés florales dans le paysage agricole	17
2.3. Pollen et nectar : ressource florale pour les pollinisateurs	19
2.3.1. Pollen comme source de nourriture	19
2.3.2. Nectar comme ressource d’énergie	21
2.3.3. Les contaminations du pollen et nectar	21
2.4. Impact des néonicotinoïdes sur la pollinisation à l’échelle du paysage	22
2.4.1. Caractéristiques des néonicotinoïdes	22
2.4.2. Transfert sol-plante-pollinisateur des néonicotinoïdes dans l’environnement	24
3. Objectifs et démarche	26
4. Matériels et méthodes	28
4.1. Sites d’étude.....	28
4.2. Concentrations en néonicotinoïdes	29
4.2.1. Choix des zones et collecte des échantillons	29
4.2.2. Quantification de la concentration en néonicotinoïdes	30
4.2.3. Données de ressources florales.....	30
4.3. Données santé des pollinisateurs.....	31
4.4. Traitement des données	33
4.4.1. Classification des types de rotation.....	33
4.4.2. Extrapolation des échantillons de néo	34
4.4.3. Extrapolation des densités florales.....	38

4.4.4. Création du modèle	40
5. Résultats et discussions	42
5.1. Caractérisation des contextes d'expositions.....	42
5.1.1. Répartition des types de cultures par sites	42
5.1.2. Quantification des cultures à risque.....	43
5.1.3. Extrapolation des données de néonicotinoïdes pour les parcelles	44
5.2. Extrapolation des relevés de ressources florales	48
5.2.1. Hétérogénéité entre biotopes.....	48
5.2.2. Comparaison des différentes extrapolations pour les colonies.....	49
5.2.3. Scores de densité de pollen pondérés par surface des colonies.....	50
5.3. Distribution des indicateurs de santé.....	51
5.3.1. Masse des colonies	51
5.3.2. Activités des colonies.....	52
5.3.3. Les moyennes des diamètres de thorax.....	53
5.3.4. La présence de mâles et reines au sein des colonies.....	54
5.3.5. Nombre de parasites par colonies.....	55
5.4. Mise en relation des scores de risque avec la santé	56
5.4.1. Croisement des risques chimiques et floraux à l'échelle parcellaire.....	56
5.4.2. Agrégation des scores à l'échelle des colonies	60
5.4.3. Comparaison des scores obtenus avec indicateurs de santé des pollinisateurs.....	62
6. Conclusion et perspectives	65
7. Annexe	67
7.1. Méthode analyse des échantillons de terres récoltés.....	67
7.2. Tableau des statistiques de détections échantillons pour chaque type de rotation de culture et chaque type de molécules de néonicotinoïdes	69
7.3. Augmentation observée de la concentration en clothianidine et imidaclopride à chaque occurrence supplémentaire de betteraves sucrières et légumineuses dans la rotation. ...	70
Références	71

Liste des figures

Figure 1 – Étapes de la pollinisation d’une fleur par un insecte pollinisateur (Mainchain, 2021)	9
Figure 2 – Pourcentage de réduction de la production des principales cultures mondiales dépendant de la pollinisation entomophile directement consommées par les humains et commercialisées sur le marché mondial (IPBES, 2016)	10
Figure 3 - Graphique issu du programme de science participative (Suivi photographique des insectes pollinisateurs), qui présente les proportions de types de pollinisateurs visitant les fleurs en France (Sipoll, n.d.).	11
Figure 4 - Diminution des populations d'insectes sur la dernière décennie (Gaudiaut, 2019)	12
Figure 5- Représentation schématique des différents facteurs environnementaux influant sur les populations d’abeilles sauvages (Féon, 2010b).	14
Figure 6 - Niveau de dépendance des cultures à pollinisation animale (produites pour l’alimentation humaine) vis-à-vis de la présence des pollinisateurs : <i>Essential</i> = production réduite de 90 % ou plus, <i>High</i> = réduction de 40 à 90 %, <i>Modest</i> = réduction de 10 et 40 %, <i>Little</i> = diminution inférieure à 10 %, <i>No increase</i> = pas d’augmentation de la production et <i>unknown</i> = pas de données. (Le Féon, 2010).	15
Figure 7 – Impact économique du déclin des pollinisateurs sur l’agriculture des pays de l’Union européenne (Gallai et al., 2009)	15
Figure 8 – Distances de déplacement autour du site chez 11 espèces (Féon, 2010a)	16
Figure 9 - Relation entre le nombre d’espèces d’abeilles (en échelle log) et le nombre de plantes à pollinisation entomophile sur des bordures de champs cultivés en agriculture conventionnelle (ronds blancs) ou en agriculture biologique (triangles noirs) (Holzschuh et al., 2007)	18
Figure 10 - Composition moyenne d'un grain de pollen (Komosinska-Vassev et al., 2015). ..	20
Figure 11 - Principales molécules de néonicotinoïdes dérivées de la nicotine (Alsafran et al., 2022a)	23
Figure 12 - Facteurs affectant le devenir et le transport des néonicotinoïdes dans les agroécosystèmes (Borsuah et al., 2020)	25
Figure 13 – Approche générale du mémoire	27
Figure 14 - Carte localisation des différents sites selon les régions agricoles de Wallonie	28
Figure 15 - Exemple d'un échantillonnage avec trois réplicats (A, B et C)	30
Figure 16 - Carte localisation ruches en Wallonie.....	31
Figure 17 - Exemple d'une ruche de la société Biobest (a) et de la structure en bois d’une ruche sur le terrain (b)	32
Figure 18 - Classification des parcelles en 12 types de rotations	34
Figure 19 - Nombre occurrence de parcelles de betteraves sucrières et de légumineuses par type de rotation	36
Figure 20 – Méthode utilisée pour extrapoler les ressources florales.....	39

Figure 21 - Schéma de la méthodologie du modèle avec les liens entre facteurs et santé des pollinisateurs. En rouge, le facteur néonicotinoïdes ; en vert le facteur densité pollen et en mauve indicateurs de santé des pollinisateurs.....	41
Figure 22 - Surface de chaque type de culture par site et par année au cours des 9 dernières années.....	42
Figure 23 - Score de néonicotinoïdes obtenus après application de la méthode d'extrapolation pour le site 6 (Colonie 3 et 4). Les traits noirs représentent la surface du site ou les prélèvements ont été effectués, les cercles rouges représentent les buffers de 500 m des colonies.....	45
Figure 24 - Densité des valeurs des scores de néonicotinoïdes des parcelles avec médiane et moyenne	46
Figure 25 - Score en néonicotinoïde attribuée à chaque colonie	47
Figure 26 - Densité moyenne de pollen ($\mu\text{L}/\text{m}^2$) par biotope présent sur les parcelles	48
Figure 27 - Carte des scores de densité pollen par biotope présent sur chaque parcelle pour la colonie numéro 15. Le trait rouge représente le buffer de 500M autour de la colonie, les traits noirs représente les différentes parcelles du site.....	50
Figure 28 - Score densité de pollen en $\mu\text{L}/\text{m}^2$ par colonie	51
Figure 29 - Variation des différents gains de masse en g des colonies durant la période de suivi. Les couleurs représentent les colonies jumelles par site.....	52
Figure 30 - Variation de la somme des entrées et sorties pour chaque colonie. Les barres représentent l'addition de toutes les entrées et sorties) des différents relevés effectués....	53
Figure 31 - Moyenne diamètre de thorax des ouvrières par colonie	54
Figure 32 - Nombre de males et reines par colonie.....	55
Figure 33 - Nombre de parasite par bourdon infecté par colonie	56
Figure 34 – Distribution des parcelles en fonction du score en néonicotinoïdes et de la densité de pollen (échelle log10, couleurs selon les catégories de colonies)	57
Figure 35 - Hétérogénéité des parcelles pour une colonie	59
Figure 36 - Score final des deux composantes (néonicotinoïdes et densité pollen) pour chaque colonie pondérée à la surface.....	61
Figure 37 - Localisation des colonies dans les différentes régions agricoles de Wallonie avec le score obtenu	62
Figure 38 - Relation entre les scores obtenus et les indicateurs de santé par colonie avec une régression linéaire. Pour chaque indicateur, coefficient de corrélation de Spearman (en rang) et valeur de p-value.	64
Figure 39 - Schéma d'extraction des produits de protection des plantes dans le sol (CRA-W, 2023)	67

Liste des tableaux

Tableau 1 - Temps de demi-vie des différentes molécules de néonicotinoïdes(Borsuah et al., 2020)	24
Tableau 2 - Score total de chaque groupe par nombre d'occurrence	37
Tableau 3 - Nombre de cultures potentiellement contaminées aux néonicotinoïdes au cours des 5 dernières années	44
Tableau 4 - Moyenne recalculée en fonction de la moyenne de base et des occurrences	45
Tableau 5 - Distribution des parcelles et surfaces en pourcentage par catégorie de risque..	58
Tableau 8 - Gradient d'élution utilisé pour l'analyse multi-résidus en LC-HRMS.....	68
Tableau 9 - Limite de quantification (LQ).....	69

Avant-propos

Au cours de la rédaction de ce mémoire, certains choix méthodologiques et stylistiques ont été posés et méritent d'être explicités. L'usage d'outils d'intelligence artificielle générative s'est limité à des opérations de reformulation, dans le but d'améliorer la clarté et la fluidité du propos. Cet usage suit strictement les recommandations faites par l'UCLouvain dans sa note sur l'utilisation des intelligences artificielles génératives du 6 juillet 2023.

1. Introduction

Les pollinisateurs, sauvages ou domestiques, jouent un rôle essentiel dans le maintien des écosystèmes et la production agricole mondiale (Potts et al., 2010). Cependant, leurs populations déclinent à un rythme préoccupant, sous l'effet de multiples facteurs souvent interdépendants. Parmi ces facteurs, la contamination par des intrants chimiques, notamment les néonicotinoïdes (Woodcock et al., 2017), ainsi que la diminution des ressources florales disponibles liée à la pression anthropogénique croissante des modèles agricoles (Kleijn et al., 2015), sont identifiées comme des menaces majeures pour la santé et la vitalité des colonies.

Les néonicotinoïdes peuvent affecter directement la physiologie et le comportement des pollinisateurs (Simon-Delso et al., 2015). Bien que les molécules les plus importantes (imidaclopride, clothianidine et thiaméthoxame) aient été interdites en 2013 sur toutes les cultures attractives pour les pollinisateurs (*Règlement d'exécution - 485/2013 - EN - EUR-Lex*, n.d.), et en 2018 pour toutes les cultures sauf celles en serres (*Règlement d'exécution - 2018/784 - EN - EUR-Lex*, n.d.), des dérogations d'urgences ont pu être accordées jusqu'en 2023 (*Pesticide Action Network Europe ASBL ea contre État belge*, 2023). En parallèle, la qualité nutritionnelle des ressources florales, en particulier la densité du pollen, influence directement la santé et résilience des colonies face aux stress environnementaux (Alaux et al., 2010). La combinaison de ces deux pressions, chimique et nutritionnelle, soulève des enjeux majeurs pour la conservation des pollinisateurs dans les paysages agricoles.

Ce mémoire s'inscrit dans le cadre du projet NUTRIBEE, qui vise à identifier les facteurs à l'origine du déclin des pollinisateurs dans les régions tempérées. Ce travail explore plus spécifiquement l'impact conjoint des néonicotinoïdes présents dans les sols et de la disponibilité du pollen sur la santé de colonies de *Bombus terrestris*. Pour ce faire, un score de qualité des habitats a été développé à partir de données chimiques et florales, puis confronté à des indicateurs reflétant la santé biologique de la colonie.

2. État de l'art

2.1. Rôle et importance de la pollinisation

La pollinisation des plantes à fleurs correspond au transport de pollens entre les organes mâles (étamines) et les organes femelles (pistils) permettant la reproduction des espèces végétales. Le pollen est produit dans les anthères des étamines et est réceptionné dans les stigmates des pistils (Vaissière, 2002). La reproduction sexuée est responsable de 90 % de la reproduction des plantes à fleurs, incluant la pollinisation croisée et l'autopollinisation. La pollinisation croisée est un processus clé, permettant la fécondation à l'échelle mondiale de près de 90 % des plantes sauvages et 75 % des espèces cultivées (IPBES, 2016). Elle est principalement assurée par des insectes (Kearns and al., 2024). Toutefois, certains vertébrés, comme les oiseaux, y contribuent également, et elle peut aussi être réalisée par des éléments physiques tels que le vent. Dans le cas de la pollinisation entomophile, les pollinisateurs récoltent et transportent le pollen involontairement lors de la collecte du nectar. Ils captent les grains de pollen grâce à leurs poils, puis façonnent des pelotes permettant leur dispersion entre les fleurs, et ainsi, la fécondation des ovules et la production de fruits (Figure 1).

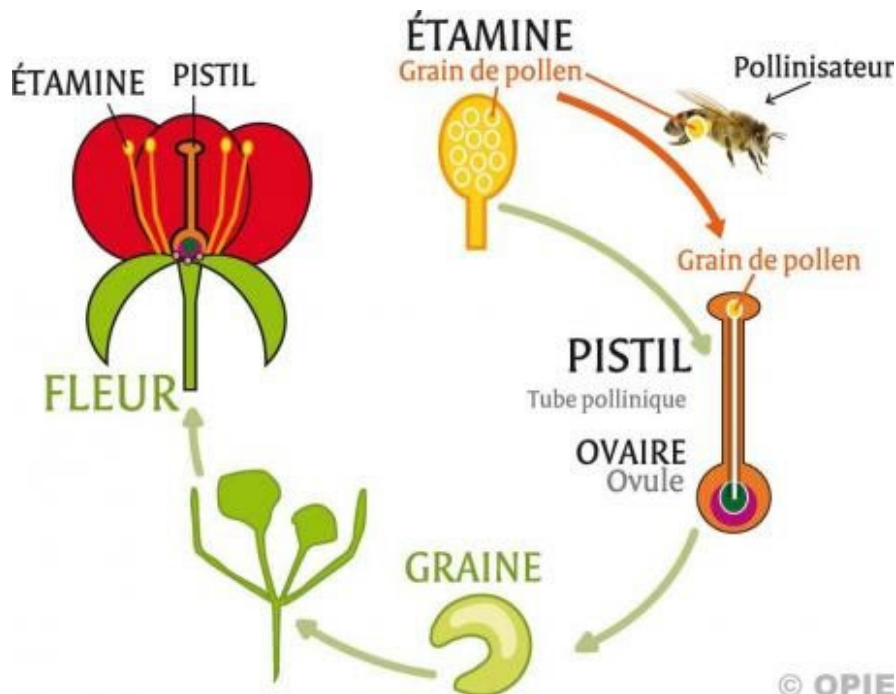


Figure 1 – Étapes de la pollinisation d'une fleur par un insecte pollinisateur (Mainchain, 2021)

2.1.1. Pollinisation et services écosystémiques

La pollinisation joue un rôle crucial dans la régulation des écosystèmes, en offrant des avantages économiques, environnementaux et socioculturels importants (Khalifa et al., 2021). Les services écosystémiques, qui désignent les bénéfices tirés des écosystèmes naturels, incluent la pollinisation en tant que facteur clé (Sartre et al., 2014). En effet, la pollinisation représente une valeur estimée entre 195 et 387 milliards de dollars par an (Porto et al., 2020).

L'un de ses principaux apports concerne l'agriculture. Environ 35 % de la production agricole mondiale repose sur des cultures dépendantes des pollinisateurs (FAO, 2025). On estime que 70 à 75 % des cultures vivrières en bénéficient à des degrés divers. Parmi les 115 principales cultures alimentaires, 87 nécessitent la pollinisation entomophile pour produire fruits et graines (Figure 2). Ce processus améliore non seulement le rendement des récoltes, mais aussi la qualité des fruits en influençant leur taille, leur forme et leur valeur nutritionnelle. Il soutient également la production de matières premières comme les huiles végétales (tournesol), les fibres textiles (coton) et les produits apicoles (miel, cire d'abeille ; IPBES, 2016). De nombreuses plantes médicinales dépendent également de la pollinisation entomophile.

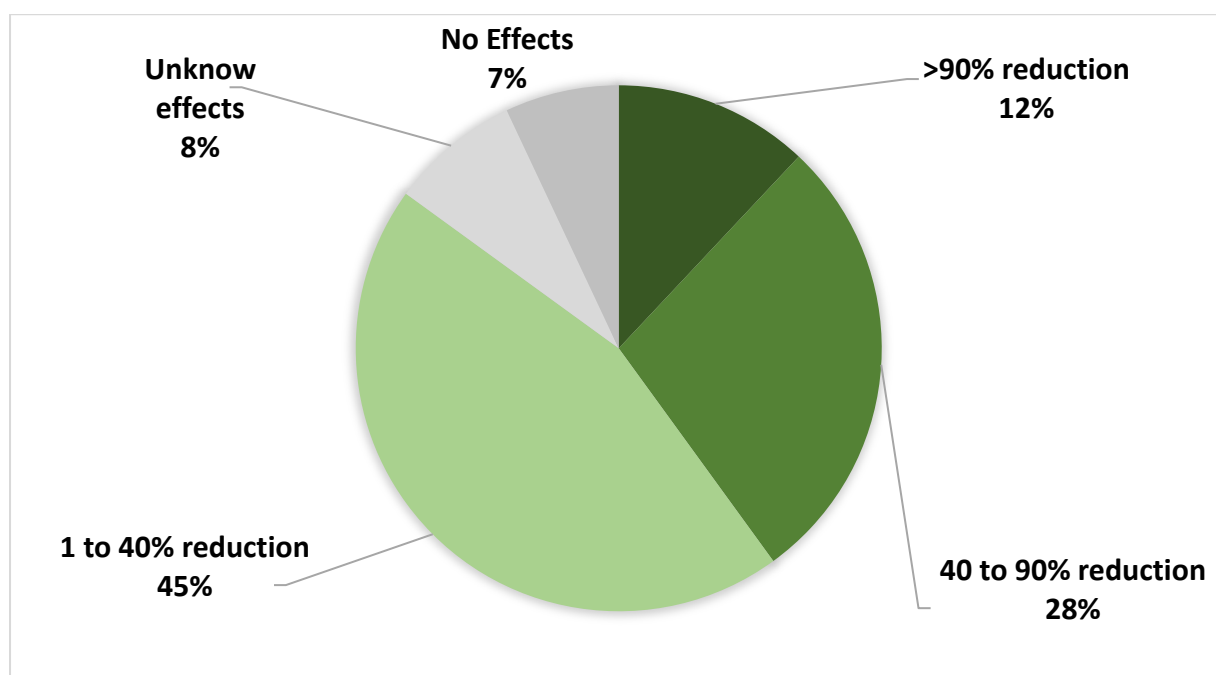


Figure 2 – Pourcentage de réduction de la production des principales cultures mondiales dépendant de la pollinisation entomophile directement consommées par les humains et commercialisées sur le marché mondial (IPBES, 2016)

Au-delà des bénéfices agricoles, la pollinisation est cruciale pour la résilience des écosystèmes terrestres. Elle repose sur des interactions mutualistes : les plantes reçoivent le pollen nécessaire à leur reproduction, tandis que les pollinisateurs s'alimentent en nectar et en pollen (Porto et al., 2020). La biodiversité, qui englobe la diversité des espèces et de leurs interactions, est essentielle à la stabilité et à l'adaptabilité des écosystèmes. Une biodiversité élevée renforce leur résilience face aux perturbations climatiques, aux maladies et aux impacts humains. En favorisant le brassage génétique, la pollinisation accroît la résistance des plantes aux changements environnementaux et aux pathogènes. Elle contribue ainsi à la création d'habitats riches et diversifiés, soutenant une multitude d'espèces et consolidant la stabilité des écosystèmes (Sahani et al., 2023). En renforçant la diversité végétale, les pollinisateurs jouent également un rôle clé dans la durabilité des agroécosystèmes.

2.1.2. Diversité des pollinisateurs entomophiles

Les principaux ordres d'insectes pollinisateurs sont les lépidoptères (papillons), les hyménoptères (abeilles domestiques, guêpes, bourdons, fourmis), les diptères (mouches, syrphes) et les coléoptères (Féon, 2010b) (Figure 3).

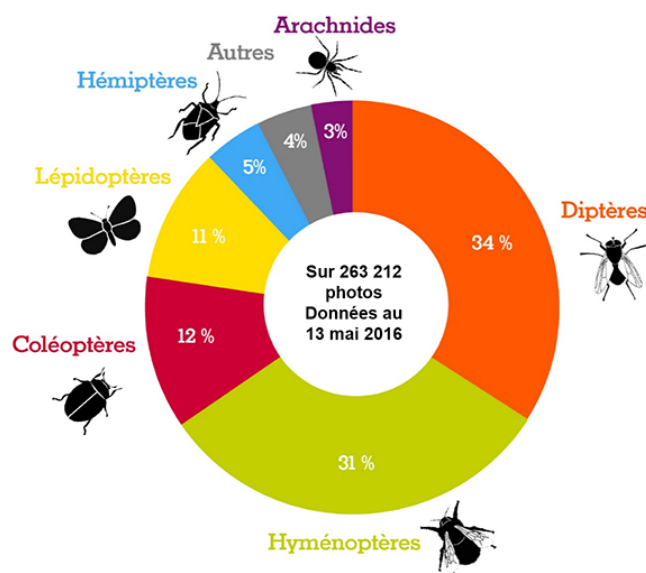


Figure 3 - Graphique issu du programme de science participative (Suivi photographique des insectes pollinisateurs), qui présente les proportions de types de pollinisateurs visitant les fleurs en France (Spipoll, n.d.).

Les abeilles sont reconnues comme les pollinisateurs les plus efficaces à l'échelle mondiale (Roubik, 1995). Parmi elles, on distingue les espèces sociales, comme les bourdons (*Bombus*

sp.) et l'abeille domestique (*Apis mellifera*), ainsi que des espèces solitaires, comme l'osmie cornue (*Osmia cornuta*) et l'abeille découpeuse (*Megachile rotundata*). Leur efficacité repose sur plusieurs facteurs : leurs poils branchus favorisent l'adhésion du pollen, leur régime alimentaire exclusivement floral renforce leur interaction avec les fleurs, et leur fidélité aux mêmes espèces végétales optimise le transfert de pollen (Féon, 2010b).

Les syrphes jouent également un rôle dans la pollinisation en se nourrissant de nectar et de pollen à l'âge adulte. Toutefois, leur efficacité est moindre que celle des abeilles, car ils ne collectent pas de pollen pour nourrir leurs larves et visitent moins fréquemment les fleurs (Klecka et al., 2018). De plus, leur corps dépourvu de poils denses retient moins bien le pollen, limitant leur contribution à la pollinisation (Féon, 2010b).

2.1.3. Déclin des pollinisateurs

Le déclin des pollinisateurs est un phénomène complexe à évaluer, mais il fait l'objet d'un consensus scientifique. Plus largement, toutes les classes d'insectes sont touchées (Figure 4 Figure 4 - Diminution des populations d'insectes sur la dernière décennie (Gaudiaut, 2019)) : 41 % des espèces d'insectes seraient en déclin, et 31 % menacées d'extinction dans le monde, avec une perte annuelle d'environ 1 % des espèces. (Gaudiaut, 2019)

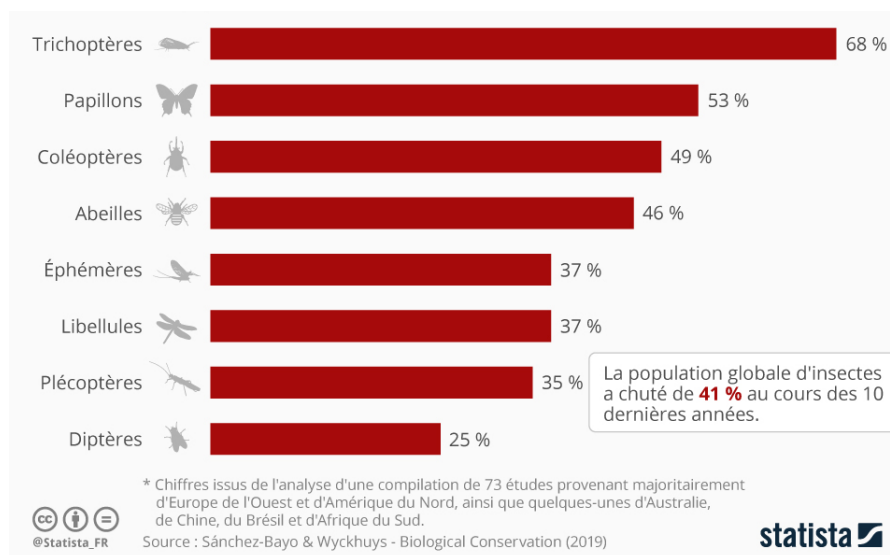


Figure 4 - Diminution des populations d'insectes sur la dernière décennie (Gaudiaut, 2019)

Les pollinisateurs sauvages ont diminué en termes d'occurrence et de diversité à l'échelle locale et régionale en Europe du Nord-Ouest et en Amérique du Nord. En Europe par exemple, 9 %

des espèces d'abeilles et de papillons sont menacées et les populations sont en déclin pour pas moins de 37 % des abeilles et 31 % des papillons. (Van Rooij et al., 2023). Un rapport européen de 2019 sur les insectes a révélé que plus de 40 % des espèces sont menacées d'extinction, avec les papillons, mites, abeilles et coléoptères parmi les plus affectés (European Court of Auditors, 2020).

Le déclin des pollinisateurs, en particulier des espèces sauvages, est principalement causé par les activités humaines croissantes (Rhodes, 2018). Une cause majeure du déclin est la conversion des terres pour l'agriculture intensive, l'urbanisation et l'exploitation forestière, entraînant l'uniformisation des paysages agricoles et la perte de biodiversité florale. Cette dégradation des habitats limite les ressources alimentaires, les sites de nidification et les refuges pour les pollinisateurs, réduisant ainsi les populations (Fauviau, 2023). Les pesticides, notamment les néonicotinoïdes, sont également très toxiques pour ces espèces lorsqu'ils sont utilisés de manière excessive. D'autres polluants environnementaux, comme les métaux, nuisent aussi à leur santé (Monchanin, 2021).

Les différents facteurs environnementaux pouvant influencer sur les populations d'abeilles sauvages sont représentés dans la Figure 5. Comme vu ci-dessus, le maintien des abeilles dans un paysage requiert la présence de deux types de ressources : des ressources florales et des sites de nidification. Les abeilles peuvent donc être affectées par les facteurs environnementaux qui diminuent ces deux types de ressources, mais aussi plus directement par des pesticides ou des maladies.

Les pollinisateurs peuvent aussi être affectés par des maladies et parasites, comme l'acarien *Varroa destructor* chez les abeilles domestiques (Noël et al., 2020). Le commerce mondial et le transport d'espèces favorisent la propagation des pathogènes (Reams & Rangel, 2022), tandis que l'introduction d'espèces exotiques, telles que le frelon asiatique (*Vespa velutina*) prédateur pour les pollinisateurs indigènes, perturbe les écosystèmes et crée une concurrence pour les ressources (Monceau, 2017). Enfin, le changement climatique modifie les cycles saisonniers, perturbant la synchronisation entre la floraison des plantes et l'activité des pollinisateurs, ce qui affecte leur répartition et abondance (Masson, 2016).

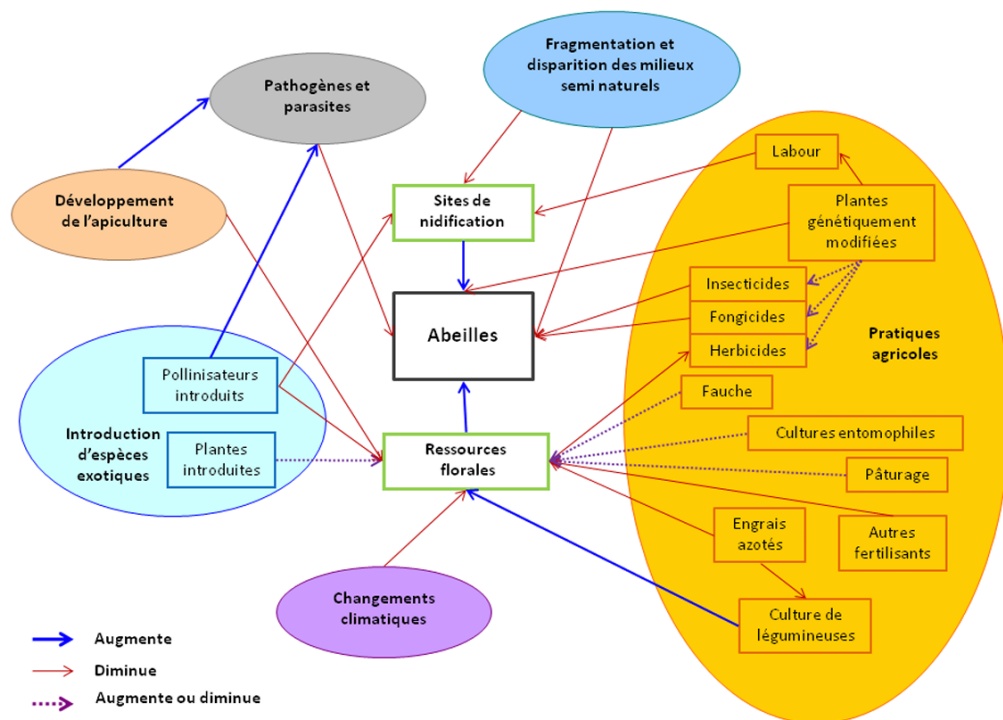


Figure 5- Représentation schématique des différents facteurs environnementaux influant sur les populations d'abeilles sauvages (Féon, 2010b).

Ce déclin a des conséquences importantes sur la production alimentaire. De nombreuses cultures agricoles dépendent de la pollinisation, et la baisse du nombre de pollinisateurs entraîne une diminution de leur productivité (Garibaldi et al., 2013) (Figure 6). La contribution de la pollinisation à l'agriculture mondiale a été estimée à 153 milliards d'euros en 2005, soit 10 % de la valeur totale de la production agricole destinée à l'alimentation humaine (Gallai, 2009). La perte de services de pollinisation pourrait faire augmenter les prix des produits alimentaires de 5 à 25 %, affectant principalement les pays en développement (Potts et al., 2016).

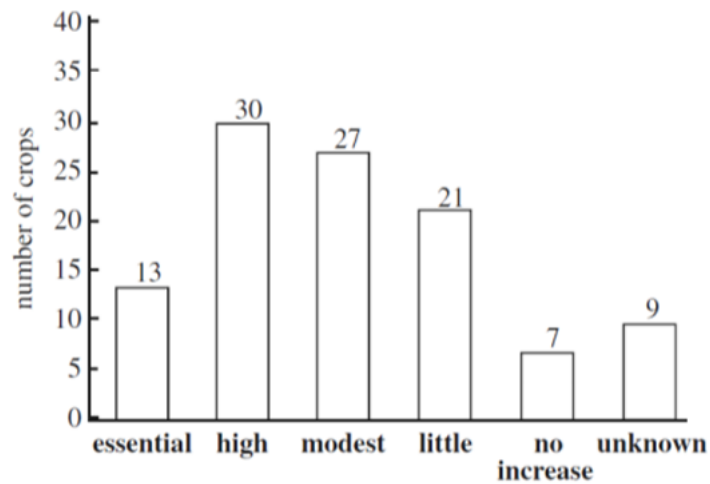


Figure 6 - Niveau de dépendance des cultures à pollinisation animale (produites pour l'alimentation humaine) vis-à-vis de la présence des pollinisateurs : *Essential* = production réduite de 90 % ou plus, *High* = réduction de 40 à 90 %, *Modest* = réduction de 10 et 40 %, *Little* = diminution inférieure à 10 %, *No increase* = pas d'augmentation de la production et *unknown* = pas de données. (Le Féon, 2010).

L'agriculture des pays de l'Union européenne est affectée par le déclin des pollinisateurs, mais pas à la même échelle : les pays à forte production céréalière sont relativement épargnés par rapport aux pays producteurs de fruits et légumes du sud de l'Europe (Figure 7).

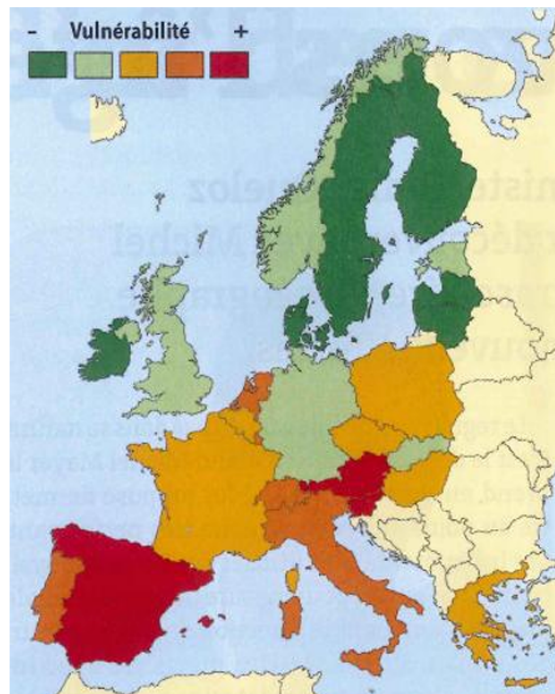


Figure 7 – Impact économique du déclin des pollinisateurs sur l'agriculture des pays de l'Union européenne (Gallai et al., 2009)

2.2. Rôle du paysage dans la pollinisation

2.2.1. Diversité des paysages

Les pollinisateurs parcourent différentes distances selon leur espèce et leur environnement, ce qui renforce encore l'importance de la diversité paysagère. L'abeille domestique, par exemple, peut parcourir jusqu'à plusieurs kilomètres lors d'un seul déplacement, tandis que les espèces solitaires ont un rayon plus restreint, compris entre 50 et 500 m, ce qui les rend dépendantes de la flore locale (Porcher & Fontaine, 2019a). Les bourdons, plus robustes, couvrent entre 300 m et 2 km, voire jusqu'à 5 km si les ressources sont limitées (Le Féon, 2010). Ces différences de distances de déplacement sont illustrées dans la Figure 8, qui présente une synthèse pour 11 espèces de pollinisateurs. Ce facteur est déterminant dans l'interaction entre le paysage et les pollinisateurs, car cette dernière dépend des distances de butinage propres à chaque espèce. La structure et la composition des paysages influencent ainsi la dynamique des pollinisateurs et, par conséquent, l'efficacité de la pollinisation.

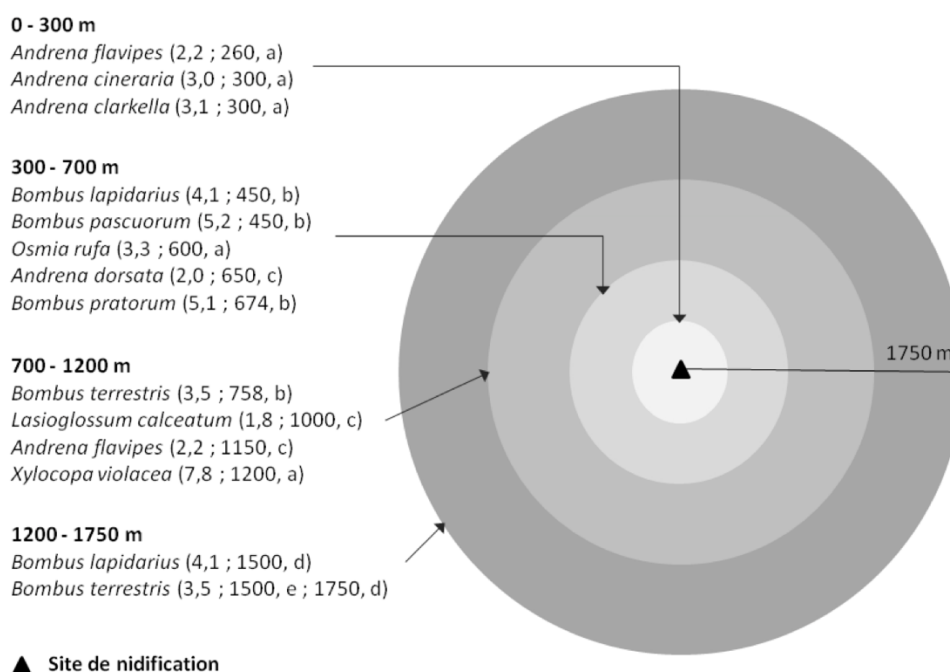


Figure 8 – Distances de déplacement autour du site chez 11 espèces (Féon, 2010a)

Un paysage diversifié et riche en éléments semi-naturels, tels que les forêts, les prairies permanentes, les haies ou encore les bandes fleuries, constitue des habitats favorables pour les pollinisateurs (Carrié, 2016). Ces paysages diversifiés offrent des ressources alimentaires variées tout au long de l'année ainsi que des sites de nidification adaptés à leurs besoins

spécifiques. Les lisières forestières, par exemple, favorisent les abeilles cavicoles (c'est-à-dire, qui nichent dans des cavités), tandis que les prairies regorgent de plantes nectarifères essentielles à leur alimentation.

La proximité des éléments semi-naturels influe directement sur la présence des pollinisateurs dans les cultures. Plus une parcelle se trouve proche d'une haie ou d'une prairie, plus elle bénéficie d'un apport en insectes pollinisateurs. De même, la diversité paysagère, en offrant une continuité de ressources florales et des corridors écologiques, permet d'assurer une pollinisation efficace et durable (Raderschall et al., 2021). Les paysages de bocage, caractérisés par un réseau dense de haies et de prairies, sont particulièrement favorables aux pollinisateurs (Perrot et al., 2022). Ces structures paysagères fournissent des ressources florales diversifiées et continues dans le temps, ainsi que des sites de nidification protégés contre les perturbations anthropiques (Féon, 2010b).

Cependant, la fragmentation croissante des paysages entraîne une réduction et un morcellement des habitats naturels, compromettant la survie des pollinisateurs (Kremen et al., 2007). La diminution des espaces favorables limite la taille et la diversité des populations, rendant certaines espèces plus vulnérables à l'extinction. Cette fragmentation affecte particulièrement les pollinisateurs aux faibles capacités de dispersion, comme certaines abeilles solitaires, tandis que d'autres, plus mobiles comme les bourdons, parviennent mieux à s'adapter (Hadley et al., 2024).

2.2.2. Diversité des communautés florales dans le paysage agricole

La diversité florale d'un paysage agricole résulte d'un ensemble de facteurs interconnectés, incluant la composition des habitats, les pratiques agricoles et les relations mutuelles entre organismes vivants et environnement (Carrié, 2016). Une communauté florale se définit comme l'ensemble des espèces végétales à fleurs coexistant dans un même espace et interagissant entre elles ainsi qu'avec leur environnement biotique et abiotique.

Les pratiques de gestion agricole influencent profondément la composition florale des paysages. L'agriculture conventionnelle, qui repose sur l'utilisation intensive de pesticides et d'engrais chimiques, favorise une production à grande échelle, mais contribue également à la diminution de la diversité végétale. En Wallonie, 75 des 119 espèces messicoles sont aujourd'hui menacées ou disparues, principalement en raison de l'intensification agricole et de

l'élimination des adventices des cultures (SPW, 2023) . Si certaines cultures à floraison massive, comme le colza ou le tournesol, attirent temporairement un grand nombre d'insectes, elles ne garantissent pas une ressource continue tout au long de la saison (Porcher & Fontaine, 2019a). Les paysages homogènes et intensivement cultivés, où les ressources florales sont limitées dans le temps et dans l'espace, limitent les sources de nectar et de pollen, entraînant une diminution des populations de pollinisateurs et, par conséquent, une réduction de la pollinisation pour des cultures entomophiles (Le Féon, 2010).

À l'inverse, des pratiques plus durables, comme l'agriculture biologique ou l'aménagement de bandes fleuries, favorisent une plus grande diversité florale à l'échelle des parcelles en limitant l'usage de produits chimiques et en favorisant des pratiques agricoles respectueuses des écosystèmes (FAO, 2025) (Figure 9). Cette diversité florale accrue bénéficie directement aux pollinisateurs en leur fournissant des ressources alimentaires variées et durables.

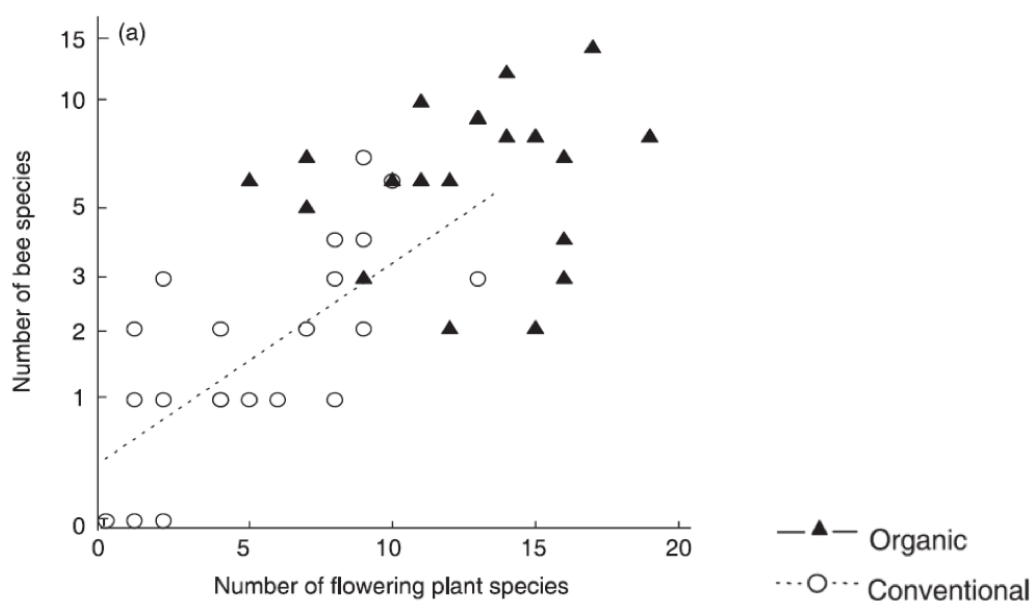


Figure 9 - Relation entre le nombre d'espèces d'abeilles (en échelle log) et le nombre de plantes à pollinisation entomophile sur des bordures de champs cultivés en agriculture conventionnelle (ronds blancs) ou en agriculture biologique (triangles noirs) (Holzschuh et al., 2007)

Au-delà des pratiques agricoles, la structure même des paysages joue un rôle clé dans la diversité végétale et la dynamique des pollinisateurs. En particulier, la fragmentation et la connectivité des habitats agricoles influencent fortement la dispersion des espèces et la stabilité des écosystèmes. L'intensification des cultures entraîne la disparition d'espaces semi-naturels,

isolant ainsi les communautés florales et réduisant leur diversité génétique (Ragué, 2021). En revanche, un paysage agricole bien connecté, intégrant des haies, des vergers haute-tige, des prairies extensives ou encore des bandes fleuries, permet d'améliorer la dispersion des espèces et de renforcer la résilience des écosystèmes¹.

Enfin, les conditions pédoclimatiques, telles que la nature des sols, la température, la saturation en eau et les précipitations, jouent un rôle clé dans la composition des communautés florales. La texture et la fertilité des sols influencent directement la présence de certaines espèces végétales (Perrin, 2023). Par exemple, les sols bien drainés favorisent les plantes adaptées à des conditions sèches, tandis que les sols plus lourds et humides soutiennent des espèces nécessitant plus d'eau. Les variations climatiques, comme les températures et les précipitations, influencent également la diversité végétale. Un climat modéré permet une plus grande variété d'espèces, offrant ainsi des ressources alimentaires diversifiées aux pollinisateurs (Harrison et al., 2020). En revanche, des conditions extrêmes, telles que des sécheresses prolongées ou des gelées, peuvent limiter la diversité végétale et réduire la quantité de nectar et de pollen disponible pour les pollinisateurs (Phillips et al., 2018).

Ainsi, la structuration du paysage agricole joue un rôle déterminant dans la dynamique des pollinisateurs. La conservation et la restauration d'habitats semi-naturels au sein des territoires agricoles apparaissent comme des leviers essentiels pour améliorer la pollinisation et, plus largement, la biodiversité fonctionnelle des agroécosystèmes.

2.3. Pollen et nectar : ressource florale pour les pollinisateurs

2.3.1. Pollen comme source de nourriture

Le pollen est une ressource alimentaire précieuse pour de nombreux organismes, en particulier les insectes pollinisateurs (Figure 10). Il est constitué de grains microscopiques produits par les organes reproducteurs mâles des plantes à fleurs (Somerville, 2000). Chez les abeilles mellifères (*Apis mellifera*), il représente la principale source de protéines et joue un rôle essentiel dans l'alimentation des larves. Il est collecté sous forme de pelotes fixées aux pattes postérieures des ouvrières, puis rapporté à la ruche où il est transformé en "pain d'abeille" grâce

¹ « Capacité d'un écosystème à retrouver un état d'équilibre après un évènement exceptionnel. », Le Robert

à un processus de fermentation. Cette transformation améliore sa digestibilité et sa conservation. Un apport varié et suffisant en pollen est indispensable pour couvrir les besoins nutritionnels des abeilles (Gilliam, 1979).

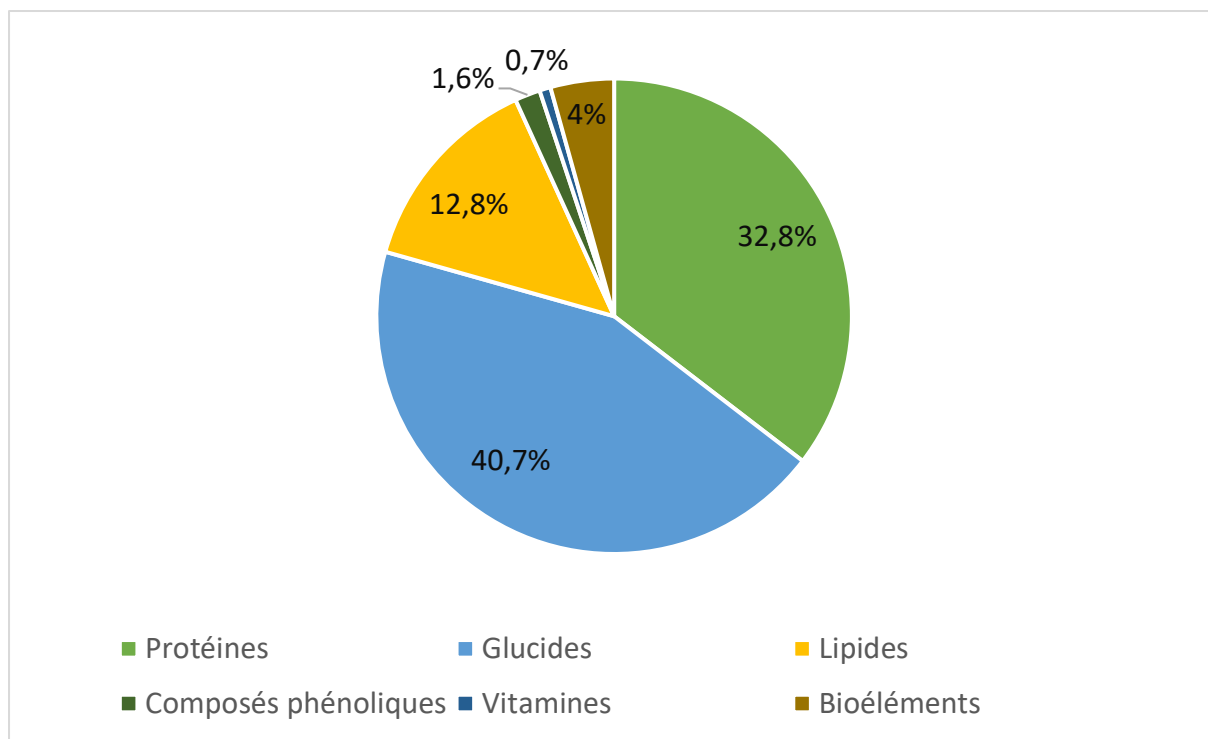


Figure 10 - Composition moyenne d'un grain de pollen (Komosinska-Vassev et al., 2015).

Le pollen se distingue par sa richesse en acides aminés, incluant les neuf acides aminés essentiels que de nombreux animaux ne peuvent synthétiser, parmi lesquels la lysine, la leucine, l'isoleucine, la phénylalanine et la thréonine (Ares et al., 2022). Les glucides qu'il contient jouent un rôle primordial en fournissant l'énergie nécessaire aux pollinisateurs pour leurs déplacements et le développement des larves (Mousavinasab, 2011).

Les lipides du pollen comprennent des acides gras essentiels, tels que l'acide linoléique et l'acide α -linoléique (oméga-3 et oméga-6), qui contribuent au maintien des fonctions cellulaires et à la régulation des processus inflammatoires. Ces composés jouent également un rôle déterminant dans la croissance et la fertilité des insectes pollinisateurs (Thakur & Nanda, 2020). Par ailleurs, le pollen constitue une source précieuse de vitamines (B, C, A, E) et de minéraux (calcium, magnésium, potassium, phosphore, fer, zinc et sélénium), qui participent à la croissance, au renforcement des structures osseuses, au soutien du système immunitaire et à la production d'enzymes (De-Melo & de Almeida-Muradian, 2017).

2.3.2. Nectar comme ressource d'énergie

Le nectar, à l'inverse du pollen, n'est pas produit par toutes les plantes à fleurs. C'est une solution sucrée produite par les nectaires (organe spécialisé comportant des glandes sécrétant le nectar) de certaines plantes, principalement pour attirer les pollinisateurs (Heil, 2011). Il constitue une source énergétique essentielle, pour les insectes butineurs, grâce à sa richesse en glucides (principalement sucrose, glucose et fructose).

La composition du nectar varie selon les espèces végétales, les conditions environnementales, et parfois même au cours de la journée (Wang et al., 2025). Outre les sucres, le nectar peut contenir des acides aminés, des composés phénoliques, des minéraux et parfois même des alcaloïdes ou autres métabolites secondaires, qui influencent l'attractivité et le comportement des pollinisateurs (Nicolson, 2022). Cette variabilité joue un rôle important dans la spécificité des interactions plante-pollinisateur.

2.3.3. Les contaminations du pollen et nectar

Bien que le pollen et le nectar soient des ressources essentielles pour les pollinisateurs, ils peuvent être exposés à diverses sources de contamination qui menacent leur santé. Ces contaminants proviennent principalement de polluants environnementaux, comprenant notamment les pesticides, les éléments traces et les micro-organismes pathogènes.

L'une des principales causes de contamination du pollen et du nectar est l'exposition aux pesticides, à savoir les insecticides, fongicides et herbicides utilisés en agriculture. Ces substances chimiques, appliquées sur les cultures, peuvent être absorbées par les plantes et transférées au pollen et/ou nectar (Trapp et al., 2024). En conséquence, les pollinisateurs, en collectant et consommant ce pollen ou nectar, subissent des effets néfastes, tels qu'une diminution de leur fertilité, une altération de leur comportement et un affaiblissement de leur système immunitaire (Chauzat et al., 2006). Certaines classes de pesticides, comme les néonicotinoïdes, sont particulièrement toxiques pour les abeilles et ont été impliquées dans le déclin des populations d'insectes pollinisateurs (Goulson, 2013).

Le pollen et nectar peuvent être des vecteurs de micro-organismes, dont certains sont pathogènes pour les pollinisateurs. Parmi eux, on retrouve des bactéries, des virus et des champignons qui peuvent être responsables de maladies affectant les colonies d'abeilles (El-

Seedi et al., 2022). Par exemple, le champignon *Nosema* spp., responsable de la nosérose, une maladie infectieuse des abeilles, peut être transmis par le pollen et affaiblir les abeilles en perturbant leur digestion et leur métabolisme (Grupe & Quandt, 2020).

Ils peuvent contenir des concentrations élevées en éléments traces (Roman, 2009). Ces éléments proviennent principalement des activités industrielles et de la pollution des sols et de l'air (Marina Julienne, 2024). Leur accumulation dans l'organisme des pollinisateurs, notamment le plomb, le cadmium, l'arsenic, le cuivre et le zinc, peut provoquer des effets neurotoxiques (altération de l'apprentissage et de la mémoire), réduire l'espérance de vie en accroissant la mortalité des larves et ouvrières, et entraver leurs capacités cognitives (orientation, communication et comportement de butinage (Monchanin et al., 2021 ; Glavan et al., 2024).

Il est toutefois important de noter que les effets négatifs d'une contamination sont généralement plus marqués lors d'un transfert via le pollen que via le nectar, en raison de sa richesse nutritionnelle, de sa capacité à accumuler davantage de pathogènes et de contaminants et de son rôle central dans l'alimentation des larves.

Parmi ces contaminants, les néonicotinoïdes suscitent une attention particulière en raison de leur toxicité élevée et de leur large diffusion dans les paysages agricoles.

2.4. Impact des néonicotinoïdes sur la pollinisation à l'échelle du paysage

2.4.1. Caractéristiques des néonicotinoïdes

Les néonicotinoïdes sont des insecticides de synthèse dérivés de la nicotine, largement employés en agriculture pour lutter contre les insectes ravageurs (Ihara & Matsuda, 2018) (Figure 11). Leur mode d'action repose sur leur rôle d'agonistes sélectifs des récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine, auxquels ils se lient avec une affinité accrue chez les insectes par rapport aux mammifères, garantissant ainsi une toxicité ciblée (Anadón et al., 2020).

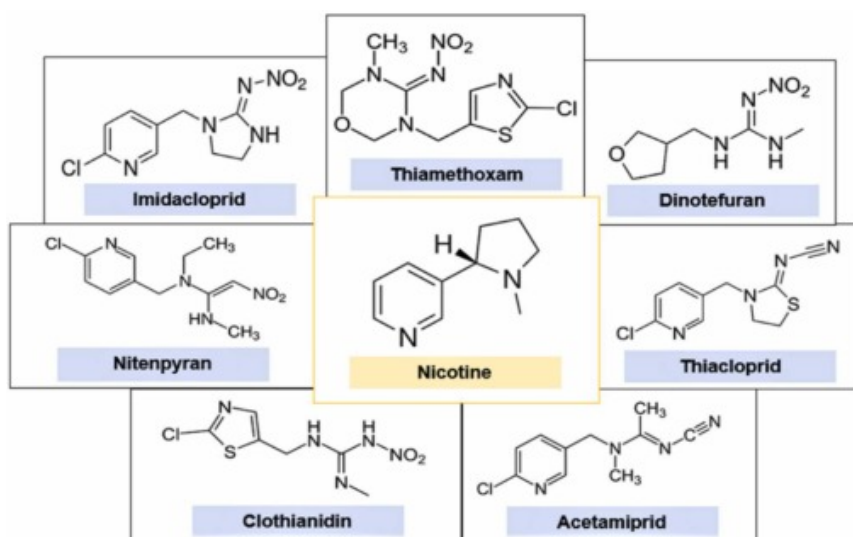


Figure 11 - Principales molécules de néonicotinoïdes dérivées de la nicotine (Alsafran et al., 2022a)

À des doses sublétals, ces substances affectent profondément les pollinisateurs en altérant leur comportement, dégradant des capacités cognitives essentielles comme la mémoire, l'apprentissage et l'orientation (Simon-Delso et al., 2014). En provoquant une stimulation excessive et prolongée des neurones, ces neurotoxiques désorganisent les fonctions vitales des abeilles, perturbent leur activité de butinage et contribuent ainsi à leur déclin progressif.

Les néonicotinoïdes sont principalement appliqués en agriculture par enrobage des semences ou par pulvérisation foliaire. L'enrobage consiste à recouvrir les graines d'insecticide avant le semis, permettant son absorption par la plante en croissance et assurant ainsi une protection dès les premiers stades de développement (Hladik et al., 2018). Cette technique est particulièrement utilisée dans la culture de la betterave sucrière pour lutter contre les ravageurs souterrains (Gasparic et al., 2020). La pulvérisation foliaire, quant à elle, consiste à appliquer directement l'insecticide sur les parties aériennes des plantes (Mamy et al., 2025). Bien qu'efficace contre les insectes nuisibles, ces méthodes présentent un risque de dispersion dans l'environnement, affectant potentiellement des espèces non ciblées et perturbant les écosystèmes.

Les substances actives les plus courantes incluent l'acétamipride, la clothianidine, l'imidaclopride, le thiaclopride et le thiaméthoxame. Actuellement, seuls l'acétamipride, le sulfoxaflor et le flupyradifurone demeurent autorisés dans l'Union européenne (EU Pesticides Database, 2022). Depuis 2018, l'emploi de ces insecticides est sévèrement restreint (Wintermantel et al., 2018). Certaines cultures, telles que la betterave sucrière, ont pu bénéficier de dérogations strictes en cas de menace avérée pour les récoltes (EFSA, 2021). En France, par

exemple, des dérogations ont autorisé l'utilisation de semences enrobées d'imidaclopride ou de thiaméthoxame pour protéger les cultures contre les pucerons vecteurs de viroses (JORF 2021 ; JORF 2022).

Les néonicotinoïdes sont des molécules hydrophiles faiblement adsorbées par les particules du sol, ce qui leur confère une grande mobilité dans les sols (Lewis et al., 2016). Leur persistance varie fortement selon la molécule, avec des demi-vies pouvant atteindre plusieurs années en conditions naturelles (Alsafran et al., 2022b) (Tableau 1). Leur dégradation génère aussi divers métabolites, dont certains restent mal connus. En raison de leur usage massif et de leur forte persistance dans l'environnement, ces insecticides constituent une préoccupation majeure en matière de santé environnementale (Mamy et al., 2025).

Tableau 1 - Temps de demi-vie des différentes molécules de néonicotinoïdes (Borsuah et al., 2020)

Molécule	Solubilité dans eau (mg/L)	Temps demi-vie dans sol (Jours)
Acetamiprid	2950	31–450
Clothianidin	340	9–1250
Dinotefuran	39830	75–82
Imidacloprid	610	17–6931
Nitenpyram	590000	0–8
Thiacloprid	184	3.4–1000
Thiamethoxam	4100	6–3001

2.4.2. Transfert sol-plante-pollinisateur des néonicotinoïdes dans l'environnement

Les néonicotinoïdes ont une biodégradabilité qui varie selon les molécules, certains présentant une forte persistance dans les sols, les eaux et les tissus végétaux (Zhang et al., 2023). Leurs résidus, actifs durant plusieurs mois voire plusieurs années, prolongent ainsi l'exposition des organismes non ciblés (Bonmatin et al., 2015).

Leur nature systémique favorise leur diffusion au sein des végétaux après absorption par les racines ou les feuilles, ce qui conduit à leur présence dans l'ensemble des tissus de la plante, y compris le nectar et le pollen (Simon-Delso et al., 2014). Cette contamination des ressources florales constitue une menace directe pour les pollinisateurs, qui collectent ces substances lors du butinage, puis les ingèrent ultérieurement sous forme de pain d'abeille dans la ruche.

Les néonicotinoïdes peuvent se disperser par divers mécanismes environnementaux avant même d'être absorbés par les plantes (Bonmatin et al., 2015). Leur forte solubilité dans l'eau, couplée à leur faible affinité pour la matière organique du sol, leur confère une mobilité importante dans les sols et les systèmes hydriques. Ce comportement favorise leur transport vers les nappes phréatiques, contribuant ainsi à la pollution des écosystèmes aquatiques (Simon-Delso et al., 2014). Leur potentiel de lessivage est notamment évalué à l'aide du GUS (Groundwater Ubiquity Score), un indice combinant la persistance d'une molécule (mesurée par sa demi-vie dans le sol) et sa mobilité (évaluée par le coefficient de sorption organique, Koc). Les scores GUS montrent que presque tous les néonicotinoïdes, à l'exception du thiaclopride, ont un fort potentiel de lixiviation (Li et al., 2023). Cela signifie qu'ils peuvent facilement migrer dans le sol et atteindre les nappes phréatiques. Leur persistance dans l'environnement et leur mobilité dans l'eau augmentent également le risque de contamination par ruissellement, exposant les zones adjacentes aux cultures traitées. Cette dispersion étendue peut entraîner le transfert de résidus vers des cultures non ciblées, affectant involontairement d'autres végétaux et organismes (Li et al., 2018) (Figure 12). Par ailleurs, lors des semis, l'enrobage des semences génère des poussières contaminées qui peuvent se déposer sur la végétation environnante, représentant une voie d'exposition supplémentaire pour les espèces non ciblées.

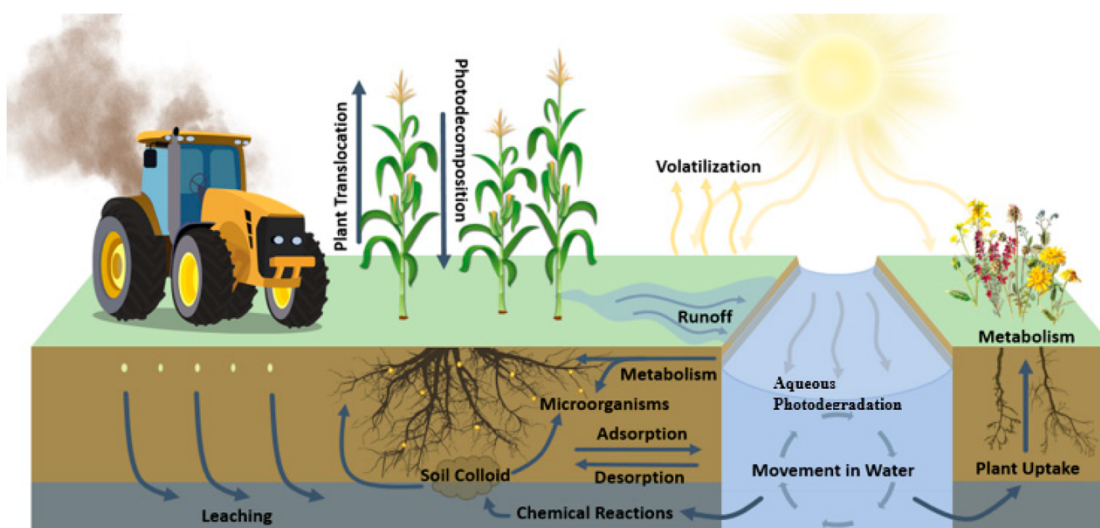


Figure 12 - Facteurs affectant le devenir et le transport des néonicotinoïdes dans les agroécosystèmes (Borsuah et al., 2020)

3. Objectifs et démarche

Le déclin des insectes pollinisateurs est aujourd'hui bien documenté et s'explique en grande partie par les pratiques agricoles intensives, notamment l'usage généralisé de pesticides comme les néonicotinoïdes, ainsi que par la perte de biodiversité florale dans les paysages agricoles.

Ce mémoire se concentre sur une dynamique encore peu explorée de manière intégrée : l'interaction entre la contamination chimique des sols et la disponibilité en ressources florales à l'échelle du paysage agricole. Ces deux facteurs, en agissant simultanément, peuvent amplifier leurs effets sur la santé des colonies des pollinisateurs.

A partir de cette problématique, la question de recherche suivante est posée :

Peut-on évaluer la santé des pollinisateurs à partir d'un couplage des ressources florales et l'exposition aux néonicotinoïdes dans les paysages agricoles ?

Pour y répondre, ce travail vise à évaluer, sur plusieurs sites d'étude, l'influence conjointe de des ressources florales et de la contamination des sols par les néonicotinoïdes sur la santé des colonies de *Bombus terrestris*. L'approche repose sur l'analyse croisée de trois types de données :

- Les concentrations en néonicotinoïdes dans les sols,
- La densité florale mesurée dans le paysage environnant,
- Des indicateurs biologiques reflétant l'état de santé des colonies.

Ce travail contribue ainsi à une meilleure compréhension des interactions entre pressions chimiques et disponibilité nutritionnelle dans les milieux agricoles, et propose une approche intégrative pour évaluer la qualité écologique des habitats sur les pollinisateurs (Figure 13).

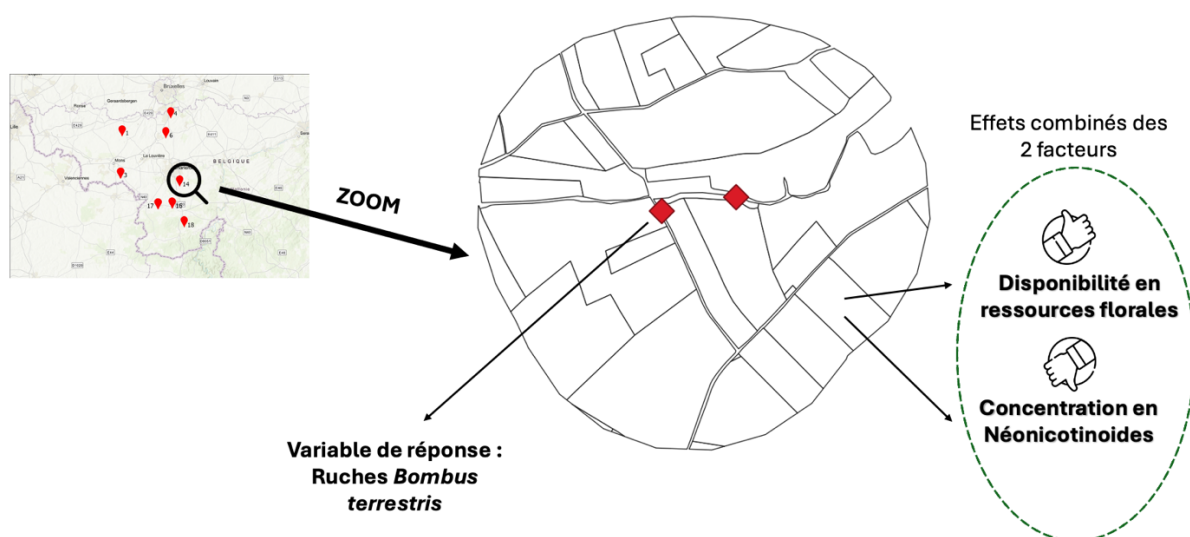


Figure 13 – Approche générale du mémoire

4. Matériels et méthodes

4.1. Sites d'étude

Trente sites ont été sélectionnés en Wallonie (Figure 14). Ces sites font partie du projet NUTRIBEE² et ont été sélectionnés par Léna Jeannerod dans le cadre de sa thèse.

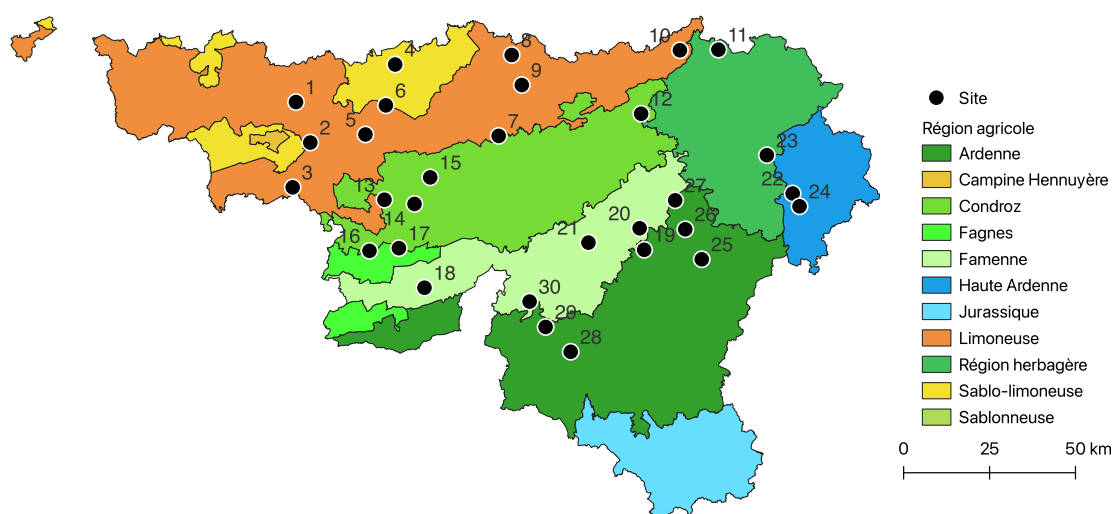


Figure 14 - Carte localisation des différents sites selon les régions agricoles de Wallonie

Les sites ont été sélectionnés et cartographiés à l'aide de l'outil Sampling Plan de QGIS 3.20. La sélection des sites devait tenir compte de la diversité des pratiques agricoles dans la zone d'étude. Les sites ont été répartis sur différentes régions agricoles. Sur chaque site, à l'aide de parcelles agricoles, d'orthophotographies, un transect de 500 m de longueur et de 10 m de largeur a été tracé pour définir le périmètre. Celui-ci traverse de nombreux biotopes définis comme des zones présentant un type de végétation uniforme et spécifique. Les sites sélectionnés devaient exclure les zones urbanisées dans une zone tampon de 500 m afin de se concentrer uniquement sur les ressources florales spécifiques aux paysages agricoles. Ce rayon de 500 mètres correspond à la distance moyenne de butinage observée chez *Bombus terrestris*, l'espèce ayant servi de référence pour établir cette mesure. Chaque site correspond donc à une zone moyenne de butinage d'abeilles sauvages dans un paysage agricole.

² Le projet multidisciplinaire NUTRIBEE se concentre sur la qualité nutritionnelle du pollen et du nectar récoltés et son impact sur le développement réussi des populations d'abeilles sauvages.

La Wallonie se caractérise par un climat tempéré océanique avec une température moyenne de 11,9 C° et des précipitation annuelle répartie sur toute l'année allant de 800 à 1200 mm/an (IRM, 2024). Chaque site étudié présente une configuration paysagère spécifique, en partie influencée par la région agricole dans laquelle il se trouve. Les régions limoneuse et sablo-limoneuse, reconnues pour la fertilité de leurs sols, sont majoritairement orientées vers les grandes cultures telles que la betterave sucrière (*Beta vulgaris*) et la pomme de terre (*Solanum tuberosum*) (SPW, n.d.-a). En revanche, bien que le Condroz possède un relief plus vallonné, il bénéficie également de sols globalement fertiles. À l'opposé, les régions de la Fagne et de la Famenne, caractérisées par des sols pauvres, se consacrent principalement à l'élevage bovin et à la culture de plantes fourragères.

4.2. Concentrations en néonicotinoïdes

4.2.1. Choix des zones et collecte des échantillons

Sur chacun des 30 sites, des échantillons ont été prélevés sur différentes zones. La sélection de ces zones s'est basée sur la diversité des successions culturales entre 2015 et 2023, les caractéristiques de drainage, la texture des sols, ainsi que la topographie afin de refléter à la fois les spécificités locales et la diversité régionale du paysage. Les informations pédologiques ont été obtenues à partir de la Carte Numérique des Sols de Wallonie (SPW, n.d.-b).

Dans chaque zone, trois répliquats ont été prélevés (Figure 15). Chaque répliquat comprenait six prélèvements de sols sur les 30 premiers centimètres disposés en cercle, dans un rayon de 1 m. Après homogénéisation, environ 100 g de l'échantillon a été conditionnés dans des sacs plastiques. Ces sacs ont été conservés à -18 °C en vue d l'analyse des concentrations en néonicotinoïdes par le CRA-W (Centre wallon de Recherches agronomiques, Gembloux). Au total, 140 échantillons ont été analysés.

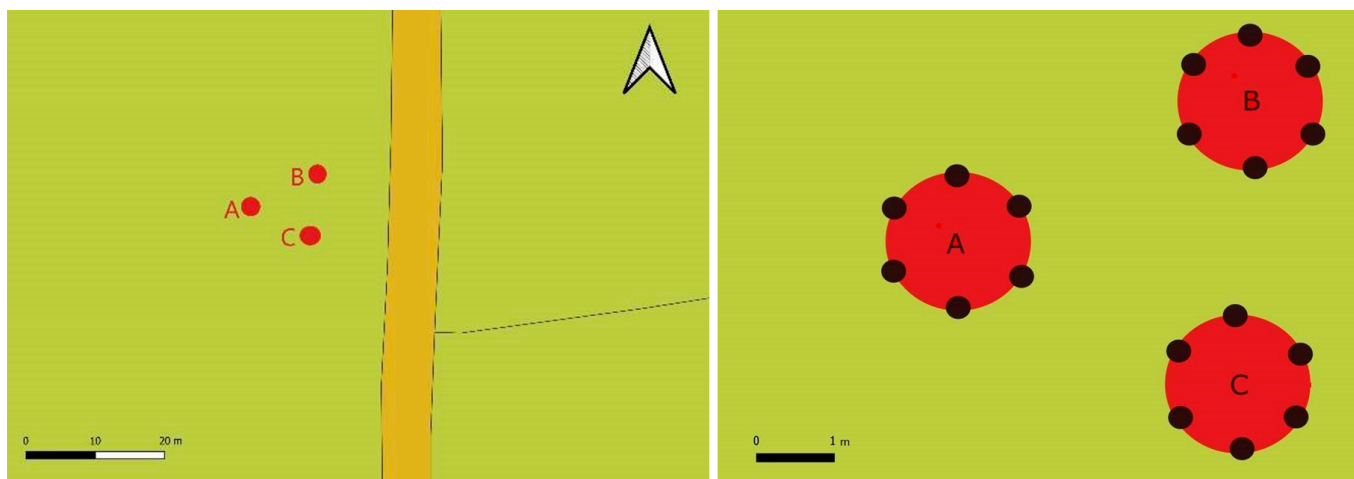


Figure 15 - Exemple d'un échantillonnage avec trois répliqués (A, B et C)

Les échantillons ont été collectés tant dans des parcelles agricoles avec suspicion d'application de néonicotinoïdes que dans des parcelles sans applications (par exemple, des prairies).

4.2.2. Quantification de la concentration en néonicotinoïdes

La quantification des concentrations en néonicotinoïdes (acétamipride, clothianidine, fupyradifurone, imidaclopride, sulfoxaflor, thiaclopride et thiaméthoxame) des différents échantillons de sols a été réalisée au CRA-W. La méthodologie utilisée est présente en (Annexe 7.1).

4.2.3. Données de ressources florales

Les structures paysagères des sites d'étude ont été cartographiées via des observations de terrain et l'analyse d'orthophotographies wallonnes de 2021 (résolution 25 cm), à l'aide de QGIS (v3.16.15). Divers éléments comme les parcelles agricoles, prairies, bois, haies, étangs, routes, cours d'eau et mesures agroenvironnementales (MAEC³) ont été vectorisés. En tout, 45 types de biotopes ont été définis en fonction de la gestion et de la flore associée.

De nombreuses visites sur les trente sites d'échantillonnages ont été effectuées par Léna Jeannerod de 2021 à 2023 et ont permis de réaliser des relevés dans les différents biotopes. À chaque visite, ces différentes étapes ont été réalisées le long du transect de 500 m :

- Seules les espèces à pollinisation entomophile sont prises en compte ;

³ Les MAEC (Mesures Agro-Environnementales et Climatiques) sont des dispositifs de la PAC visant à soutenir des pratiques agricoles favorables à l'environnement et au climat

- Les espèces en fleurs sont identifiées dans chaque biotope ; la surface du « patch » (aire dans laquelle on retrouve ces fleurs) et densité florale (fleurs/m²) sont mesurées ;
- Dans les biotopes linéaires, la densité est estimée via 3 quadrats de 1 m² ;
- Pour les biotopes à faible densité (<10 fleurs/m²) ou à distribution agrégée, on utilise 3 quadrats de 25 m².

Une fois la densité florale calculée, les données de quantité de pollen par fleur, issues de la littérature, ont été multipliées par les densités florales afin d’obtenir une densité de pollen par mètre carré pour chaque espèce en fonction du biotope.

4.3. Données santé des pollinisateurs

Seize ruches ont été installées sur 8 sites différents (deux colonies par site). Les 8 sites choisis font parties des 30 sélectionnés au préalable par Léna Jeannerod (Figure 16). Ces différents sites se situent sur plusieurs régions agricoles : Sablo-limoneuse, Limoneuse, Condroz, Fagnes, Famenne. Ces 16 colonies correspondent à des zones tampons (buffers) de 500 m, et les parcelles qu’elles couvrent représentent environ 33 % de l’ensemble des parcelles étudiées.

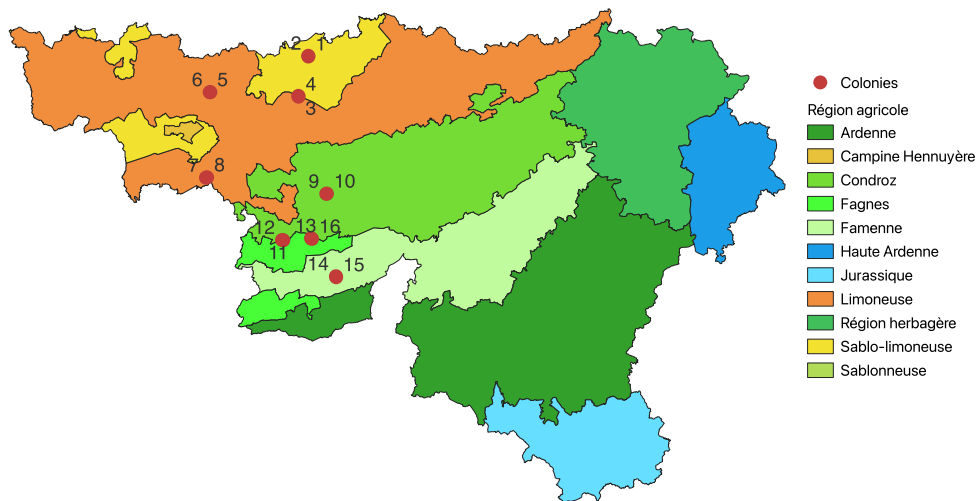


Figure 16 - Carte localisation ruches en Wallonie

Les 8 sites ont été sélectionnés pour leur contraste en matière de ressources florales. Sur chaque site divers biotopes sont présents : cultures (céréales, maïs, colza, pomme de terre, lin, betterave), bordures (de cultures, de routes, de prairies), bandes enherbées, haies et lisières forestières, prairies de fauche et prairies pâturées.

Les ruches utilisées sont 16 colonies de *Bombus terrestris* d'environ 80 ouvrières (Standard Hive, Biobest Group, Westerlo, Belgique). Cette espèce de bourdons a été choisie en raison de son caractère de pollinisateur généraliste. Elle présente une grande capacité d'adaptation à une variété de conditions environnementales et florales. Les ruches sont en carton et constituées d'un compartiment en plastique avec un réservoir contenant une solution sucrée remplaçant le nectar. Afin de les protéger de l'humidité et des conditions climatiques, chaque ruche a été mise dans une structure en bois, avec une trappe d'ouverture pour faciliter la collecte des données, ainsi que surélevées de 20 cm (Figure 17).

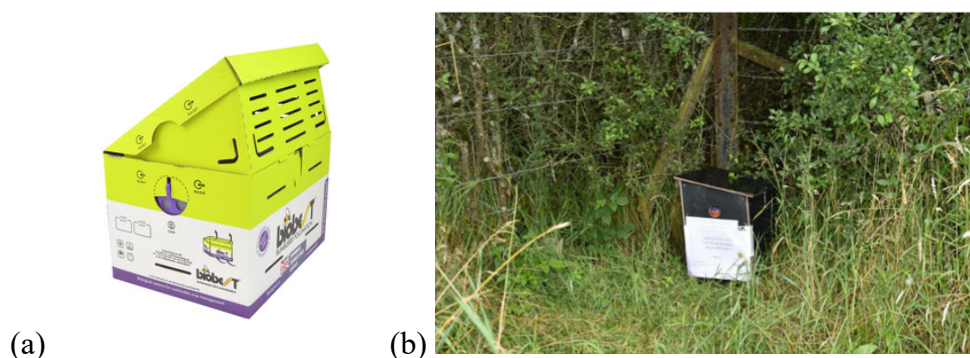


Figure 17 - Exemple d'une ruche de la société Biobest (a) et de la structure en bois d'une ruche sur le terrain (b)

Les ruches ont été placées le 24 juin 2023 et récupérées le 13 juillet 2023. Sur chaque site, elles ont été espacées de 100 à 150 m, permettant de mettre en évidence des variations intra-sites. Elles ont toutes été positionnées en lisières de champ, de prairie ou zone boisée afin d'être dissimulées des regards indiscrets et de réduire les sources de perturbations.

Le suivi des ruches a été effectué entre le 24 juin et le 13 juillet 2023, avec cinq relevés réalisés à intervalles de 1 à 4 jours au cours de cette période d'activité. Après 6 jours d'installation, les réserves de ressources sucrières ont été vidées, obligeant les bourdons à se servir uniquement de ressources extérieures comme apport de nourriture. L'expérience s'est arrêtée lorsque des jeunes reines ont été observées sortant de la colonie, signe qu'un essaimage d'une colonie allait se produire. Les ruches ont été rapportées au laboratoire avant cet essaimage pour maximiser les données collectées.

Différents types de données ont été collectées :

- 1) Données biométriques / morphologiques de la ruche : longueur, largeur, différentes masses (initiale, avec carton, sans carton, brute)
- 2) Démographique de la ruche : nombre d'ouvrières, larves, œufs, males, reines

- 3) Données sur l'état sanitaire de la ruche : nombre de parasites par bourdons infectés.
- 4) Développement et structure du nid
- 5) Diamètres des individus (ouvrières, reines, mâles)
- 6) Activités de la colonie : entrées et sorties

Parmi les données récoltées, six indicateurs clés ont été retenus pour évaluer la santé des colonies de *Bombus terrestris*, selon les travaux préliminaires de Tatum Baussart et Théophile Dumoulin et les critères couramment utilisés dans la littérature. Ces indicateurs couvrent les dimensions comportementales, morphologiques, reproductives et sanitaires.

1. Masse brute de la colonie : reflète l'accumulation nette de biomasse sur la période de suivi.
2. Activité de butinage : nombre d'entrées/sorties en 15 minutes. Cinq relevés ont été effectués tout le long de la période de suivi.
3. Nombre de mâles : indicateurs du développement reproductif et de la maturité physiologique.
4. Nombre de reines (gynes) : indicateurs du développement reproductif et de la maturité physiologique.
5. Diamètre thoracique moyen des ouvrières : distance entre les deux tegulae situés aux points d'insertion des ailes.
6. Charge parasitaire moyenne : nombre moyen de parasites par individu infecté, indicateur du stress biologique.

4.4. Traitement des données

Le traitement de données a été effectué grâce au logiciel RStudio (version 4.4.3).

4.4.1. Classification des types de rotation

Cette classification a été réalisée par Maxime Buron. Une simplification du système de classification des cultures en 54 catégories a été effectuée. Ensuite, les séquences de cultures de chaque parcelle sur les 30 sites d'études ont été comparées entre elles selon trois critères : le nombre d'occurrences de chaque culture sur une période de 6 ans précédant 2023, la distance de Levenshtein et la plus longue sous-séquence commune. Une classification hiérarchique a été

utilisée pour regrouper les différentes rotations à l'aide de la fonction *hclust* du package *stats*, en utilisant la méthode de Ward à variance minimale (Murtagh & Legendre, 2014). Les parcelles utilisées pour la classification sont celles des sites sélectionnés afin de représenter la diversité des cultures pratiquées en Wallonie (30 sites ; 1181 parcelles). Le nombre optimal de classes de rotation a été déterminé à l'aide du critère d'inertie, puis confirmé par une inspection visuelle. Au total, 12 classes de rotation ont été retenues (Figure 18). L'ordonnée représente les occurrence moyenne sur 6 ans de chaque culture.

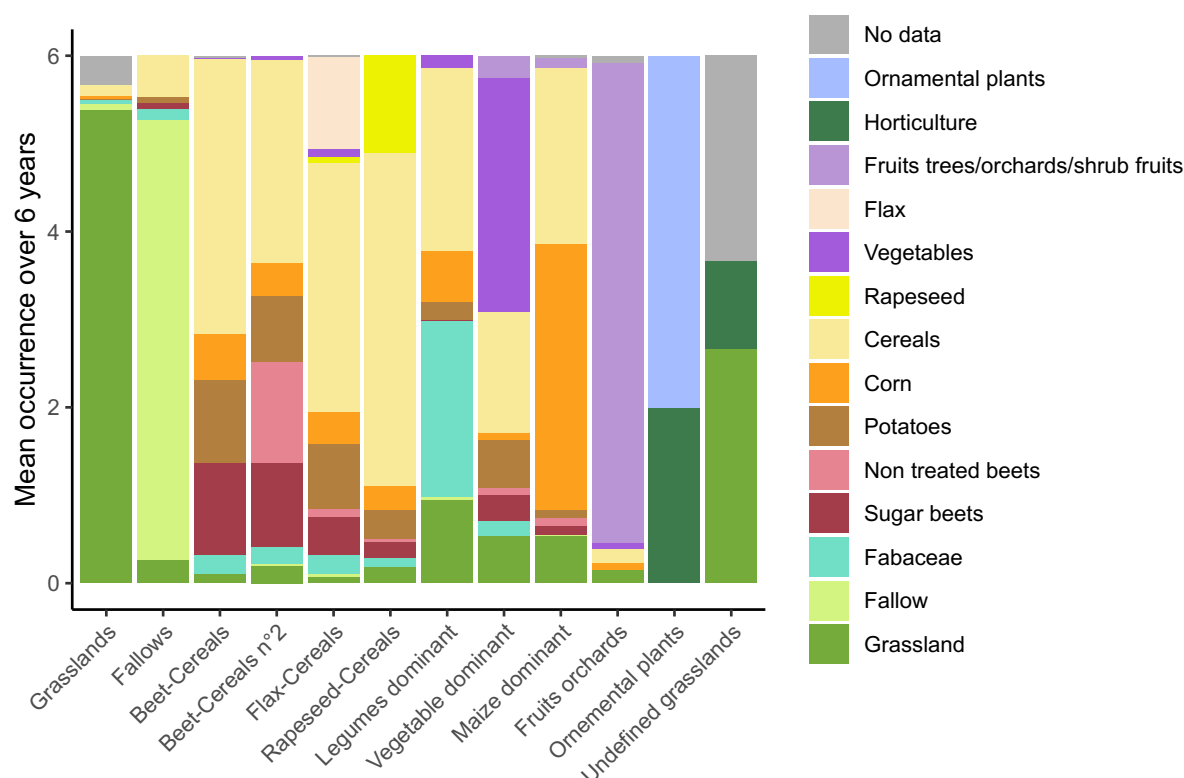


Figure 18 - Classification des parcelles en 12 types de rotations

4.4.2. Extrapolation des échantillons de néo

A partir des échantillons collectés et du type de parcelle associé, un tableau recensant les différentes variables statistiques de concentrations de toutes les molécules présentes a été créé. Ce tableau a permis ensuite d'extrapoler les concentrations en ng/g estimées de néonicotinoïdes pour l'ensemble des sites, y compris ceux qui n'ont pas été directement échantillonnés en fonction de leur rotation de culture, le type de molécule de néonicotinoïdes et l'occurrence des cultures potentiellement traitées avec des néonicotinoïdes.

Parmi les différentes molécules de néonicotinoïdes, la clothianidine et l'imidaclopride ont été retenues, en raison de leur fréquence de détection élevée par rapport aux autres composés (Annexe 7.2), ainsi que de leur utilisation dans certaines cultures agricoles : toutes deux ont été autorisées dans les légumineuses, tandis que la clothianidine a été utilisée dans les betteraves sucrières jusqu'en 2023 (Phytoweb, 2025).

La DL50 (dose létale médiane) correspond à la quantité nécessaire pour provoquer la mort de 50 % d'une population testée. Les deux molécules ont une DL50 orale assez similaire ($DL_{50} \approx 0.0038\text{--}0.004 \mu\text{g}/\text{abeille}$) ce qui signifie une toxicité élevée (SAgE pesticides, 2025). Pour chaque échantillon, les concentrations de clothianidine et d'imidaclopride ont été additionnées. Une moyenne de ces valeurs a ensuite été calculée par type de rotation de culture.

Ensuite, le nombre de culture de betteraves sucrières et de légumineuses au cours des 9 dernières années, de 2015 à 2023, a été calculé pour chaque parcelle des différents sites. Cette échelle de temps s'explique par leur temps de demi-vie élevée des néonicotinoïdes dans le sol. Les bords de champs et les haies ont également été intégrés aux parcelles, sous la rotation « Fallow », car aucun néonicotinoïde n'est supposé y avoir été appliqué directement. Cela permet de mieux représenter l'ensemble des biotopes présents sur chaque site. La Figure 19 représente le nombre occurrences de cultures potentiellement contaminées (betteraves sucrières et légumineuses) au cours des 9 derniers années pour les différents types de rotations. On remarque qu'on en retrouve de nombreuses dans toutes les rotations. Il est donc important de prendre en compte un facteur d'occurrence de culture potentiellement contaminées afin de distinguer les concentrations en néonicotinoïdes des différentes parcelles lors de l'extrapolation. En effet, au plus il y a eu de culture contaminée dans une même parcelle, au plus la concentration a tendance à être élevée.

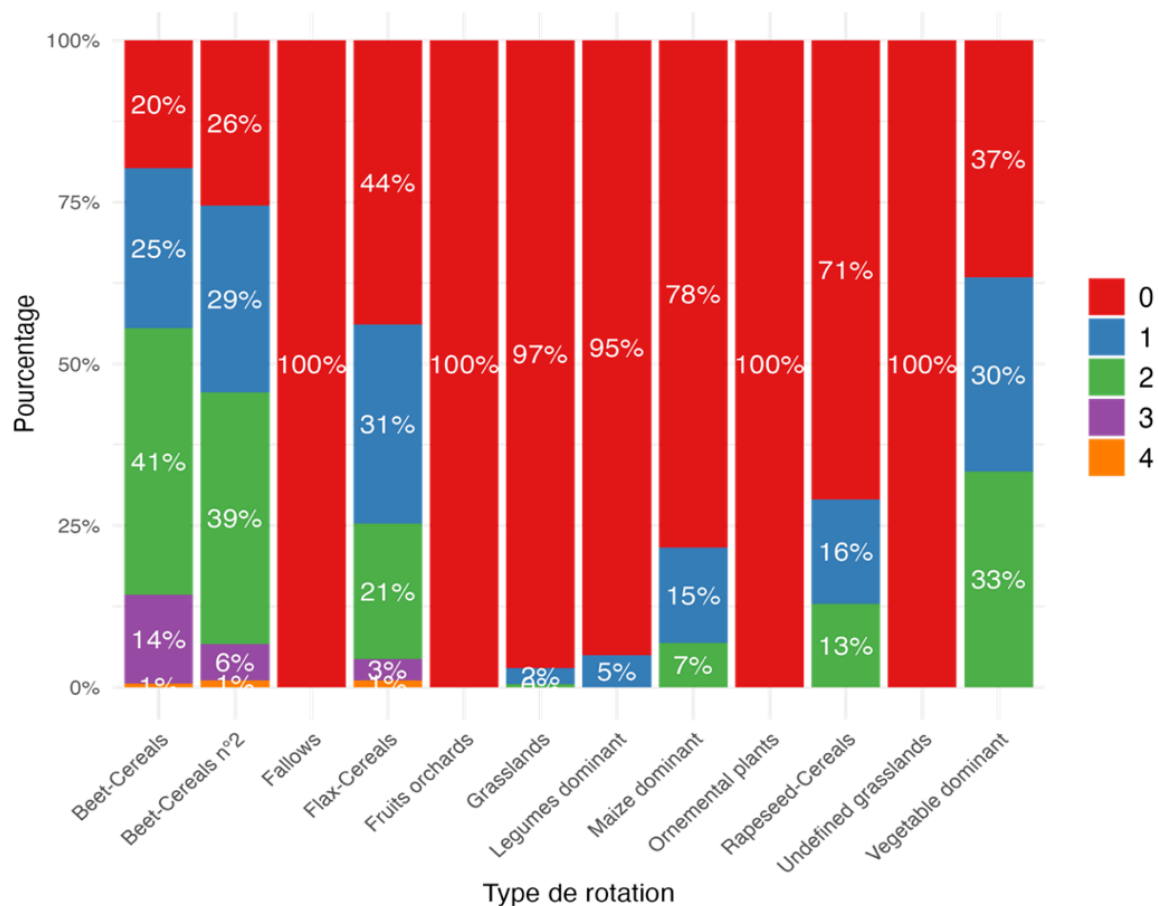


Figure 19 - Nombre occurrence de parcelles de betteraves sucrières et de légumineuses par type de rotation

L'équation finale pour l'extrapolation des valeurs de néonicotinoïdes à chaque parcelle ressemble donc à cela :

$$\text{Valeur}_{\text{parcelle}} = (\bar{C}_{\text{rotation}}) \times F_{\text{occurrence}}$$

- $\bar{C}_{\text{rotation}}$: moyenne des sommes de concentrations mesurées en clothianidine et imidaclopride dans les échantillons correspondant à un même type de rotation que celle de la parcelle (c'est-à-dire obtenue sur un ensemble de parcelles similaires).
- $F_{\text{occurrence}}$: facteur d'ajustement appliqué individuellement à chaque parcelle, en fonction du nombre d'occurrences de cultures considérées comme potentiellement contaminantes (betteraves sucrières et légumineuses) au cours des 9 dernières années.

Un facteur d'occurrence spécifique a été fixé pour les rotations ne comportant aucune culture de betteraves sucrières et de légumineuses durant les neuf dernières années. Ce coefficient a arbitrairement été fixé à 0,7, afin de refléter une contamination résiduelle potentielle, même en

l'absence directe de culture potentiellement contaminé, tout en évitant de sous-estimer totalement les concentrations.

Le facteur d'occurrence pour la présence de culture potentiellement contaminée a été calculé grâce à un facteur de pondération empirique. Celui-ci repose sur les travaux de Buron et al. (2025, soumis), qui a établi des pentes de concentration de 1,36 pour la clothianidine et 0,349 pour l'imidaclopride (annexe 7.3). Ces valeurs traduisent l'augmentation observée de la concentration en néonicotinoïdes à chaque occurrence supplémentaire de betteraves sucrières et légumineuses dans la rotation. Le facteur empirique retenu correspond à la moyenne de ces deux pentes (soit 0,855).

Afin de refléter le risque cumulatif associé à la fréquence des cultures de betteraves sucrières et de légumineuses, les moyennes observées des échantillons de tous les sites ont été recalculées par type de rotation. Pour chaque type de rotation, le nombre de parcelles contenant 0, 1, 2, 3... occurrences de cultures potentiellement contaminées a été dénombré (n_0 , n_1 , n_2 , n_3 ...).

A chaque occurrence correspond un facteur d'exposition croissant, et le score total de chaque groupe est modélisé selon les équations suivantes :

Tableau 2 - Score total de chaque groupe par nombre d'occurrence

Nombre occurrence	Score calculé
0	$0,7 * X * n_0$
1	$1 * X * n_1$
2	$(1 + 0,855) * X * n_2$
3	$(1 + 2 * 0,855) * X * n_3$
...	...
k	$(1 + (k-1) * 0,855) * X * n(k)$

X correspond au score ajusté de néonicotinoïdes par rotation. Il est obtenu grâce à une formule obtenue sur base de ces équations, permettant de recalculer les moyennes sur base des poids de chaque occurrence.

$$Moyenne = ((0,7 \times X \times n_0) + (1 \times X \times n_1) + ((1 + 0,855) \times X \times n_2) + ((1 + 2 \times 0,855) \times X \times n_3) + \dots) / (n_0 + n_1 + n_2 + n_3 + \dots + n(k))$$

Avec :

- X : score ajusté de néonicotinoïdes par rotation
- Moyenne : moyenne des concentrations pour d'imidaclopride et de clothianidine pour une rotation, mesurée sur les parcelles (à partir des échantillons)
- $n_0, n_1, n_2, n_3, \dots$: nombre de parcelles de la rotation avec respectivement 0, 1, 2, 3, ... occurrences de culture de betteraves sucrières et/ou de légumineuses
- Facteur empirique = 0,855

Cette formule permet d'obtenir une estimation plus représentative de l'exposition réelle à ces molécules, en intégrant à la fois la structure des rotations et un facteur empirique modélisant l'augmentation réelle des concentrations avec chaque occurrence.

Pour finir, après que chaque nouvelle concentration ait été calculée, le score a été calculé pour chaque parcelle sur base du type de rotation et de son occurrence de cultures potentiellement contaminées, en utilisant la formule ci-dessous :

$$Score\ parcelle = \begin{cases} 0,7 * X & si\ nb_occurrence = 0 \\ X & si\ nb_occurrence = 1 \\ X * (1 + 0,855 * nb_occurrence) & si\ nb_occurrence > 1 \end{cases}$$

4.4.3. Extrapolation des densités florales

Comme pour les données de concentration en néonicotinoïdes, l'objectif est d'extrapoler la densité florale pour chaque parcelle et pour chaque espèce végétale présente. La méthode utilisée est celle de Léna Jeannerod qui permet d'estimer le nombre d'unités florales par mètre carré pour chaque espèce identifiée dans chaque type de biotope (Figure 20).

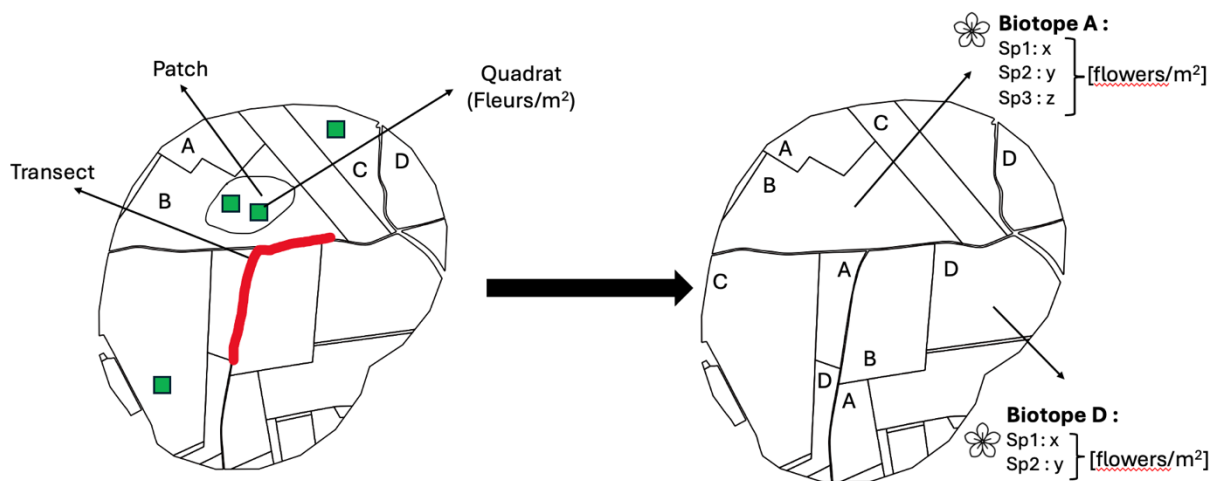


Figure 20 – Méthode utilisée pour extrapoler les ressources florales

Les relevés ont été effectués dans des patchs représentatifs, afin d'extrapoler les densités florales (exprimées en unités florales/m²) à l'ensemble de la surface du biotope par site. La surface couverte par chaque patch dans les différents biotopes a été calculé, puis multiplié par les densités florales correspondantes, afin d'éviter une surestimation. Ensuite, lorsqu'il existait plusieurs relevés de la même espèce dans un même biotope sur un même site, ce sont les moyennes des densités florales de ces relevés qui ont été prises (les relevés ayant été pris entre 2021 et 2023, certains sites ont été visités plusieurs fois).

Cela a permis de construire une base de données classifiant chaque parcelle selon les espèces florales présentes et leur densité, en fonction du biotope auquel elle appartient. Pour certains sites, aucun relevé n'a été réalisé pour certaines espèces ou certains biotopes. Ces absences s'expliquent principalement par des contraintes logistiques : le nombre élevé de sites à visiter, la dispersion géographique, et le temps limité disponible pour les campagnes de terrain rendent difficile une couverture exhaustive. De plus, certaines parcelles ne présentaient pas de floraison visible au moment du passage, ce qui a également limité les relevés possibles.

Une fois la densité florale calculée, les données de quantité de pollen par fleur ont été multipliées par les densités florales afin d'obtenir une densité de pollen par mètre carré pour chaque espèce en fonction du biotope. Les densités de pollen ont ensuite été moyennée par biotope pour obtenir un score de densité de pollen moyen disponible pour les pollinisateurs (exprimée en $\mu\text{L}/\text{m}^2$) par biotope. Cela permet de ne pas sous-estimer les parcelles dans des sites ou des relevés n'ont pas été effectués.

Quatre types de biotopes ont mérité une attention particulière en raison de leur fort potentiel mellifère : le colza (*Brassica napus*), le lin (*Linum usitatissimum*), la moutarde (*Sinapis alba*) et les pois (*Pisum sativum*). À l'exception du colza, tous sont en floraison durant la période de collecte des données de santé (fin juin à mi-juillet). Pour les biotopes de colza et l'espèce *Brassica napus* une valeur nulle a été appliquée afin que celui-ci ne devienne pas une surestimation des densités de pollen.

Il en est de même pour le biotope pomme de terre. Une valeur nulle a été appliquée à l'espèce *Solanum tuberosum*. Cette espèce a un haut tût de production de pollen, or on sait que celui-ci n'est pas mellifère (Agence canadienne d'inspection des aliments, 2015).

4.4.4. Création du modèle

Les extrapolations des deux facteurs ont d'abord été agrégées à l'échelle des parcelles, puis à celles des colonies, afin d'obtenir un score individuel par colonie. Cette seconde étape intègre la dimension spatiale des données.

Pour évaluer la pertinence des scores ainsi obtenus vis-à-vis de l'état de santé des pollinisateurs, des corrélations ont été calculées entre les scores obtenus par colonie et les différents indicateurs de santé. La corrélation de Spearman a été utilisée, en raison de sa capacité à mesurer des relations monotones sans supposer la normalité ni la linéarité des données, ce qui la rend adaptée au contexte écologique étudié (Figure 21).

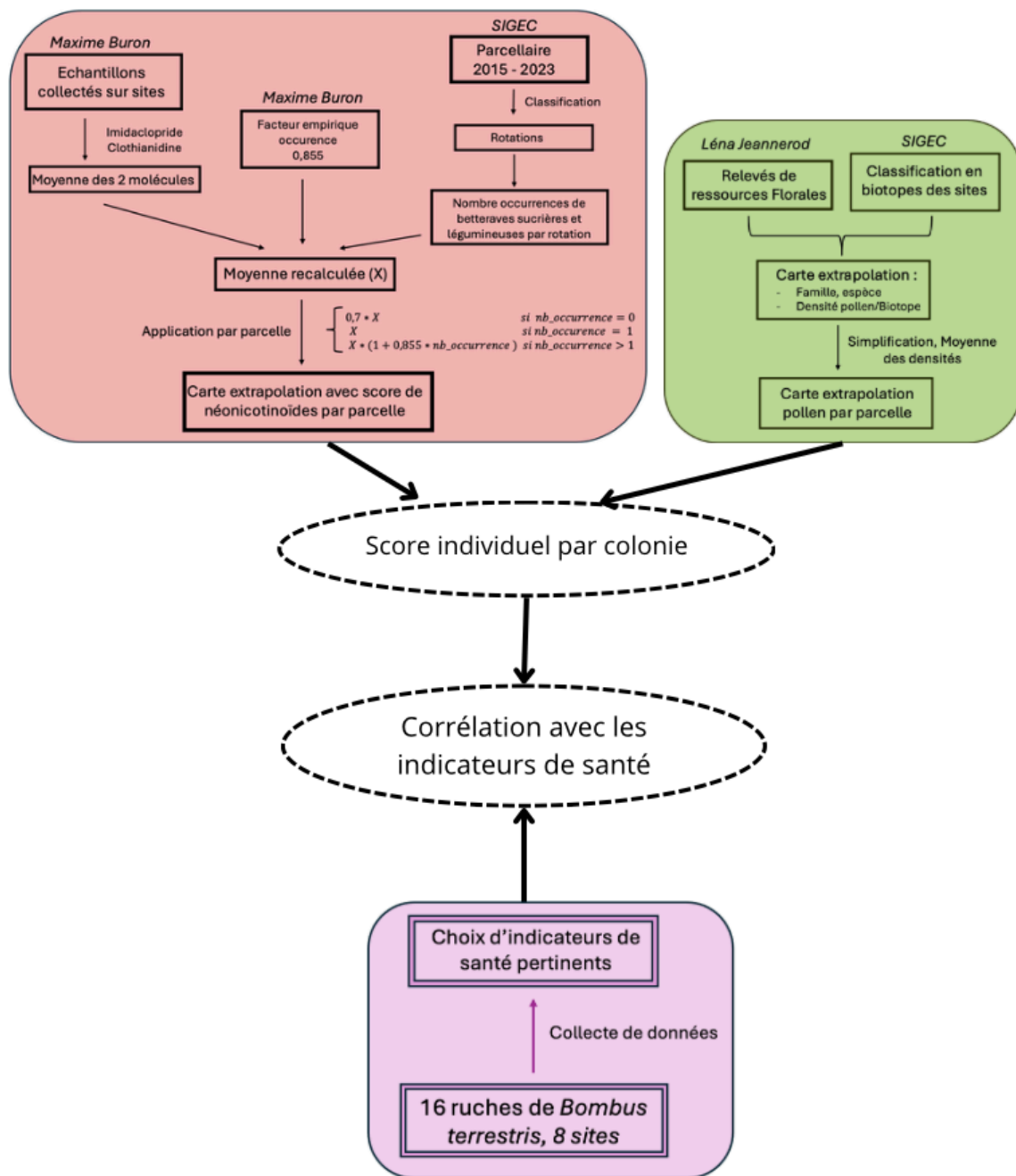


Figure 21 - Schéma de la méthodologie du modèle avec les liens entre facteurs et santé des pollinisateurs. En rouge, le facteur néonicotinoïdes ; en vert le facteur densité pollen et en mauve indicateurs de santé des pollinisateurs.

5. Résultats et discussions

Cette section présente l'ensemble des résultats obtenus dans les différentes parties de ce mémoire : les néonicotinoïdes, les ressources florales et les indicateurs de santé. Elle vise à établir des liens si il y en a entre ces différents paramètres.

5.1. Caractérisation des contextes d'expositions

Dans cette première partie, les différentes colonies ont été comparées sur la base des types de rotations culturales présents dans leur environnement immédiat. L'objectif est d'offrir une première description des colonies en lien avec leurs biotopes.

5.1.1. Répartition des types de cultures par sites

La Figure 22 illustre les superficies occupées par différents types de cultures pour chaque site, par année durant une période de 9 ans (2015 à 2023). Chaque site comprend la moyenne des surfaces des différents types de cultures qu'on retrouve dans les 2 colonies associées à ce site.

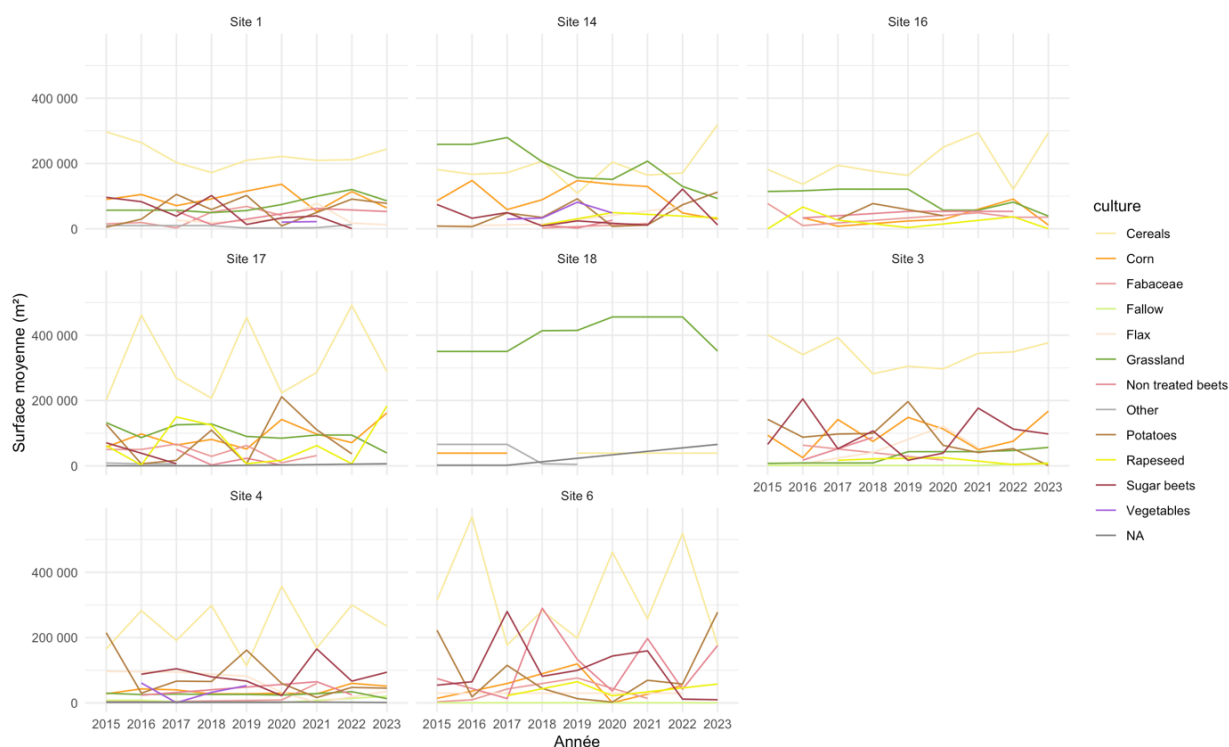


Figure 22 - Surface de chaque type de culture par site et par année au cours des 9 dernières années

Pour certains sites, des schémas répétitifs d'une année à l'autre sont observables pour certaines cultures. D'autres sites montrent au contraire des dynamiques culturelles plus variables. Une prépondérance marquée est observable dans certains cas : par exemple, les colonies du site 6 sont principalement entourées de cultures céréalières, tandis que celles du site 14 se situent dans un paysage dominé par les prairies permanentes. Les colonies du site 18 se distinguent par une forte proportion de prairies, avec une faible surface agricole, en partie liée à la présence importante de parcelles forestières, exclues de l'analyse.

Cette première analyse descriptive met en lumière une hétérogénéité nette des systèmes agricoles entre les différents sites, tant en termes de diversité que de spécialisation des cultures observées au cours des neuf dernières années.

5.1.2. Quantification des cultures à risque

Cette sous-section présente, pour chaque colonie, le nombre de cultures potentiellement contaminées (betteraves sucrières et légumineuses) recensées sur les cinq dernières années (Tableau 3).

Parmi les 16 colonies étudiées, seules les colonies 14 et 15 ne présentent aucune culture à risque durant la période considérée. Localisées sur un même site, elles constituent un cas particulier suggérant une exposition très faible, voire nulle, aux néonicotinoïdes dans cette zone. D'autres colonies, comme les 11, 12, 13 et 16, affichent également des niveaux très faibles : seulement 1 à 3 cultures potentiellement traitées, soit moins de 1 % de l'ensemble des parcelles (ex. : 0,4 % pour la colonie 12, 0,8 % pour la 11). Ces résultats suggèrent une exposition potentielle très faible sur ces sites.

À l'inverse, les colonies 1 à 10 présentent une fréquence élevée de cultures sensibles, représentant entre 6,3 % et 14,2 % des cultures totales. Bien que certaines colonies comptent un nombre absolu plus important de cultures potentiellement traitées (ex. : 37 pour la colonie 1), les pourcentages restent relativement homogènes entre colonies d'un même site. Cela suggère non seulement des pratiques agricoles comparables localement, mais aussi des différences dans le nombre total de parcelles disponibles autour de chaque colonie, reflétant des variations d'échantillonnage ou de taille de zone agricole.

Ces résultats soulignent une forte variabilité spatiale en termes de types de cultures et de niveaux d'exposition potentielle aux néonicotinoïdes entre les colonies et entre les sites. Ils

offrent ainsi une première approximation des potentiels de contamination dans les différents environnements analysés. Une analyse plus fine, fondée cette fois sur les concentrations mesurées dans les sols, permettra d'évaluer plus précisément l'exposition réelle des colonies. Elle est présentée dans la section suivante.

Tableau 3 - Nombre de cultures potentiellement contaminées aux néonicotinoïdes au cours des 5 dernières années

Site	Colonie	Total cultures potentiellement contaminées	% Traitées sur total
4	1	37	10,3%
4	2	25	11,1%
6	3	32	14,2%
6	4	26	13,1%
1	5	31	6,3%
1	6	20	6,5%
3	7	30	10,8%
3	8	32	11,9%
14	9	32	9,4%
14	10	25	10,7%
17	11	2	0,8%
17	12	1	0,4%
16	13	2	0,9%
18	14	0	0%
18	15	0	0%
16	16	3	3%

5.1.3. Extrapolation des données de néonicotinoïdes pour les parcelles

L'équation décrite dans la partie matériel et méthode est utilisée pour recalculer les différentes moyennes obtenues grâce aux échantillons (Tableau 4).

Tableau 4 - Moyenne recalculée en fonction de la moyenne de base et des occurrences

Type de rotation	Moyenne	N0	N1	N2	N3	N4	N5	N6	N7	N8	Moyenne recalculée
Beet-Cereals	3,86	33	45	70	30	4	0	0	0	0	2,34
Beet-Cereals n°2	5,95	22	26	33	7	2	0	0	0	0	4,07
Fallows	0,6	408	0	0	0	0	0	0	0	0	0,86
Flax-Cereals	1,43	36	29	21	4	1	0	0	0	0	1,2
Fruits orchards	0	21	2	0	2	0	0	0	0	0	0
Grasslands	0,29	582	13	5	0	0	0	0	0	0	0,41
Legumes dominant	1,39	65	6	7	1	1	0	0	0	0	1,56
Maize dominant	0,48	80	14	8	0	0	0	0	0	0	0,58
Ornamental plants	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Raoeeseed-Cereals	1,12	43	11	8	0	0	0	0	0	0	1,24
Undefined grasslands	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Vegetable dominant	1,2	0	2	4	14	5	2	2	2	1	0,26

Ces moyennes recalculée ont permis de calculer pour chaque parcelle un score qui dépend du type de rotation et de nombre d'occurrences de betteraves sucrières et légumineuses. Par la suite, les résultats ont été filtrés afin de ne garder que les parcelles présentant dans le buffer de 500m de nos colonies. Ci-dessous, un exemple est présenté pour le site 6, avec les scores obtenus pour les colonies 3 et 4 (Figure 23) :

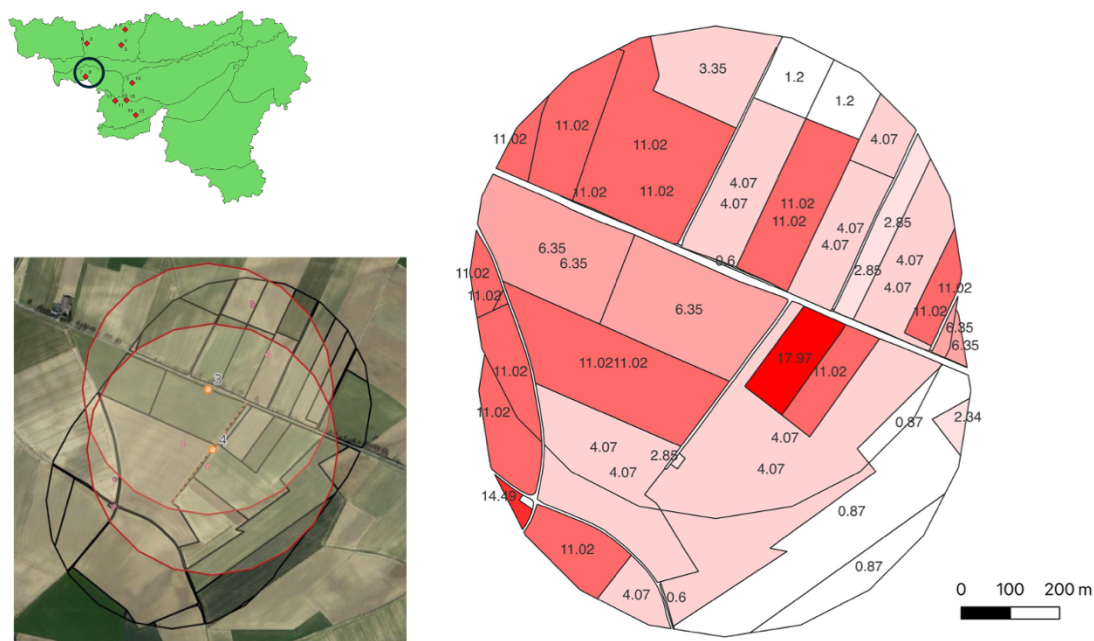


Figure 23 - Score de néonicotinoïdes obtenus après application de la méthode d'extrapolation pour le site 6 (Colonie 3 et 4). Les traits noirs représentent la surface du site ou les prélèvements ont été effectués, les cercles rouges représentent les buffers de 500 m des colonies

Une courbe de densité (Figure 24) a été réalisée afin de visualiser la distribution des scores de néonicotinoïdes calculés. Ceux-ci varient de 0 à 17,97 ng/g, et cette représentation permet d'appréhender la fréquence relative des niveaux d'exposition dans l'ensemble du jeu de données.

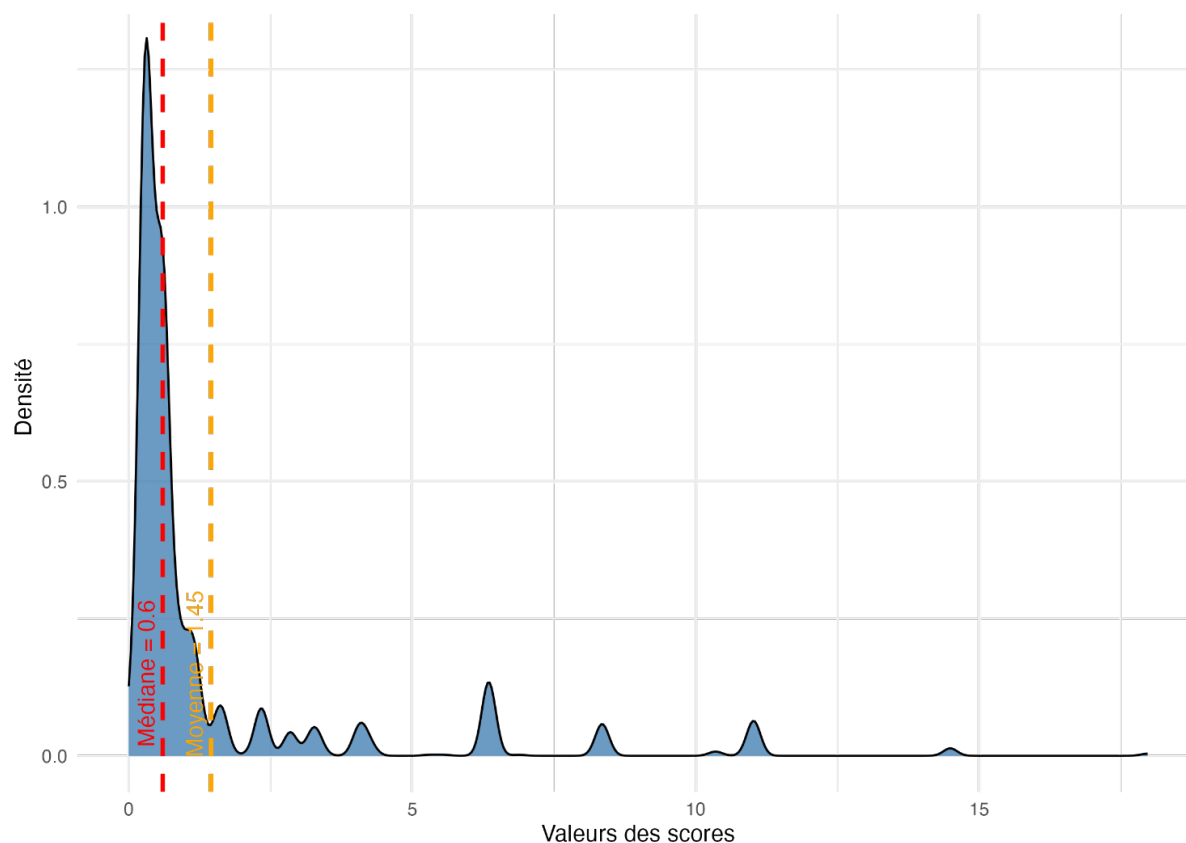


Figure 24 - Densité des valeurs des scores de néonicotinoïdes des parcelles avec médiane et moyenne

La distribution des scores présente une asymétrie à droite, comme le montrent les valeurs de la médiane (0,6 ng/g) et de la moyenne (1,45 ng/g). La médiane montre une exposition potentielle plus faible à modérée des parcelles aux néonicotinoïdes. Toutefois, certaines valeurs particulièrement élevées, correspondant à des cas isolés de forte exposition, ont pour effet de tirer la moyenne vers le haut. Cela reflète une forte hétérogénéité dans la distribution des scores.

Le score en néonicotinoïdes de chaque colonie a été calculé en divisant la somme des produits du score attribué à chaque parcelle par sa surface par la surface totale des parcelles de la colonie. Cela permet de représenter l'environnement réel d'une colonie, en pondérant chaque parcelle selon sa taille (Figure 25). Voici la formule :

$$\text{Score}_{\text{colonie}} = \frac{\sum_{i=1}^n (\text{Score}_{\text{parcelle}_i} \times \text{Surface}_{\text{parcelle}_i})}{\sum_{i=1}^n \text{Surface}_{\text{parcelle}_i}}$$

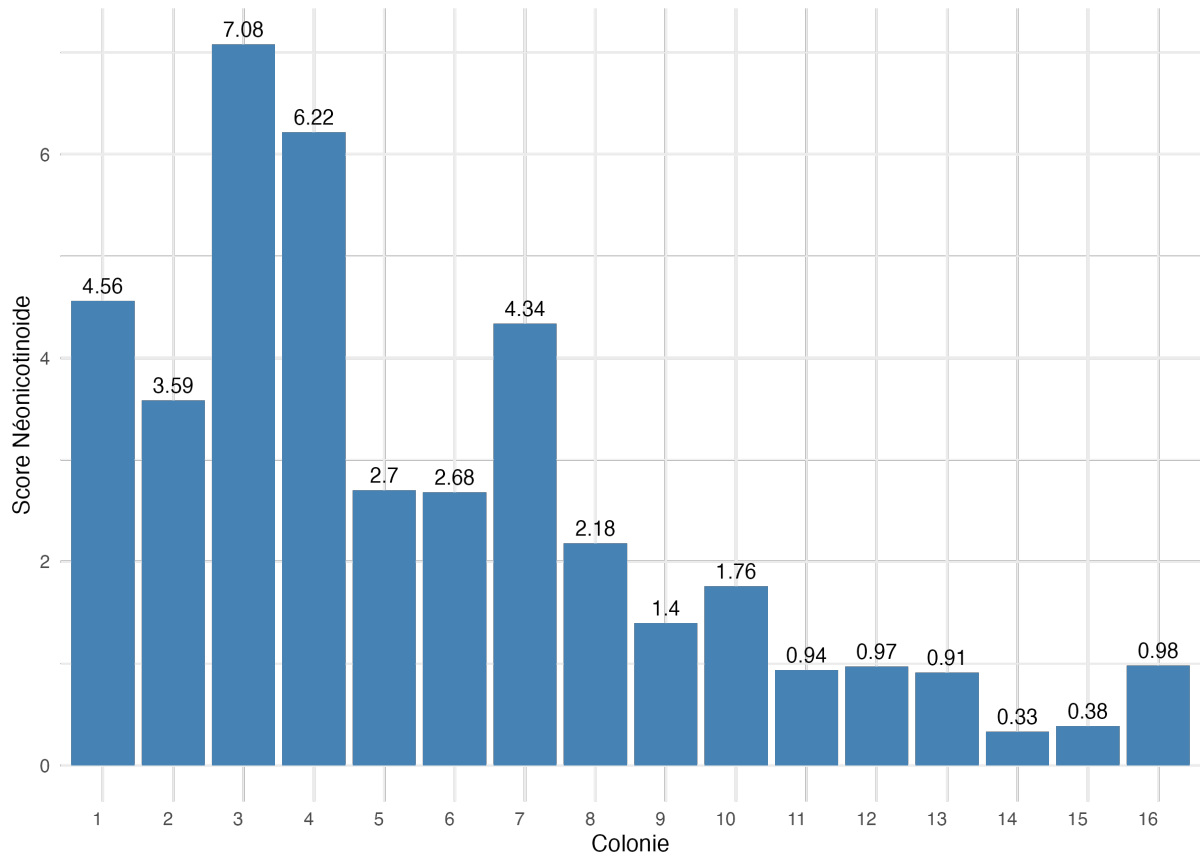


Figure 25 - Score en néonicotinoïde attribuée à chaque colonie

Les scores d'exposition aux néonicotinoïdes attribués aux colonies présentent une moyenne de 2,56 et un écart type de 2,07, indiquant une dispersion importante entre colonies. Les valeurs s'étendent de 0,33 à 7,08, soit une amplitude de 6,75 points, ce qui traduit des niveaux d'exposition potentielle très variables d'un site à l'autre.

En moyenne, l'écart entre deux colonies d'un même site est de 0,64 point, avec des variations parfois faibles (ex. : colonies 5 et 6), mais pouvant dépasser 2 points dans certains cas, comme entre les colonies 7 et 8. Ces différences soulignent l'existence d'une hétérogénéité intra-site qu'il est important de considérer à l'échelle des parcelles.

5.2. Extrapolation des relevés de ressources florales

5.2.1. Hétérogénéité entre biotopes

Les différentes moyennes de pollen par m² en fonction du biotope sont visible sur la Figure 26. Tous les biotopes ne sont pas présents (seulement 17 sur 43 au total). Seuls les biotopes présents en 2023, année de collecte des données des ruches, ont été pris en compte. De plus, les parcelles associées aux colonies ne représentent que 33 % des parcelles de tous les sites. Les 3 biotopes les plus productif de pollen, les vergers (1562 $\mu\text{L}/\text{m}^2$), vignes (248 $\mu\text{L}/\text{m}^2$) ou encore céréales-pois (41 $\mu\text{L}/\text{m}^2$) ne sont donc pas présent sur les parcelles des colonies.

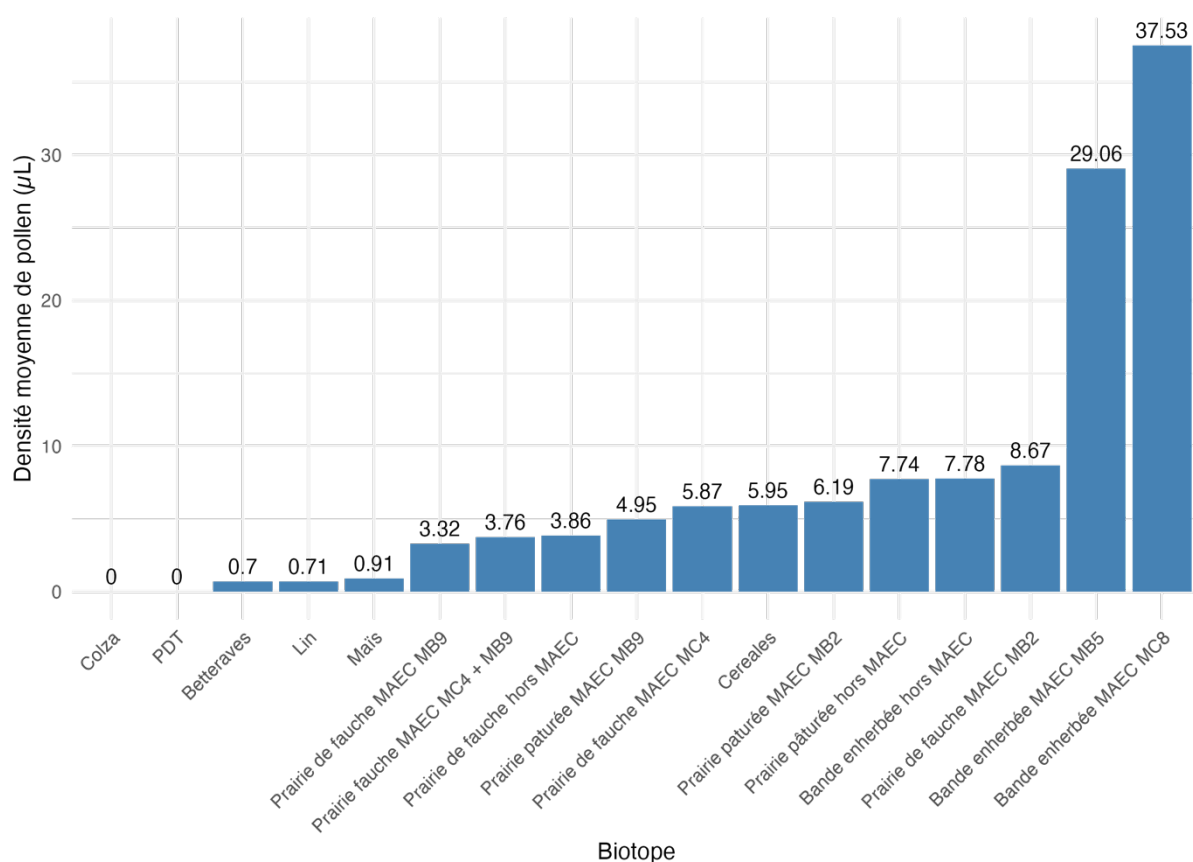


Figure 26 - Densité moyenne de pollen ($\mu\text{L}/\text{m}^2$) par biotope présent sur les parcelles

Deux biotopes ont des valeurs élevées de densité. Les valeurs de densité de pollen des biotopes (hors extrêmes) restent relativement proches les unes des autres, avec une dispersion moyenne modérée de 2,8 $\mu\text{L}/\text{m}^2$. Ces écarts s'expliquent par des différences dans la richesse en ressources mellifères : certains biotopes offrent plus de fleurs attractives pour les abeilles. Les usages de ces milieux varient également, ce qui influence la diversité des espèces et donc du pollen présent. Le colza, par exemple, a une valeur de 0 car il n'était plus en fleur en juillet au moment

des relevés des données de ruches (Robert, 2011). De même, la pomme de terre a une valeur nulle en raison de ses fleurs peu mellifères (Buchanan et al., 2017).

La culture de céréales obtient un score distinct de celui d'autres cultures, telles que le maïs ou la betterave, ainsi que d'autres biotopes comme les prairies de fauche hors MAEC. Cette différence s'explique par la présence importante d'adventices recensées sur ces parcelles. Ce graphique met en évidence les fortes hétérogénéités entre biotopes, un élément essentiel à prendre en compte dans l'analyse des différentes cartes par colonie. Une colonie avec des biotopes à forte concentrations en pollen, pourrait voir son score élevé, or ces biotopes peuvent n'être présents que sur une infime partie de la surface de la colonie. Ce biais pourrait être corrigé par une pondération plus fine des scores pollen selon la surface des parcelles. Une ressource florale très attractive mais localisée sur une petite surface ne contribue pas de manière équivalente à l'environnement global d'une ruche. En affinant ainsi la pondération, il est possible de mieux estimer la qualité fonctionnelle des biotopes accessibles pour les pollinisateurs.

5.2.2. Comparaison des différentes extrapolations pour les colonies

Les différentes valeurs de densité de pollen ont été appliquée à chaque parcelle de chaque colonie. Ci-dessous un exemple avec une carte de la colonie numéro 15 (Figure 27). Les différents scores de densité de pollen en $\mu\text{L}/\text{m}^2$ sont visibles pour chaque parcelle.

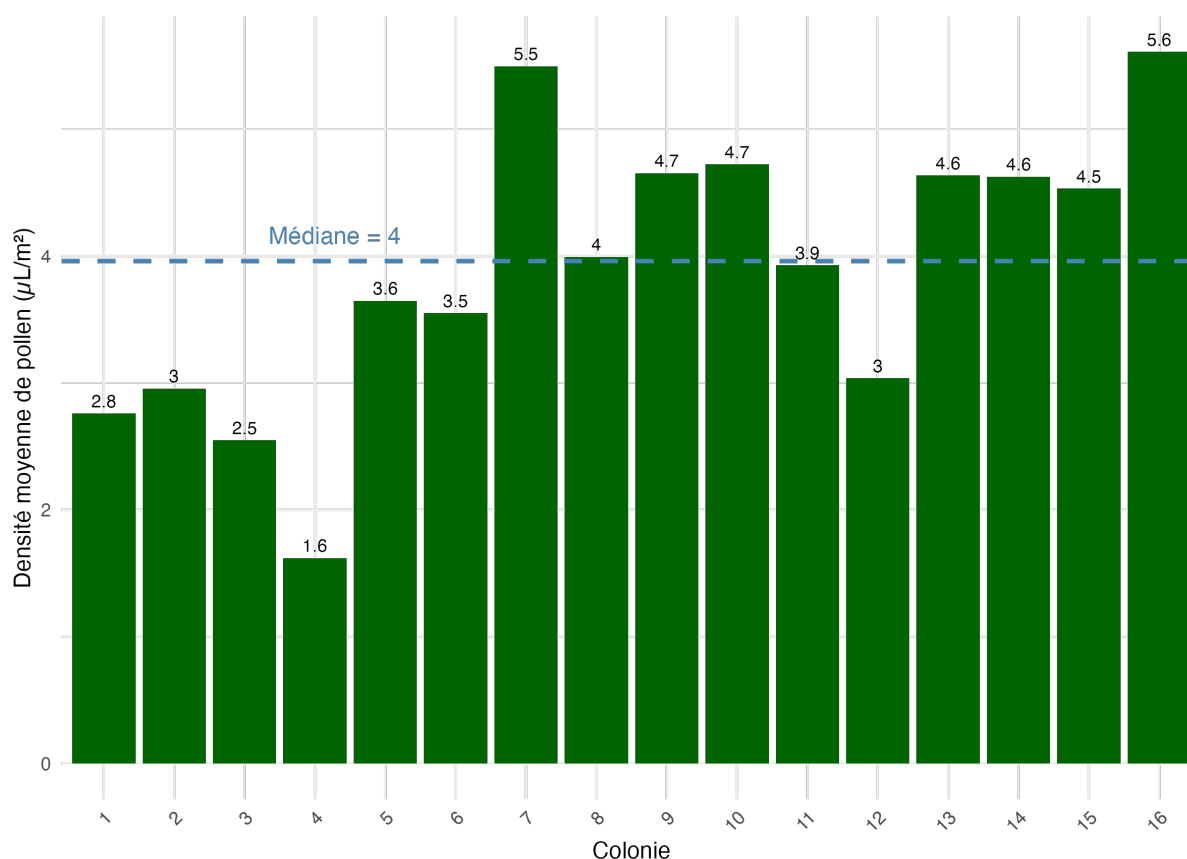


Figure 28 - Score densité de pollen en $\mu\text{L}/\text{m}^2$ par colonie

Les valeurs de densité de pollen présentent une médiane de $4 \mu\text{L}/\text{m}^2$, accompagnée d'un écart-type modéré de $1,1 \mu\text{L}/\text{m}^2$. Le minimum observé est de $1,6 \mu\text{L}/\text{m}^2$ et le maximum de $5,6 \mu\text{L}/\text{m}^2$. La distance entre le minimum et la médiane est plus importante que celle entre la médiane et le maximum, suggérant une légère asymétrie de la distribution, avec une dispersion plus marquée vers les faibles valeurs. Autrement dit, les densités de pollen sont un peu plus étalées du côté des faibles valeurs, tandis que les valeurs élevées sont plus regroupées autour de la médiane.

5.3. Distribution des indicateurs de santé

Dans cette section, les différentes valeurs des indicateurs de santé sont présentées.

5.3.1. Masse des colonies

La masse initiale moyenne des colonies était homogène ($3112 \pm 20,5 \text{ g}$), assurant ainsi des conditions de départ équivalentes. En moyenne, les colonies ont enregistré un gain de $286 (\pm 125,1 \text{ g})$. La colonie 1 présente la plus faible progression (165 g), tandis que la colonie 13 affiche le gain le plus élevé (577 g) (Figure 29). Ces différences de croissance sont étroitement

liées à la densité et à la diversité florale environnantes, qui influencent directement l'apport nutritionnel, la croissance du couvain et la productivité des colonies (Rotheray et al., 2017). Une flore abondante et diversifiée réduit les coûts énergétiques liés à la recherche de nourriture et améliore la qualité des ressources collectées, favorisant ainsi un développement optimal.

Dans l'ensemble, les variations intra-sites restent limitées, à l'exception notable du site 16 où une plus grande hétérogénéité des gains de masse a été observée. Un gain de masse élevé est généralement interprété comme un indicateur positif de la santé de la colonie, bien que toutes aient montré une croissance au cours de l'étude.

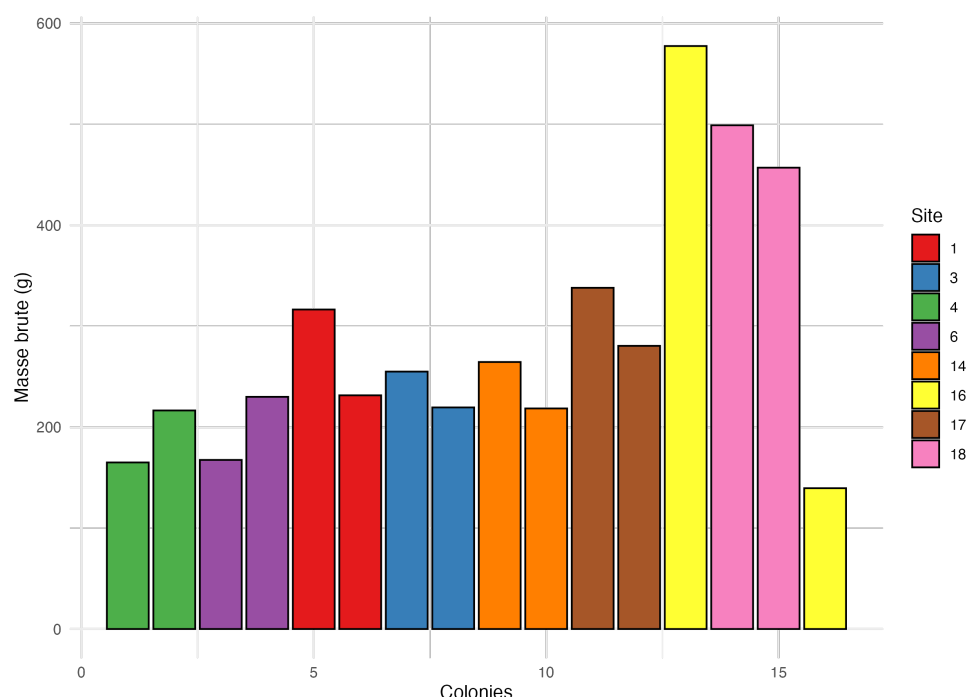


Figure 29 - Variation des différents gains de masse en g des colonies durant la période de suivi. Les couleurs représentent les colonies jumelles par site.

5.3.2. Activités des colonies

L'activité a été mesurée par la somme des entrées et sorties observées lors des relevés successifs pour chaque colonie (Figure 30). En moyenne, les colonies ont présenté 63 entrées (± 46) et 56 sorties (± 39). Ces valeurs indiquent une grande variabilité entre colonies, certaines étant très actives, d'autres beaucoup moins. Toutefois, des écarts importants apparaissent à l'échelle intra-site, notamment entre les colonies 13 et 16, pourtant localisées sur le même site, avec des niveaux d'activité très contrastés. Cela souligne l'importance d'une lecture à l'échelle fine pour caractériser le comportement de chaque colonie.

Une corrélation positive entre l'activité des colonies et la diversité ainsi que la densité des ressources florales a été mise en évidence dans les travaux préliminaires de Tatum Baussart et Théophile Dumoulin. Plus l'activité est élevée, meilleure est la santé de la colonie, qui bénéficie alors de ressources florales suffisantes pour soutenir sa croissance (Westphal et al., 2006).

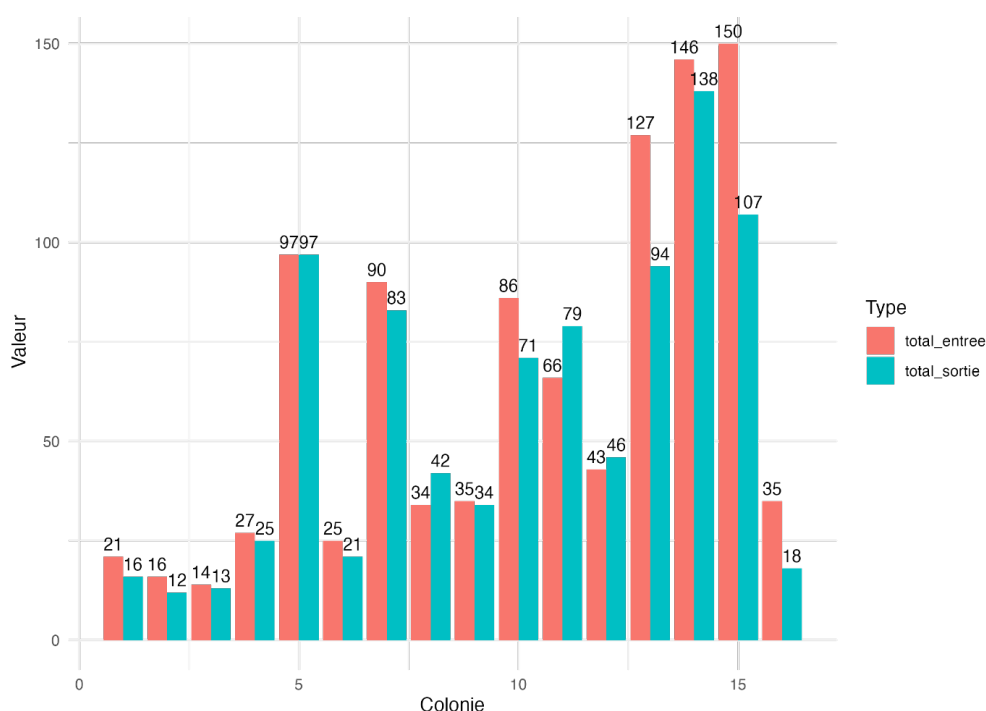


Figure 30 - Variation de la somme des entrées et sorties pour chaque colonie. Les barres représentent l'addition de toutes les entrées et sorties) des différents relevés effectués.

5.3.3. Les moyennes des diamètres de thorax

Le diamètre moyen du thorax des ouvrières est de $4,8 \pm 0,47$ mm (Figure 31). Bien que cette variation soit modérée en valeur absolue, elle reste significative compte tenu de la faible amplitude attendue pour ce type de trait morphologique. Des écarts notables sont observés entre certaines colonies, indiquant une hétérogénéité inter-colonies. En revanche, les variations au sein d'un même site demeurent globalement limitées, à l'exception du site 16, où les colonies 13 et 16 présentent des différences marquées.

Un thorax de grande taille est généralement associé à une meilleure capacité de vol, une thermorégulation plus efficace et une robustesse accrue (Adriaens, 2005). Un diamètre

thoracique plus important suggère que la colonie a atteint un stade de développement avancé, disposant de ressources suffisantes pour assurer un bon nourrissage des larves (Goulson, 2010).

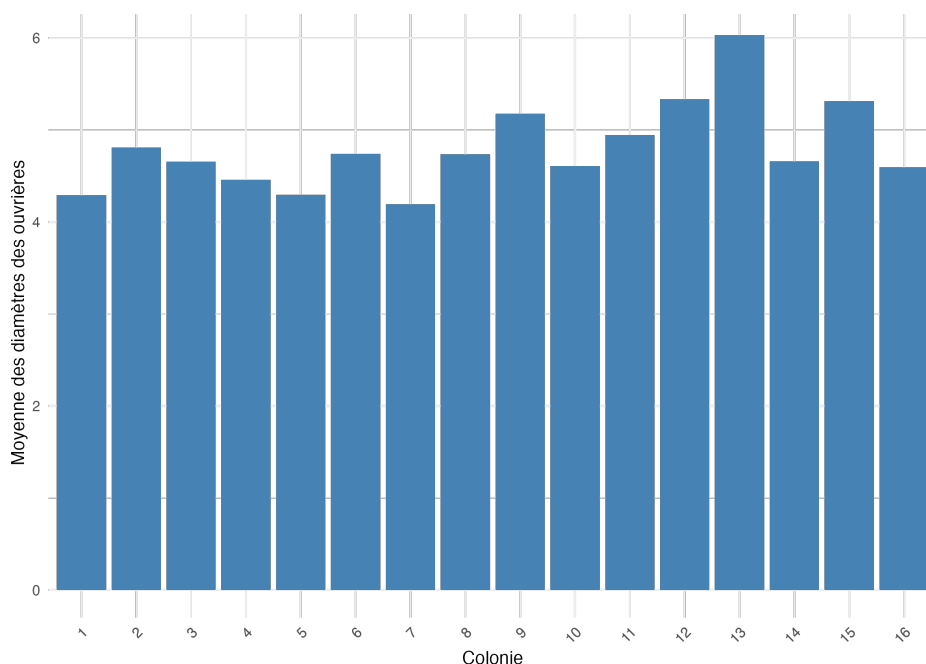


Figure 31 - Moyenne diamètre de thorax des ouvrières par colonie

5.3.4. La présence de mâles et reines au sein des colonies

Les deux indicateurs seront analysés conjointement (Figure 32). Sur l'ensemble des colonies, seules 10 présentent des mâles (moyenne = $21,7 \pm 32,6$ individus), ce qui révèle une forte hétérogénéité entre colonies, certaines n'en comptant aucun, tandis que d'autres en comptent plusieurs dizaines. La présence de reines est quasi systématique ($4,88 \pm 8,35$ individus), à l'exception de la colonie 14 qui n'en présente aucune. A l'échelle intra-site, des hétérogénéités sont visibles signe que les colonies ne sont pas à leur même stade de développement.

La co-présence de mâles et de reines dans certaines colonies peut indiquer un stade de développement avancé, généralement associé à une meilleure santé globale (Goulson, 2010). L'apparition de jeunes reines (gynes) marque l'entrée dans la phase de reproduction sexuée, tandis que la présence de mâles signale une colonie parvenue à maturité, en fin de cycle actif (Belsky et al., 2020).

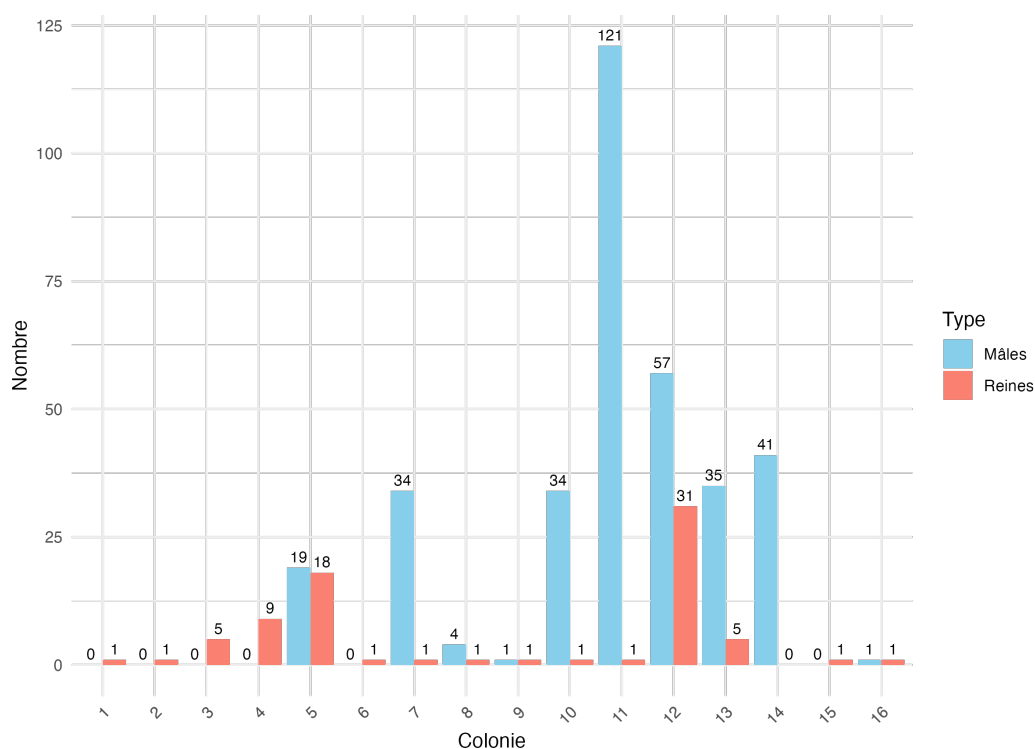


Figure 32 - Nombre de males et reines par colonie

5.3.5. Nombre de parasites par colonies

Les colonies présentent en moyenne 6,71 parasites par individu infecté, avec un écart-type élevé de 10,1, révélant une forte hétérogénéité entre colonies (Figure 33). Six colonies ne comptent aucun bourdon infecté, tandis que d'autres présentent des niveaux d'infestation élevés. L'écart entre sites est important, mais les différences intra-sites sont également marquées (colonies 11 et 12).

Le nombre de parasites semble corrélé au nombre de bourdons infectés, ce qui en fait un indicateur indirect de la pression parasitaire globale. Les parasites sont l'un des facteurs identifiés dans le déclin global des pollinisateurs, et leur prise en compte permet d'intégrer une dimension de pression biologique dans l'évaluation de l'état des colonies (cf. état de l'art).

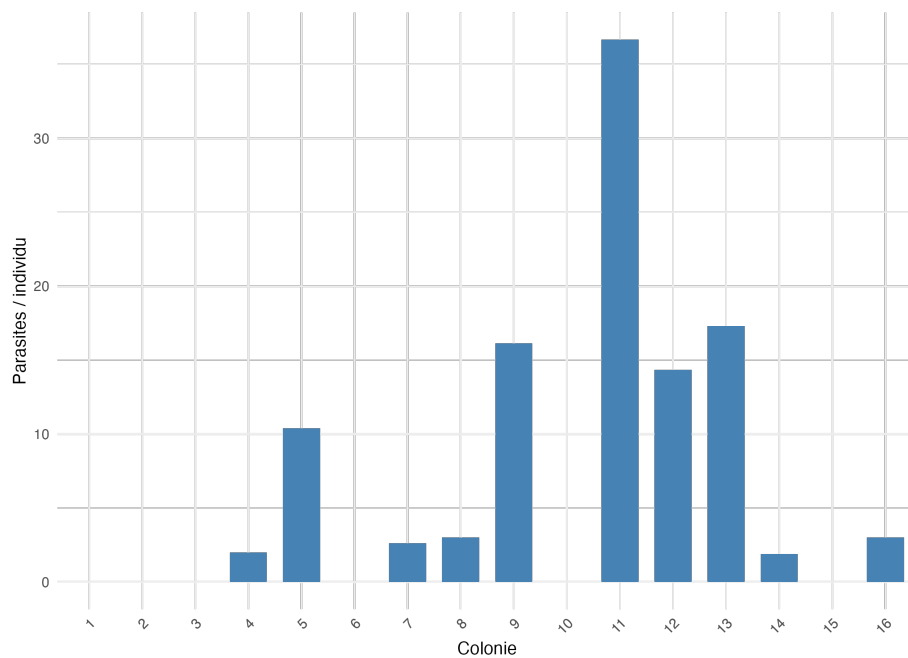


Figure 33 - Nombre de parasite par bourdon infecté par colonie

5.4. Mise en relation des scores de risque avec la santé

5.4.1. Croisement des risques chimiques et floraux à l'échelle parcellaire

À la suite des résultats précédentes, l'importance d'une lecture à l'échelle parcellaire s'est imposée. Les scores de contamination en néonicotinoïdes et de densité de pollen ont été combinés sans pondération par la surface, c'est-à-dire qu'on évalue toutes les parcelles de la même façon, sans ajuster selon leur taille, afin d'évaluer de manière standardisée la contribution potentielle de chaque parcelle. La Figure 34 illustre la distribution des parcelles selon ces deux indicateurs, pour l'ensemble des colonies. Pour améliorer la lisibilité, les scores ont été représentés en échelle logarithmique ($\log_{10}$).

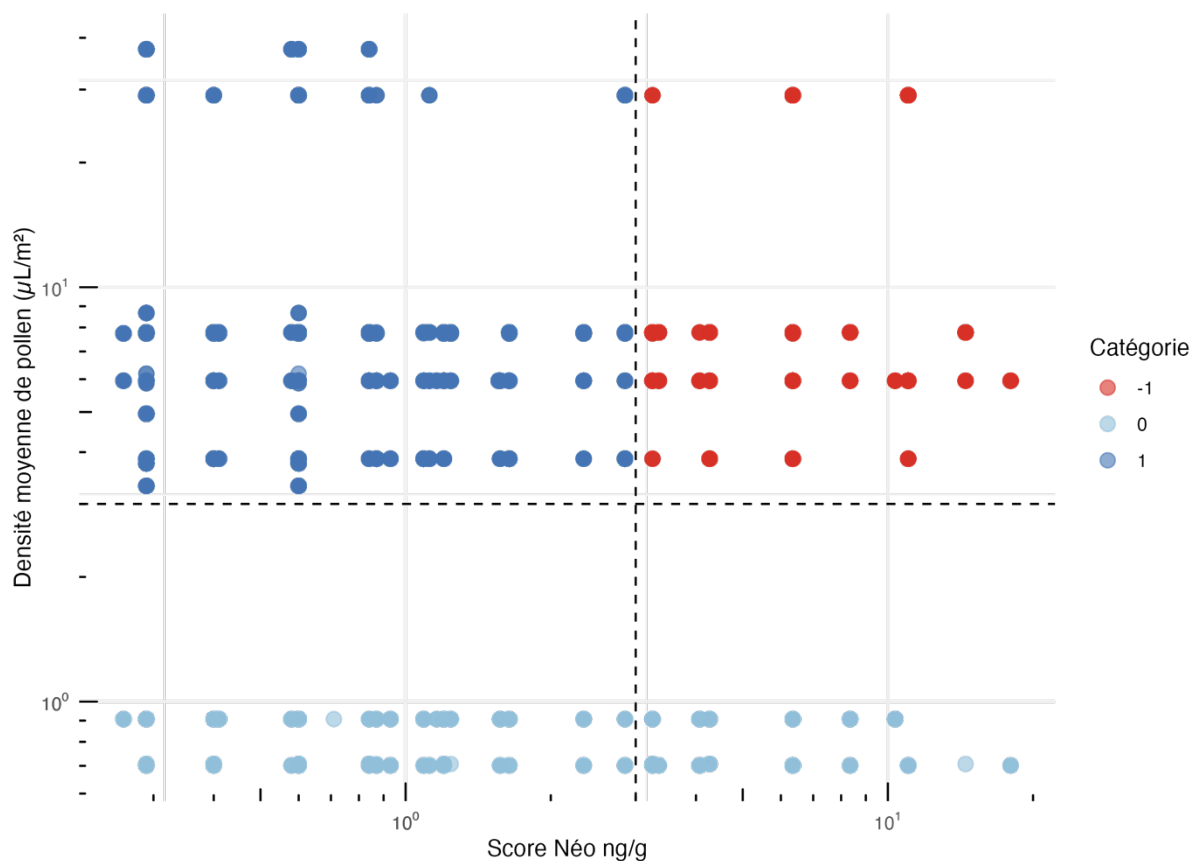


Figure 34 – Distribution des parcelles en fonction du score en néonicotinoïdes et de la densité de pollen (échelle log10, couleurs selon les catégories de colonies)

Un seuil arbitraire de 3 a été défini pour chaque indicateur, divisant l'espace en quatre quadrants. Ce seuil permet de séparer les parcelles en classes de risque. Pour les concentrations en néonicotinoïdes, ce seuil permet ainsi d'isoler les 25 % de parcelles les plus contaminées (Figure 24). Concernant la densité florale, un seuil de 3 $\mu\text{L}/\text{m}^2$ permet de distinguer les parcelles les plus riches en ressources florales, en accord avec les valeurs relevées dans les milieux les plus attractifs (bandes enherbées, prairies de fauches, etc) (Figure 26). Ces quadrants ont été interprétés écologiquement et traduits en trois classes de risques :

- Score = 1 (bleu) : parcelles à faible potentialité de contamination ($< 3 \text{ ng/g}$) et forte densité de pollen ($> 3 \text{ } \mu\text{L}/\text{m}^2$). Ces zones sont favorables aux pollinisateurs : elles fournissent des ressources florales abondantes, sans exposition toxique majeure.
- Score = 0 (bleu clair) :
 - Faible densité de pollen ($< 3 \text{ } \mu\text{L}/\text{m}^2$) et forte potentialité de contamination ($> 3 \text{ ng/g}$)

- Faible densité de pollen ($<3 \mu\text{L}/\text{m}^2$) et faible potentialité de contamination ($<3 \text{ ng/g}$)

Ces parcelles sont neutres : leur faible attractivité réduit le risque d'exposition directe, qu'il y ait contamination ou non.

- Score = -1 (rouge) : Forte potentialité de contamination ($>3 \text{ ng/g}$) et forte densité de pollen ($>3 \mu\text{L}/\text{m}^2$). Ces zones combinent attractivité et toxicité, représentant des zones à risque pour les pollinisateurs.

Les pourcentages observés selon cette catégorisation sont présentés ci-dessous :

Tableau 5 - Distribution des parcelles et surfaces en pourcentage par catégorie de risque

Catégorie	% de parcelles	% surface totale
-1	7,5%	14,6%
0	10,3%	9,6%
1	82,2%	75,7%

La majorité des parcelles (82,2 %) sont classées comme favorables, représentant 75,7 % de la surface analysée. Elles offrent un contexte combinant ressources florales abondantes et faible contamination chimique. Ces conditions sont propices à une bonne santé des populations de pollinisateurs.

Environ 7,5 % des parcelles, représentant 14,6 % de la surface, cumulent forte contamination et forte attractivité florale (score -1). Leur taille augmente leur impact potentiel, car elles peuvent attirer de nombreux pollinisateurs tout en les exposant à des doses toxiques. Ces parcelles méritent une attention particulière dans les stratégies de gestion des risques. Le fait que leur proportion en surface soit presque deux fois plus élevée que leur proportion en nombre de parcelles suggère que ces zones à risque correspondent souvent à des parcelles de grande taille. Cela amplifie leur importance écologique et sanitaire, car elles peuvent représenter des zones de forte fréquentation par les pollinisateurs (Kennedy et al., 2013).

Les parcelles classées comme neutres (10,34 %) ont une faible densité florale, ce qui réduit le risque que les pollinisateurs y soient exposés à des substances toxiques. Cependant, leur rôle dans le paysage dépend de leur position relative aux autres parcelles : si elles sont situées à proximité de parcelles attractives fortement contaminées (score -1) ou peu contaminées (score 1), elles peuvent influencer les trajectoires de butinage des pollinisateurs (Kremen et al., 2002).

Le comportement de butinage dépend en effet de la configuration paysagère : la présence de zones non traitées ou moins contaminées à proximité permet de réduire l'exposition moyenne aux pesticides. Plusieurs études ont montré que des pollinisateurs à rayon de butinage court ou intermédiaire (comme *Osmia bicornis* ou *Bombus terrestris*) sont moins exposées dans des paysages moins intensifiés et plus hétérogènes (Basu et al., 2016 ; Knapp et al., 2023).

Cette diversité locale est bien illustrée par la carte ci-dessous (Figure 35), où deux colonies apparaissent au centre d'un paysage fortement hétérogène. Autour de la colonie 7, une cohabitation immédiate de parcelles à haut risque (score -1, en rouge) et de parcelles très favorables (score 1, en bleu foncé) est présente, rendant le contexte écologique difficile à interpréter sur la seule base d'une moyenne pondérée. Ce genre de situation justifie l'intérêt de garder une lecture spatiale fine, car une parcelle à risque proche peut avoir un impact disproportionné malgré une faible surface.

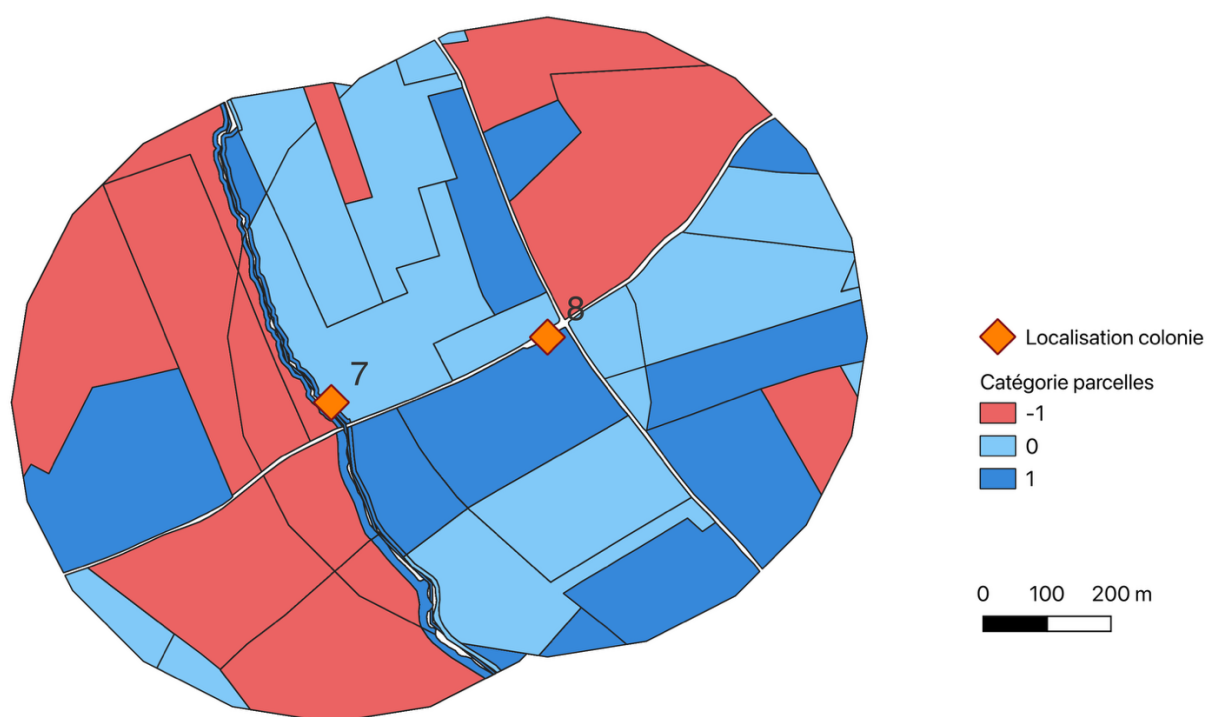


Figure 35 - Hétérogénéité des parcelles pour une colonie

Le choix du seuil de 3 a permis une catégorisation lisible et fonctionnelle, bien que fondée sur un critère arbitraire. L'absence de pondération par la surface à ce stade garantit une comparaison équitable entre parcelles, mais limite la capacité à évaluer leur impact réel à l'échelle du

paysage. Cette limite est levée dans la section suivante, qui propose une mise à l'échelle centrée sur les colonies.

5.4.2. Agrégation des scores à l'échelle des colonies

Pour mieux représenter l'influence réelle des parcelles sur l'environnement des colonies, les scores ont ensuite été pondérés par la surface. En effet, deux parcelles appartenant à une même catégorie de risque peuvent avoir des effets très différents : une grande parcelle classée en score 1 apportera un bénéfice nettement supérieur à une petite parcelle équivalente ; et inversement pour les catégories défavorables. Cette approche offre une meilleure distribution des risques dans le paysage.

Les résultats obtenus pour chaque parcelles ont été agrégés par colonies. Pour cela, les scores pondérés ont été additionnés pour chaque colonie, puis divisés par la surface totale des parcelles associées. Cette opération permet d'obtenir un indice compris entre -1 et 1 pour chaque colonie, reflétant le risque moyen pondéré (Figure 36).

L'équation suivante illustre le calcul effectué :

$$\text{Score combiné par colonie} = \frac{\sum_{i=1}^n (\text{Valeur}_i \times \text{Surface}_i)}{\sum_{i=1}^n \text{Surface}_i}$$

Avec :

- n : nombre total de parcelles associées à une colonie
- i : indice de chaque parcelle
- Valeur i : score (compris entre -1 et 1) attribué à la parcelle i
- Surface i : surface de la parcelle i, en m²

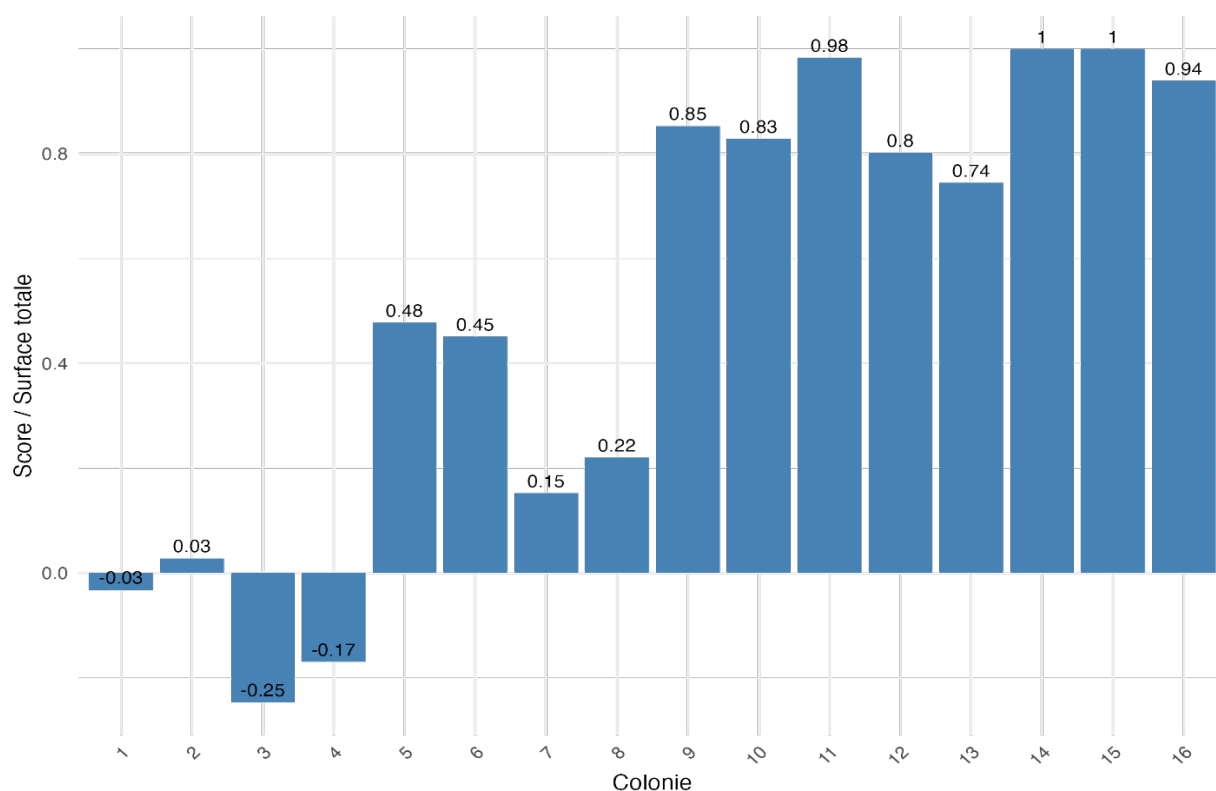


Figure 36 - Score final des deux composantes (néonicotinoïdes et densité pollen) pour chaque colonie pondérée à la surface

Un score proche de -1 indique un environnement majoritairement composé de parcelles à risque (score -1), tandis qu'un score proche de $+1$ traduit une prédominance de parcelles favorables (score 1). Un score proche de zéro suggère une situation équilibrée ou dominée par des parcelles neutres, peu attractives ou faiblement contaminées. Cet indice permet une comparaison directe entre colonies et constitue un outil de hiérarchisation des risques à l'échelle du paysage.

L'analyse spatiale (Figure 37) révèle que ces scores varient en fonction des régions agricoles dans lesquelles les colonies sont implantées. Les scores les plus faibles ($<0,5$) se situent principalement dans les régions sablo-limoneuses et limoneuses, tandis que les scores les plus élevés ($> 0,5$) se trouvent dans le Condroz, les Fagnes et la Famenne.

Cette répartition géographique peut s'expliquer par les différences régionales en termes de pratiques agricoles.

Les régions sablo-limoneuses et limoneuses, historiquement associées à une agriculture intensive, sont caractérisées par une forte spécialisation des cultures (céréales, betteraves, maïs, pommes de terre), un usage important d'intrants de synthèse et un faible couvert végétal diversifié. Ce contexte favorise des paysages peu attractifs pour les pollinisateurs et

potentiellement plus contaminés (Vanhove, 2018), ce qui se traduit logiquement par des scores faibles à l'échelle des colonies.

À l'inverse, les régions du Condroz, des Fagnes et de la Famenne présentent une agriculture plus extensive, avec une proportion plus élevée de prairies permanentes et une utilisation plus modérée d'intrants chimiques (SPW, 2024). Ces pratiques favorisent une meilleure qualité des sols et une plus grande diversité florale, donc des parcelles riches en pollen et faiblement contaminées, ce qui se traduit par des scores pondérés plus élevés pour les colonies concernées.

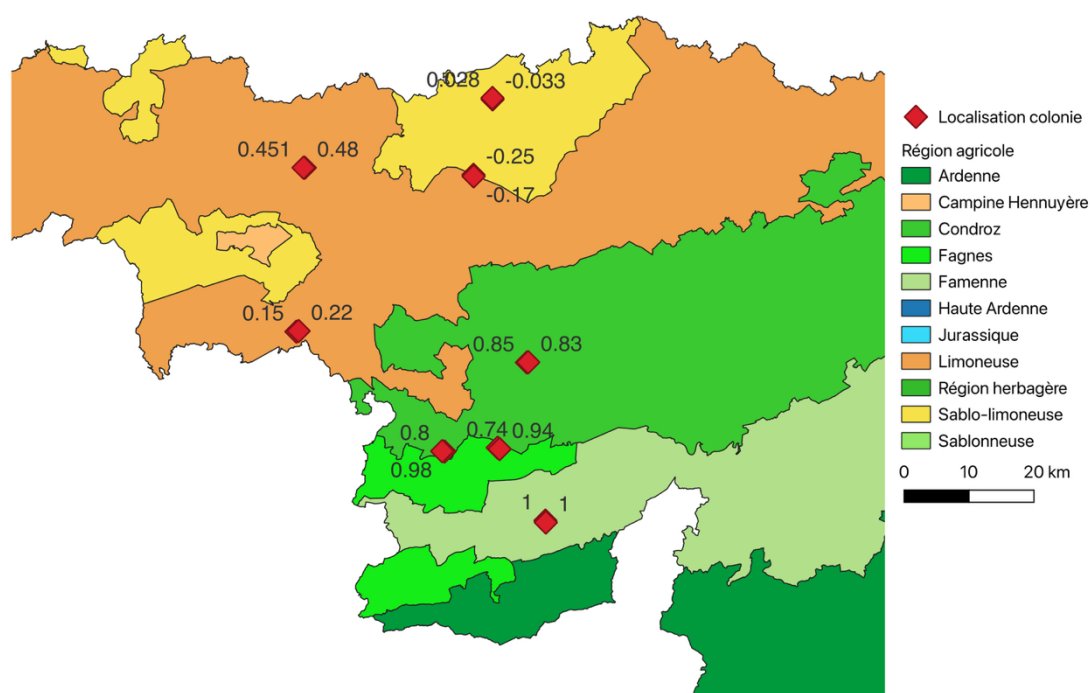


Figure 37 - Localisation des colonies dans les différentes régions agricoles de Wallonie avec le score obtenu

5.4.3. Comparaison des scores obtenus avec indicateurs de santé des pollinisateurs

Après agrégation des scores à l'échelle des colonies, il est essentiel d'évaluer leur pertinence en les confrontant aux indicateurs de santé mesurés sur le terrain. Cette étape vise à vérifier si les scores synthétiques construits à partir des deux facteurs environnementaux (ressources florales et contamination chimique) reflètent effectivement la santé des colonies de *Bombus terrestris*.

Les corrélations de Spearman calculées entre le score environnemental moyen par colonie et les six indicateurs de santé révèlent des tendances contrastées (Figure 38). Le score reflète particulièrement bien certaines dimensions clés de la santé des *Bombus terrestris*, en particulier

le gain de masse et l'activité des colonies, qui présentent toutes deux des corrélations significatives. Le diamètre thoracique moyen des ouvrières ainsi que le nombre de mâles montrent quant à eux des corrélations modérées, suggérant une influence plus limitée, mais non négligeable, de l'environnement sur la morphologie et le développement reproductif. Ces résultats valident, au moins partiellement, la capacité du score à capter des signaux biologiques pertinents.

À l'inverse, ni le nombre de reines produites, ni la charge parasitaire moyenne par individu infecté ne sont significativement corrélés au score. Si l'environnement modélisé reflétait fidèlement les conditions propices au succès reproducteur et à la résistance aux agents pathogènes, une augmentation du nombre de reines (corrélation positive) et une diminution de la charge parasitaire (corrélation négative) dans les colonies les plus favorables devraient être attendu.

Leur absence de lien suggère que ces variables sont influencées par d'autres facteurs non inclus dans le modèle, par exemple d'autres pesticides comme les fongicides ou les insecticides non-néonicotinoïdes (e.g. pyréthrianoïdes, sulfoxaflor). Ceux-ci bien que parfois considérés comme moins toxiques, peuvent avoir des effets sublétaux ou interagir avec les néonicotinoïdes pour amplifier les effets sur les abeilles (Tsvetkov et al., 2017). La fragmentation du paysage ou la perte de continuité florale dans le temps sont des facteurs reconnus pour influencer négativement la viabilité des colonies, mais ne sont pas représentés ici (Porcher & Fontaine, 2019b). Enfin, les pathogènes (comme l'acarien *Parasitellus fucorum* ou des virus transmis par le varroa chez l'abeille domestique) constituent une source de stress biologique majeure, pouvant affaiblir l'immunité des individus et les rendre plus vulnérables aux pesticides, même à faibles doses (Pettis et al., 2012). L'absence de ces paramètres dans le modèle signifie que certaines situations perçues comme « favorables » selon notre double indicateur pourraient, en réalité, s'avérer problématiques dans un contexte multifactoriel.

Certaines limites méthodologiques peuvent également expliquer le manque de corrélation observé pour certains indicateurs. Le score repose sur un seuil de pondération arbitraire (valeur 3), qui pourrait s'avérer trop strict ou trop tolérant selon les composés chimiques considérés. Par ailleurs, l'agrégation des données sous forme de moyenne pondérée par la surface des parcelles ne prend pas en compte les contrastes intra-paysage ni la configuration spatiale des cultures. Ainsi, deux colonies exposées à des mosaïques environnementales très différentes peuvent recevoir un score similaire, malgré des contextes écologiques divergents.

Ce phénomène est illustré par le cas de la colonie 8 : bien que son score moyen (0,22) indique un environnement modérément favorable, elle est entourée de plusieurs parcelles classées en catégorie 0 ou -1, combinant forte densité de pollen et contamination élevée. Cette configuration mixte est difficile à détecter avec un indicateur moyen, ce qui souligne l'intérêt de maintenir une lecture spatiale fine dans l'analyse du risque écologique.

Plus largement, ce type d'agrégation masque les effets cumulatifs et non linéaires de l'environnement. Le comportement de butinage dépend fortement de la structure spatiale du paysage (Kremen et al., 2002), (Chakrabarti et al., 2015)). Les pollinisateurs ont tendance à concentrer leurs activités sur une portion restreinte des surfaces disponibles, ce qui rend une simple moyenne inapte à saisir la réalité fonctionnelle des interactions environnement-colonie.

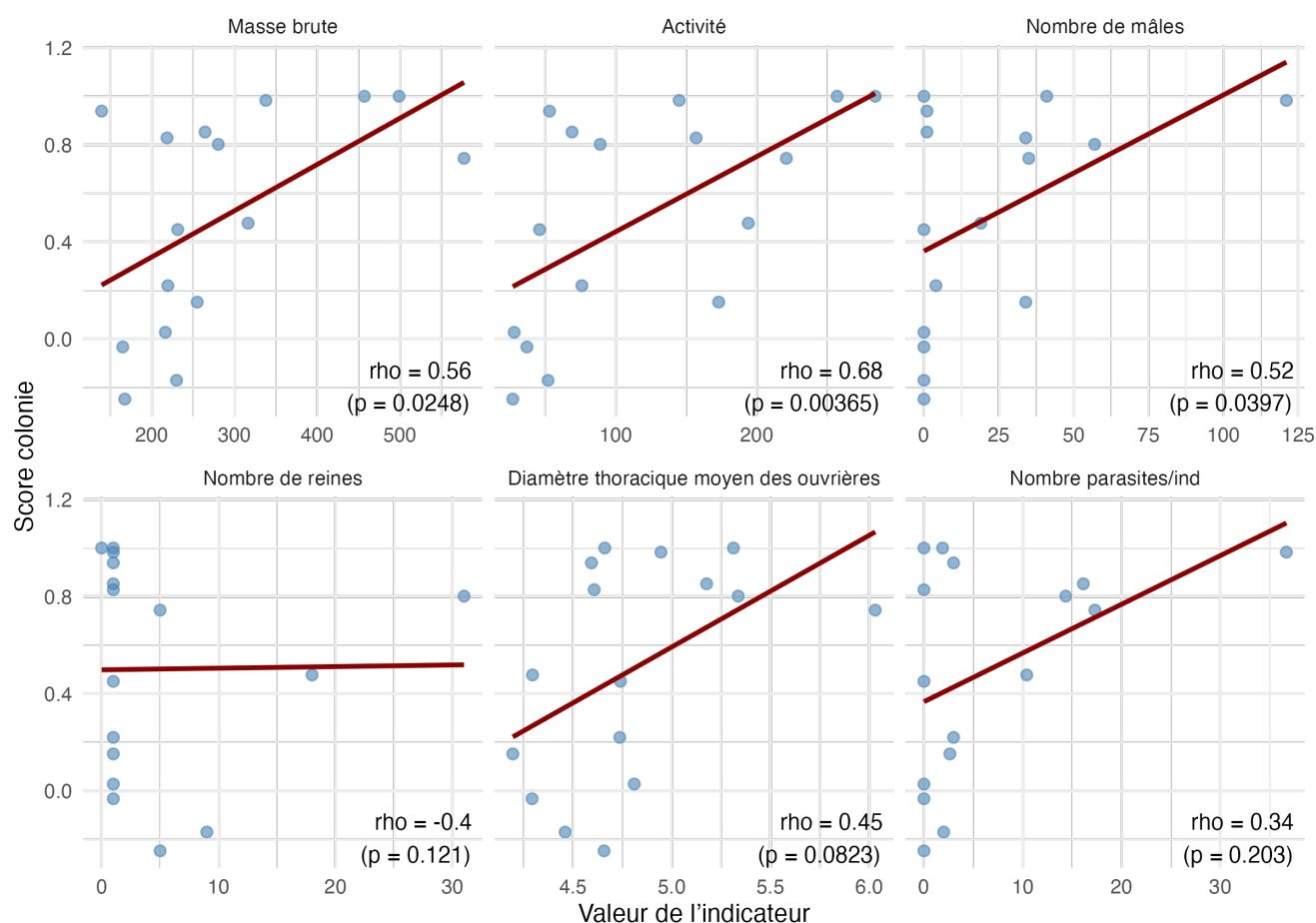


Figure 38 - Relation entre les scores obtenus et les indicateurs de santé par colonie avec une régression linéaire. Pour chaque indicateur, coefficient de corrélation de Spearman (en rang) et valeur de p-value.

6. Conclusion et perspectives

Ce mémoire visait à évaluer dans quelle mesure la santé des pollinisateurs peut être prédite à partir d'une approche croisant la disponibilité en ressources florales dans les milieux agricoles et leur niveau de contamination chimique, en particulier par les néonicotinoïdes. Ce croisement répond à un enjeu central de la recherche actuelle : comprendre les causes du déclin préoccupant des populations de pollinisateurs, sauvages comme domestiques, qui jouent pourtant un rôle crucial dans le maintien des écosystèmes et dans la production agricole mondiale.

Pour ce faire, un score synthétique a été élaboré à partir de données extrapolées de densité de pollen, ainsi que d'une estimation des concentrations en néonicotinoïdes fondée sur les rotations culturales et la présence de cultures susceptibles d'être contaminées. Ce score, calculé à l'échelle des parcelles, a ensuite été agrégé au niveau des colonies de *Bombus terrestris*, en pondérant par la surface des parcelles situées dans un rayon de 500 mètres autour de chaque ruche, afin de refléter au mieux la zone moyenne de butinage de cette espèce.

Les résultats obtenus montrent que ce score permet de capter certains signaux biologiques forts. Il est notamment corrélé à deux indicateurs clés de la vitalité des colonies : leur activité et leur gain de masse. Ces corrélations suggèrent que des environnements riches en ressources florales et faiblement contaminés offrent des conditions propices au développement des colonies. Ces éléments confirment l'intérêt de croiser les dimensions nutritionnelles et toxiques dans l'évaluation de la qualité écologique d'un paysage pour les pollinisateurs, en cohérence avec les travaux antérieurs sur les effets des néonicotinoïdes et de la disponibilité florale. En intégrant un facteur lié à l'occurrence répétée de cultures historiquement traitées, le modèle permet également de mieux représenter la contamination indirecte des sols, y compris dans les parcelles non traitées récemment. Il prend ainsi en compte la persistance des néonicotinoïdes dans l'environnement agricole, en lien avec leur temps de demi-vie élevé dans les sols. Cela constitue un atout important dans l'estimation du risque chronique auquel les pollinisateurs peuvent être exposés, au-delà des seules zones d'application directe.

Ce travail, mené dans le cadre du projet NUTRIBEE, s'inscrit ainsi dans une dynamique de recherche appliquée visant à mieux comprendre les facteurs combinés à l'origine du déclin des pollinisateurs dans les paysages agricoles tempérés. Il renforce également l'idée que les

pratiques agricoles, notamment la structure des rotations culturales, influencent de manière indirecte mais déterminante la santé des colonies.

Cependant, cette approche présente plusieurs limites qu'il convient de souligner. Certains indicateurs sensibles comme le nombre de reines produites ou la charge parasitaire moyenne ne sont pas significativement corrélés au score, ce qui suggère que des dimensions écologiques cruciales ; telles que la pression pathogène ou les dynamiques sociales internes ; pourraient ne pas être suffisamment prises en compte. Par ailleurs, des choix méthodologiques, comme le seuil de catégorisation ou l'agrégation spatiale, peuvent biaiser l'interprétation écologique des résultats. De plus, l'absence de prise en compte d'autres pressions, comme les fongicides ou la fragmentation du paysage, ainsi que la brièveté de la période d'observation (19 jours), limitent la portée des conclusions.

Dans le cadre des travaux du projet NUTRIBEE, ce mémoire propose une méthode intégrée combinant contamination chimique, ressources florales et structure du paysage pour évaluer l'environnement des pollinisateurs. Le score développé reflète partiellement l'attractivité florale à travers des densités de pollen mesurées, tout en neutralisant l'effet des cultures peu mellifères.

Pour les prochaines études, plusieurs pistes pourraient être explorées pour affiner cette approche. Intégrer un facteur de distance entre chaque parcelle et la colonie, raffiner les données florales (qualité, composition spécifique), considérer d'autres pressions chimiques et biologiques, ou encore prolonger la durée du suivi, permettraient de construire un indicateur spatialement pondéré plus représentatif des pressions effectivement rencontrées par les colonies. Ces améliorations contribueraient à développer des outils plus performants pour évaluer la qualité écologique des paysages agricoles, mais aussi à identifier avec plus de précision les leviers d'action pour enrayer le déclin de ces acteurs fondamentaux de la biodiversité.

7. Annexe

7.1. Méthode analyse des échantillons de terres récoltés

a) Préparation des échantillons avant analyse

Dans un tube Falcon de 50 mL, 5 g de sol sont mélangés avec 5 mL d'eau (voir figure), puis la suspension est agitée manuellement avant d'être laissée au repos pendant 30 minutes. Ensuite, 10 mL d'acétonitrile acidifié avec 2 % d'acide formique sont ajoutés. Le mélange est de nouveau agité manuellement, suivi d'une seconde macération de 30 minutes. Pour permettre la séparation des phases aqueuse et organique, un mélange de sels QuEChERS (Biosolve, France) est ajouté. Ce mélange est constitué de 4 g de sulfate de magnésium, 1 g de chlorure de sodium, 0,5 g de citrate de sodium dibasique sesquihydraté et 1 g de citrate de sodium tribasique dihydraté. Après ajout des sels, le tube est agité manuellement pendant 1 minute, puis centrifugé à 4800 rcf (relative centrifugal field) pendant 15 minutes à 4 °C. Le surnageant correspondant à la phase organique est ensuite filtré à travers un filtre en PTFE de 0,2 µm. La solution obtenue est transférée dans une fiole (vial) avant d'être analysée par chromatographie liquide couplée à un spectromètre de masse à haute résolution (LC-HRMS).

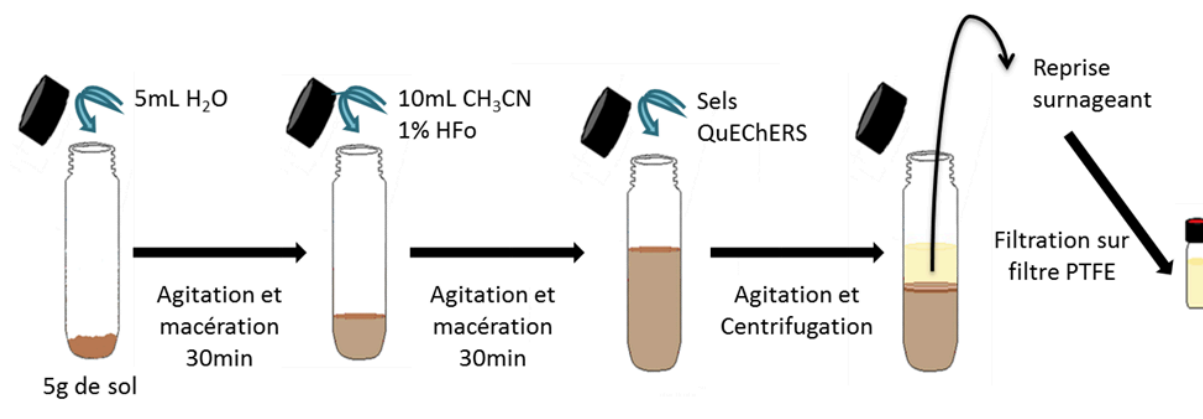


Figure 39 - Schéma d'extraction des produits de protection des plantes dans le sol (CRA-W, 2023)

b) Droite de calibration en matrice

La calibration est effectuée à partir de solutions stock préparées individuellement pour chaque molécule, celles-ci présentant une pureté supérieure à 99 % et étant dissoutes dans 20 mL d'acétone. Une solution mère combinée, contenant l'ensemble des molécules, est ensuite préparée dans de l'acétonitrile. À partir de cette solution mère, des dilutions successives sont réalisées afin d'obtenir une gamme de concentrations allant de 10 à 0,01 µg·L⁻¹.

Un sol de référence, prélevé sur une parcelle cultivée en agriculture biologique depuis environ vingt ans et ne présentant aucune trace des molécules ciblées, est utilisé pour valider la série d'analyses.

c) LC-HRMS

La quantification des concentrations de néonicotinoïdes a été réalisée par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse à haute résolution (LC-HRMS), en utilisant un système LC Nexera X2™ de Shimadzu et un spectromètre de masse à temps de vol de type Q-TOF (X500R, AB Sciex). Les standards ainsi que les échantillons ont été séparés à l'aide d'une colonne Waters Acquity UPLC™ (2,1 x 100 mm, 1,8 µm). Deux phases mobiles ont été utilisées : la phase A composée de 90 % d'eau et 10 % de méthanol, contenant 0,1 % d'acide formique et 2 mM de formiate d'ammonium, et la phase B composée de méthanol avec 0,1 % d'acide formique. Une séparation optimale a été obtenue grâce à un programme d'élution gradient (cf. tableau). Le débit d'élution était fixé à 0,3 mL·min⁻¹, à une température de 40 °C, avec un volume d'injection de 5 µL.

Tableau 6 - Gradient d'élution utilisé pour l'analyse multi-résidus en LC-HRMS

Temps [min]	Phase mobile	
	% A	% B
0	100	0
0,5	100	0
4	0	100
8,5	0	100
9	100	0
15	100	0

d) Qualité de la mesure

L'analyse du sol de référence a révélé l'absence de composés susceptibles d'interférer avec l'identification des substances actives analysées, à l'exception de la clothianidine. Dans ce cas, l'intensité du signal mesuré dans l'échantillon de référence a été soustraite des aires correspondantes pour chaque point de la courbe de calibration.

Les échantillons sont extraits et injectés par séries d'environ 20 échantillons. La linéarité de la réponse instrumentale a été évaluée pour chaque série d'injection, avec un coefficient de détermination (R²) supérieur ou égal à 0,99 pour chaque molécule. Des contrôles de

performance ont été effectués à trois niveaux de concentration (10, 1 et 0,2 µg·kg⁻¹) afin de vérifier un taux de récupération conforme aux critères d'acceptabilité, soit entre 70 % et 120 % selon la molécule et le niveau de concentration, avec un objectif de récupération de 100 %. Les limites de quantification varient selon la molécule analysée (voir tableau).

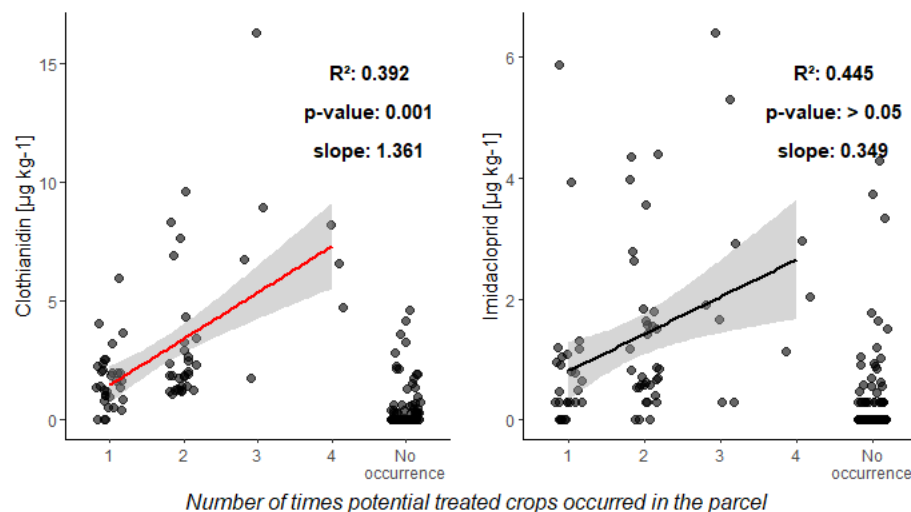
Tableau 7 - Limite de quantification (LQ)

Néonicotinoïde	LQ [µg.kg ⁻¹]
Acétamipride 0,1	0,1
Clothianidine	0,2
Flupyradifurone	0,1
Imidaclopride	0,4
Sulfoxaflor	1
Thiaclopride	0,15
Thiaméthoxame	0,3

7.2. Tableau des statistiques de détections échantillons pour chaque type de rotation de culture et chaque type de molécules de néonicotinoïdes

nom_cluster	variable	frequenc	Acetamiprid	Clothianidin	Flupyradifuron	Imidacloprid	Sulfoxaflor	Thiacloprid	Thiamethoxam
Grasslands	25	mean ± sd	0.48	0.01 ± 0.02	0.17 ± 0.43	ND	0.22 ± 0.51	ND	ND
Grasslands		median (ng.g-1)	0	0	0	0	0	0	0
Grasslands		frequency of detection	0.04	0.29	ND	0.24	ND	ND	ND
Grasslands		range	0-0.08	0-2.05	ND	0-1.77	ND	ND	ND
Fallows	3	mean ± sd	1	ND	0.2 ± 0.34	ND	0.41 ± 0.45	ND	ND
Fallows		median (ng.g-1)	0	0	0	0.21	0	0	0
Fallows		frequency of detection	ND	0.34	ND	1	ND	ND	ND
Fallows		range	ND	0-0.59	ND	0.11-0.93	ND	ND	ND
Beet-Cereals	16	mean ± sd	1	ND	2.1 ± 1.01	ND	1.46 ± 1.37	ND	0.03 ± 0.1
Beet-Cereals		median (ng.g-1)	0	1.87	0	0.94	0	0	0
Beet-Cereals		frequency of detection	ND	1	ND	0.94	ND	0.07	0.13
Beet-Cereals		range	ND	1.08-4.8	ND	0-4.9	ND	0-0.38	0-0.38
Beet-Cereals n*2	12	mean ± sd	1	0.02 ± 0.05	4.27 ± 3.54	ND	1.5 ± 1.53	ND	0.02 ± 0.04
Beet-Cereals n*2		median (ng.g-1)	0	3.17	0	0.94	0	0	0
Beet-Cereals n*2		frequency of detection	0.09	0.92	ND	0.92	ND	0.09	0.09
Beet-Cereals n*2		range	0-0.18	0-10.69	ND	0-4.35	ND	0-0.13	0-0.13
Flax-Cereals	4	mean ± sd	1	0.04 ± 0.08	1.66 ± 1.75	ND	0.24 ± 0.31	ND	ND
Flax-Cereals		median (ng.g-1)	0	1.15	0	0.16	0	0	0
Flax-Cereals		frequency of detection	0.25	1	ND	0.5	ND	ND	ND
Flax-Cereals		range	0-0.16	0.16-4.19	ND	0-0.64	ND	ND	ND
Rapeseed-Cereals	5	mean ± sd	1	0.02 ± 0.03	0.88 ± 0.83	0.15 ± 0.2	0.25 ± 0.34	ND	ND
Rapeseed-Cereals		median (ng.g-1)	0	1.14	0	0	0	0	0
Rapeseed-Cereals		frequency of detection	0.2	0.6	0.4	0.4	ND	ND	ND
Rapeseed-Cereals		range	0-0.06	0-1.69	0-0.42	0-0.69	ND	ND	ND
Fabaceae dominant	8	mean ± sd	0.75	ND	0.89 ± 1	ND	0.93 ± 1.8	ND	0.05 ± 0.14
Fabaceae dominant		median (ng.g-1)	0	0.68	0	0.34	0	0	0
Fabaceae dominant		frequency of detection	ND	0.5	ND	0.63	ND	0.13	ND
Fabaceae dominant		range	ND	0-2.28	ND	0-5.3	ND	0-0.38	ND
Vegetable dominant	2	mean ± sd	1	0.12 ± 0.17	0.49 ± 0.03	ND	0.94 ± 0.9	ND	ND
Vegetable dominant		median (ng.g-1)	0.12	0.49	0	0.94	0	0	0
Vegetable dominant		frequency of detection	0.5	1	ND	1	ND	ND	ND
Vegetable dominant		range	0-0.24	0.47-0.5	ND	0.31-1.57	ND	ND	ND
Maize dominant	11	mean ± sd	0.64	0.02 ± 0.03	0.23 ± 0.37	ND	0.28 ± 0.38	ND	ND
Maize dominant		median (ng.g-1)	0	0	0	0	0	0	0
Maize dominant		frequency of detection	0.19	0.37	ND	0.46	ND	ND	ND
Maize dominant		range	0-0.08	0-0.95	ND	0-0.98	ND	ND	ND

7.3. Augmentation observée de la concentration en clothianidine et imidaclopride à chaque occurrence supplémentaire de betteraves sucrières et légumineuses dans la rotation.



Références

- Adriaens, T. (2005). Book review: Bumblebees, Their Behaviour and Ecology. Goulson, D. (2003). *Journal of Insect Conservation*, 9, 61–63. <https://doi.org/10.1007/s10841-004-2834-x>
- Agence canadienne d'inspection des aliments. (2015). *Biologie de Solanum tuberosum L. (Pomme de terre)*. <https://inspection.canada.ca/fr/varietes-vegetales/vegetaux-caracteres-nouveaux/demandeurs/directive-94-08/documents-biologie/solanum-tuberosum>
- Alaux, C., Ducloz, F., Crauser, D., & Le Conte, Y. (2010). Diet effects on honeybee immunocompetence. *Biology Letters*, 6(4), 562–565. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2009.0986>
- Alsafran, M., Rizwan, M., Usman, K., Saleem, M. H., & Jabri, H. A. (2022a). Neonicotinoid insecticides in the environment: A critical review of their distribution, transport, fate, and toxic effects. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 10(5), 108485. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2022.108485>
- Alsafran, M., Rizwan, M., Usman, K., Saleem, M. H., & Jabri, H. A. (2022b). Neonicotinoid insecticides in the environment: A critical review of their distribution, transport, fate, and toxic effects. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 10(5), 108485. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2022.108485>
- Anadón, A., Ares, I., Martínez, M., Martínez-Larrañaga, M.-R., & Martínez, M.-A. (2020). Chapter Four—Neurotoxicity of Neonicotinoids. In M. Aschner & L. G. Costa (Eds.), *Advances in Neurotoxicology* (Vol. 4, pp. 167–207). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/bs.ant.2019.11.005>

- Ares, A. M., Martín, M. T., Toribio, L., & Bernal, J. (2022). Determination of Free Amino Acids in Bee Pollen by Liquid Chromatography with Fluorescence Detection. *Food Analytical Methods*, 15(8), 2172–2180. <https://doi.org/10.1007/s12161-022-02281-8>
- Basu, P., Parui, A. K., Chatterjee, S., Dutta, A., Chakraborty, P., Roberts, S., & Smith, B. (2016). Scale dependent drivers of wild bee diversity in tropical heterogeneous agricultural landscapes. *Ecology and Evolution*, 6(19), 6983–6992. <https://doi.org/10.1002/ece3.2360>
- Belsky, J. E., Camp, A. A., & Lehmann, D. M. (2020). The Importance of Males to Bumble Bee (Bombus Species) Nest Development and Colony Viability. *Insects*, 11(8), Article 8. <https://doi.org/10.3390/insects11080506>
- Bonmatin, J.-M., Giorio, C., Girolami, V., Goulson, D., Kreutzweiser, D. P., Krupke, C., Liess, M., Long, E., Marzaro, M., Mitchell, E. A. D., Noome, D. A., Simon-Delso, N., & Tapparo, A. (2015). Environmental fate and exposure; neonicotinoids and fipronil. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(1), 35–67. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3332-7>
- Borsuah, J. F., Messer, T. L., Snow, D. D., Comfort, S. D., & Mittelstet, A. R. (2020). Literature Review: Global Neonicotinoid Insecticide Occurrence in Aquatic Environments. *Water*, 12(12), Article 12. <https://doi.org/10.3390/w12123388>
- Botías, C., David, A., Hill, E. M., & Goulson, D. (2016). Contamination of wild plants near neonicotinoid seed-treated crops, and implications for non-target insects. *Science of The Total Environment*, 566–567, 269–278. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.05.065>

- Buchanan, A. L., Gibbs, J., Komondy, L., & Szendrei, Z. (2017). Bee Community of Commercial Potato Fields in Michigan and *Bombus impatiens* Visitation to Neonicotinoid-Treated Potato Plants. *Insects*, 8(1), 30. <https://doi.org/10.3390/insects8010030>
- Carrié, R. (2016, November 29). *Hétérogénéité des paysages et des pratiques agricoles—Effets sur la diversité des abeilles sauvages et la pollinisation*. <https://www.semanticscholar.org/paper/H%C3%A9t%C3%A9rog%C3%A9n%C3%A9it%C3%A9-des-paysages-et-des-pratiques-Effets-Carrie%CC%81/acebd8cad375432b5142c20237e620baeb53c200>
- Chakrabarti, P., Rana, S., Sarkar, S., Smith, B., & Basu, P. (2015). Pesticide-induced oxidative stress in laboratory and field populations of native honey bees along intensive agricultural landscapes in two Eastern Indian states. *Apidologie*, 46(1), 107–129. <https://doi.org/10.1007/s13592-014-0308-z>
- Chauzat, M.-P., Faucon, J.-P., Martel, A.-C., Lachaize, J., Cougoule, N., & Aubert, M. (2006). Les pesticides, le pollen et les abeilles. *La Santé de l'Abeille*, 216, 443.
- CRA-W. (2023). CRA-W. Centre wallon de Recherches agronomiques. <https://www.cra.wallonie.be/fr/>
- De-Melo, A. A. M., & de Almeida-Muradian, L. B. (2017). Chemical Composition of Bee Pollen. In J. M. Alvarez-Suarez (Ed.), *Bee Products—Chemical and Biological Properties* (pp. 221–259). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-59689-1_11
- EFSA. (2021, November 18). *Néonicotinoïdes: L'EFSA évalue les utilisations d'urgence sur la betterave sucrière en 2020/21* / EFSA. <https://www.efsa.europa.eu/fr/news/neonicotinoids-efsa-assesses-emergency-uses-sugar-beet-202021>

- El-Seedi, H. R., El-Wahed, A. A. A., Naggar, Y. A., Saeed, A., Xiao, J., Ullah, H., Musharraf, S. G., Boskabady, M. H., Cao, W., Guo, Z., Daglia, M., El Wakil, A., Wang, K., & Khalifa, S. A. M. (2022). Insights into the Role of Natural Products in the Control of the Honey Bee Gut Parasite (Nosema spp.). *Animals*, 12(21), Article 21. <https://doi.org/10.3390/ani12213062>
- EU Pesticides Database. (2022). *EU Pesticides Database—Active substances—Active substance details*. <https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/start/screen/active-substances/details/1050>
- European Court of Auditors. (2020). *Protection des pollinisateurs sauvages dans l'Union européenne: Les initiatives de la Commission n'ont pas porté leurs fruits*. Publications Office. <https://data.europa.eu/doi/10.2865/966933>
- FAO. (2025). *A propos / Action mondiale en faveur des services de pollinisation pour une agriculture durable / Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture*. PollinationServices. <https://www.fao.org/pollination/about/fr>
- Fauvau, A. (2023). *Abeilles sauvages et pollinisation en milieux urbanisés: Approches expérimentales et méta-analytiques à grande échelle* [Phdthesis, Sorbonne Université]. <https://theses.hal.science/tel-04443911>
- Féon, V. L. (2010a). *Insectes pollinisateurs dans les paysages agricoles: Approche pluri-échelle du rôle des habitats semi-naturels, des pratiques agricoles et des cultures entomophiles* [Phdthesis, Université Rennes 1]. <https://theses.hal.science/tel-00566660>
- Féon, V. L. (2010b, October 14). *Insectes pollinisateurs dans les paysages agricoles: Approche pluri-échelle du rôle des habitats semi-naturels, des pratiques agricoles et des cultures entomophiles*. <https://www.semanticscholar.org/paper/Insectes-pollinisateurs-dans-les-paysages-agricoles-F%C3%A9on/2c1d6545649ab1979f0e543c96b451db88c1e18a>

- Gallai, N. (2009). *Evaluation économique de l'impact des insectes pollinisateurs sur l'agriculture européenne* [These de doctorat, Montpellier 1]. <https://theses.fr/2009MON10036>
- Gallai, N., Salles, J.-M., Settele, J., & Vaissière, B. E. (2009). Economic valuation of the vulnerability of world agriculture confronted with pollinator decline. *Ecological Economics*, 68(3), 810–821. <https://doi.org/10.1016/j.ecolecon.2008.06.014>
- Garibaldi, L. A., Steffan-Dewenter, I., Winfree, R., Aizen, M. A., Bommarco, R., Cunningham, S. A., Kremen, C., Carvalheiro, L. G., Harder, L. D., Afik, O., Bartomeus, I., Benjamin, F., Boreux, V., Cariveau, D., Chacoff, N. P., Dudenhöffer, J. H., Freitas, B. M., Ghazoul, J., Greenleaf, S., ... Klein, A. M. (2013). Wild Pollinators Enhance Fruit Set of Crops Regardless of Honey Bee Abundance. *Science*, 339(6127), 1608–1611. <https://doi.org/10.1126/science.1230200>
- Gasparic, H. V., Grubelic, M., Uzelac, V. D., Bazok, R., Cacija, M., Drmic, Z., & Lemic, D. (2020). Neonicotinoid Residues in Sugar Beet Plants and Soil under Different Agro-Climatic Conditions. *Agriculture*, 10(10), 1–16.
- Gaudiaut. (2019, February 11). *Infographie: Le déclin massif des insectes menace les écosystèmes*. Statista Daily Data. <https://fr.statista.com/infographie/16973/diminution-des-populations-insectes-extinction-animale>
- Gilliam, M. (1979). MICROBIOLOGY OF POLLEN AND BEE BREAD: THE YEASTS. *Apidologie*, 10(1), 43–53. <https://doi.org/10.1051/apido:19790106>
- Glavan, G., Benko, G., & Božič, J. (2024). Impact of copper and zinc oral chronic exposure on Carniolan honey bee survival and feeding preference. *Journal of Economic Entomology*, 117(4), 1485–1492. <https://doi.org/10.1093/jee/toae108>

- Goulson. (2010). *Bumblebees: Behaviour, Ecology, and Conservation* | Request PDF. ResearchGate.
https://www.researchgate.net/publication/305346861_Bumblebees_behaviour_ecology_and_conservation
- Goulson, D. (2013). REVIEW: An overview of the environmental risks posed by neonicotinoid insecticides. *Journal of Applied Ecology*, 50(4), 977–987. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.12111>
- Grupe, A. C., & Quandt, C. A. (2020). A growing pandemic: A review of *Nosema* parasites in globally distributed domesticated and native bees. *PLoS Pathogens*, 16(6), e1008580. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1008580>
- Hadley et al. (2024). (PDF) The effects of landscape fragmentation on pollination dynamics: Absence of evidence not evidence of absence. *ResearchGate*.
https://www.researchgate.net/publication/51812928_The_effects_of_landscape_fragmentation_on_pollination_dynamics_Absence_of_evidence_not_evidence_of_absence
- Harrison, S., Spasojevic, M. J., & Li, D. (2020). Climate and plant community diversity in space and time. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 117(9), 4464–4470. <https://doi.org/10.1073/pnas.1921724117>
- Heil, M. (2011). Nectar: Generation, regulation and ecological functions. *Trends in Plant Science*, 16(4), 191–200. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2011.01.003>
- Hladik, M. L., Main, A. R., & Goulson, D. (2018). Environmental Risks and Challenges Associated with Neonicotinoid Insecticides. *Environmental Science & Technology*, 52(6), 3329–3335. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b06388>

- Holzschuh, A., Steffan-Dewenter, I., Kleijn, D., & Tscharntke, T. (2007). Diversity of flower-visiting bees in cereal fields: Effects of farming system, landscape composition and regional context. *Journal of Applied Ecology*, 44(1), 41–49.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2664.2006.01259.x>
- Ihara, M., & Matsuda, K. (2018). Neonicotinoids: Molecular mechanisms of action, insights into resistance and impact on pollinators. *Current Opinion in Insect Science*, 30, 86–92.
<https://doi.org/10.1016/j.cois.2018.09.009>
- IPBES. (2016). *Summary for policymakers of the assessment report of the Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services on pollinators, pollination and food production*. Zenodo. <https://doi.org/10.5281/zenodo.2616458>
- IRM. (2024). *Atlas climatique*. KMI. <https://www.meteo.be/fr/climat/climat-de-la-belgique/atlas-climatique/cartes-climatiques/precipitations/quantites-de-precipitations/annuel>
- Kearns and al. (2024). (PDF) Kearns CA, Inouye DW, Waser NM. Endangered mutualisms: The conservation of plant-pollinator interactions. *Ann Rev Ecol Syst* 29: 83-112. *ResearchGate*. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.29.1.83>
- Kennedy, C. M., Lonsdorf, E., Neel, M. C., Williams, N. M., Ricketts, T. H., Winfree, R., Bommarco, R., Brittain, C., Burley, A. L., Cariveau, D., Carvalheiro, L. G., Chacoff, N. P., Cunningham, S. A., Danforth, B. N., Dudenhöffer, J.-H., Elle, E., Gaines, H. R., Garibaldi, L. A., Gratton, C., ... Kremen, C. (2013). A global quantitative synthesis of local and landscape effects on wild bee pollinators in agroecosystems. *Ecology Letters*, 16(5), 584–599.
<https://doi.org/10.1111/ele.12082>
- Khalifa, S. A. M., Elshafiey, E. H., Shetaia, A. A., El-Wahed, A. A. A., Algethami, A. F., Musharraf, S. G., AlAjmi, M. F., Zhao, C., Masry, S. H. D., Abdel-Daim, M. M., Halabi, M. F., Kai, G., Al

- Naggar, Y., Bishr, M., Diab, M. A. M., & El-Seedi, H. R. (2021). Overview of Bee Pollination and Its Economic Value for Crop Production. *Insects*, 12(8), Article 8. <https://doi.org/10.3390/insects12080688>
- Klecka, J., Hadrava, J., Biella, P., & Akter, A. (2018). Flower visitation by hoverflies (Diptera: Syrphidae) in a temperate plant-pollinator network. *PeerJ*, 6, e6025. <https://doi.org/10.7717/peerj.6025>
- Kleijn, D., Winfree, R., Bartomeus, I., Carvalheiro, L. G., Henry, M., Isaacs, R., Klein, A.-M., Kremen, C., M'Gonigle, L. K., Rader, R., Ricketts, T. H., Williams, N. M., Lee Adamson, N., Ascher, J. S., Báldi, A., Batáry, P., Benjamin, F., Biesmeijer, J. C., Blitzer, E. J., ... Potts, S. G. (2015). Delivery of crop pollination services is an insufficient argument for wild pollinator conservation. *Nature Communications*, 6, 7414. <https://doi.org/10.1038/ncomms8414>
- Knapp, J. L., Nicholson, C. C., Jonsson, O., de Miranda, J. R., & Rundlöf, M. (2023). Ecological traits interact with landscape context to determine bees' pesticide risk. *Nature Ecology & Evolution*, 7(4), 547–556. <https://doi.org/10.1038/s41559-023-01990-5>
- Komosinska-Vassev, K., Olczyk, P., Kaźmierczak, J., Mencner, L., & Olczyk, K. (2015). Bee Pollen: Chemical Composition and Therapeutic Application. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015(1), 297425. <https://doi.org/10.1155/2015/297425>
- Kremen, C., Williams, N. M., Aizen, M. A., Gemmill-Herren, B., LeBuhn, G., Minckley, R., Packer, L., Potts, S. G., Roulston, T., Steffan-Dewenter, I., Vázquez, D. P., Winfree, R., Adams, L., Crone, E. E., Greenleaf, S. S., Keitt, T. H., Klein, A.-M., Regetz, J., & Ricketts, T. H. (2007). Pollination and other ecosystem services produced by mobile organisms: A conceptual framework for the effects of land-use change. *Ecology Letters*, 10(4), 299–314. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2007.01018.x>

- Kremen, C., Williams, N. M., & Thorp, R. W. (2002). Crop pollination from native bees at risk from agricultural intensification. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(26), 16812–16816.
<https://doi.org/10.1073/pnas.262413599>
- Le Féon, V. (2010). *Insectes pollinisateurs dans les paysages agricoles: Approche pluri-échelle du rôle des habitats semi-naturels, des pratiques agricoles et des cultures entomophiles* [These de doctorat, Rennes 1]. <https://theses.fr/2010REN1S131>
- Lewis, K., Tzilivakis, J., Warner, D., & Green, A. (2016). An international database for pesticide risk assessments and management. *Human and Ecological Risk Assessment*, 22(4), 1050–1064. <https://doi.org/10.1080/10807039.2015.1133242>
- Li, Y., Li, Y., Bi, G., Ward, T. J., & Li, L. (2023). Adsorption and degradation of neonicotinoid insecticides in agricultural soils. *Environmental Science and Pollution Research*, 30(16), 47516–47526. <https://doi.org/10.1007/s11356-023-25671-9>
- Mainchain. (2021). *Blackfox—Comment reconnaître les insectes pollinisateurs au jardin ?*
<https://www.blackfox-shop.com/en/activites-a-faire-en-famille-au-fil-des-saisons/comment-reconnaitre-les-insectes-pollinisateurs-au-jardin>
- Mamy, L., Pesce, S., Sanchez, W., Aviron, S., Bedos, C., Berny, P., Bertrand, C., Betoulle, S., Charles, S., Chaumot, A., Coeurdassier, M., Coutellec, M.-A., Crouzet, O., Faburé, J., Fritsch, C., Gonzalez, P., Hedde, M., Leboulanger, C., Margoum, C., ... Leenhardt, S. (2025). Impacts of neonicotinoids on biodiversity: A critical review. *Environmental Science and Pollution Research International*, 32(6), 2794–2829.
<https://doi.org/10.1007/s11356-023-31032-3>

- Marina Julienne. (2024). *L'apprentissage des abeilles perturbé par les métaux lourds*. CNRS Le journal. <https://lejournal.cnrs.fr/articles/lapprentissage-des-abeilles-perturbe-par-les-metaux-lourds>
- Masson, E. (2016). *Changement climatique et pollinisation*. EM-Consulte. <https://www.em-consulte.com/article/774006/changement-climatique-et-pollinisation>
- Monceau, K. (2017). *Vespa velutina: Current situation and perspectives*. <https://www.semanticscholar.org/paper/Vespa-velutina%3A-Current-situation-and-perspectives-Monceau/c169fddf375374bae714b89bac168e75bc332b70>
- Monchanin, C. (2021). *Impacts des polluants métalliques sur l'abeille: De la colonie au cerveau* [Thesis, Toulouse 3]. https://theses.fr/2021TOU30087?utm_source=chatgpt.com
- Monchanin, C., Blanc-Brude, A., Drujont, E., Negahi, M. M., Pasquaretta, C., Silvestre, J., Baqué, D., Elger, A., Barron, A. B., Devaud, J.-M., & Lihoreau, M. (2021). Chronic exposure to trace lead impairs honey bee learning. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 212, 112008. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112008>
- Mousavinasab, S. M. (2011). Biocompatibility of composite resins. *Dental Research Journal*, 8(Suppl 1), S21-29.
- Murtagh, F., & Legendre, P. (2014). Ward's Hierarchical Agglomerative Clustering Method: Which Algorithms Implement Ward's Criterion? *J. Classif.*, 31(3), 274–295. <https://doi.org/10.1007/s00357-014-9161-z>
- Nicolson, S. W. (2022). Sweet solutions: Nectar chemistry and quality. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 377(1853), 20210163. <https://doi.org/10.1098/rstb.2021.0163>

- Noël, A., Le Conte, Y., & Mondet, F. (2020). Varroa destructor: How does it harm Apis mellifera honey bees and what can be done about it? *Emerging Topics in Life Sciences*, 4(1), 45–57. <https://doi.org/10.1042/ETLS20190125>
- Perrin. (2023, September 12). *La fertilité des sols, de quoi s'agit-il ?* Terres Inovia. https://www.terresinovia.fr/-/la-fertilite-des-sols-de-quoi-s-agit-il?utm_source=chatgpt.com
- Perrot, T., Bretagnolle, V., & Gaba, S. (2022). Environmentally friendly landscape management improves oilseed rape yields by increasing pollinators and reducing pests. *Journal of Applied Ecology*, 59(7), 1825–1836. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.14190>
- Pesticide Action Network Europe ASBL ea contre État belge, No. Affaire C-162/21 (Cour de justice 2023). <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/?uri=CELEX%3A62021CJ0162&qid=1717760743945>
- Pettis, J. S., vanEngelsdorp, D., Johnson, J., & Dively, G. (2012). Pesticide exposure in honey bees results in increased levels of the gut pathogen Nosema. *Die Naturwissenschaften*, 99(2), 153–158. <https://doi.org/10.1007/s00114-011-0881-1>
- Phillips, B. B., Shaw, R. F., Holland, M. J., Fry, E. L., Bardgett, R. D., Bullock, J. M., & Osborne, J. L. (2018). Drought reduces floral resources for pollinators. *Global Change Biology*, 24(7), 3226–3235. <https://doi.org/10.1111/gcb.14130>
- Phytoweb. (2025). *Consulter autorisations de produits phytopharmaceutiques | Phytoweb*. <https://fytoweb.be/fr/produits-phytopharmaceutiques/consulter-autorisations-de-produits-phytopharmaceutiques>
- Porcher, E., & Fontaine, C. (2019a). *Paysages, pollinisateurs et niveaux de pollinisation*. <https://mnhn.hal.science/mnhn-02915524>

- Porcher, E., & Fontaine, C. (2019b). *Paysages, pollinisateurs et niveaux de pollinisation*.
<https://mnhn.hal.science/mnhn-02915524>
- Porto, R. G., de Almeida, R. F., Cruz-Neto, O., Tabarelli, M., Viana, B. F., Peres, C. A., & Lopes, A. V. (2020). Pollination ecosystem services: A comprehensive review of economic values, research funding and policy actions. *Food Security*, 12(6), 1425–1442.
<https://doi.org/10.1007/s12571-020-01043-w>
- Potts, S. G., Biesmeijer, J. C., Kremen, C., Neumann, P., Schweiger, O., & Kunin, W. E. (2010). Global pollinator declines: Trends, impacts and drivers. *Trends in Ecology & Evolution*, 25(6), 345–353. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2010.01.007>
- Potts, S. G., Imperatriz-Fonseca, V., Ngo, H. T., Aizen, M. A., Biesmeijer, J. C., Breeze, T. D., Dicks, L. V., Garibaldi, L. A., Hill, R., Settele, J., & Vanbergen, A. J. (2016). Safeguarding pollinators and their values to human well-being. *Nature*, 540(7632), 220–229.
<https://doi.org/10.1038/nature20588>
- Raderschall, C. A., Bommarco, R., Lindström, S. A. M., & Lundin, O. (2021). Landscape crop diversity and semi-natural habitat affect crop pollinators, pollination benefit and yield. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 306, 107189.
<https://doi.org/10.1016/j.agee.2020.107189>
- Ragué, M. (2021). *Dynamiques spatiale et temporelle des paysages agricoles: Conséquences sur les interactions plantes-pollinisateurs et la pollinisation* [Phdthesis, Université de La Rochelle]. <https://theses.hal.science/tel-03721214>
- Reams, T., & Rangel, J. (2022). Understanding the Enemy: A Review of the Genetics, Behavior and Chemical Ecology of *Varroa destructor*, the Parasitic Mite of *Apis mellifera*. *Journal of Insect Science*, 22(1), 18. <https://doi.org/10.1093/jisesa/ieab101>

- Règlement d'exécution—485/2013—EN* - EUR-Lex. (n.d.). Retrieved June 9, 2025, from https://eur-lex.europa.eu/eli/reg_impl/2013/485/oj/eng
- Règlement d'exécution—2018/784—EN* - EUR-Lex. (n.d.). Retrieved June 9, 2025, from https://eur-lex.europa.eu/eli/reg_impl/2018/784/oj/fra
- Rhodes, C. (2018). Pollinator Decline – An Ecological Calamity in the Making? *Science in Progress*. <https://www.semanticscholar.org/paper/Pollinator-Decline-%E2%80%93-An-Ecological-Calamity-in-the-Rhodes/ba3c42a30cd6da7de6210e222e07cbc8c76a439e>
- Robert, C. (2011). Colza et abeilles: Exposé de la problématique et mise en place d'un dispositif de vigilance sur les ruchers en région Centre. *Oléagineux, Corps gras, Lipides*, 18(3), Article 3. <https://doi.org/10.1051/ocl.2011.0385>
- Roman, A. (2009). Concentration of Chosen Trace Elements of Toxic Properties in Bee Pollen Loads. *Polish Journal of Environmental Studies*. <https://www.semanticscholar.org/paper/Concentration-of-Chosen-Trace-Elements-of-Toxic-in-Roman/ce7a46cffcf31c56783359e6e1e410d3a81a85d>
- Rotheray, E. L., Osborne, Juliet L., & Goulson, D. (2017). Quantifying the food requirements and effects of food stress on bumble bee colony development. *Journal of Apicultural Research*, 56(3), 288–299. <https://doi.org/10.1080/00218839.2017.1307712>
- Roubik. (1995). *Pollination of cultivated plants in the tropics*. <https://openknowledge.fao.org/items/5766a43d-68f4-4af3-9489-6d48eeb5ada8>
- SAGe pesticides. (2025). *SAGe pesticides*. SAGe pesticides. <https://www.sagepesticides.qc.ca/>
- Sahani, S. K., Chandra, K., Girase, I. P., Saikanth, D. R. K., Singh, S., Swamy, G. N., & Singh, B. V. (2023). Role of Insect Pollinators in Crop Production and Ecosystem. *UTTAR PRADESH JOURNAL OF ZOOLOGY*, 44(18), 42–52. <https://doi.org/10.56557/upjz/2023/v44i183604>

- Sartre, X. A. de, Oszwald, J., Castro, M., & Dufour, S. (2014). *Political ecology des services écosystémiques* (Vol. 21). PIE Peter lang. <https://shs.hal.science/halshs-01098622>
- Simon-Delso, N., Amaral-Rogers, V., Belzunces, L. P., Bonmatin, J. M., Chagnon, M., Downs, C., Furlan, L., Gibbons, D. W., Giorio, C., Girolami, V., Goulson, D., Kreutzweiser, D. P., Krupke, C. H., Liess, M., Long, E., McField, M., Mineau, P., Mitchell, E. A. D., Morrissey, C. A., ... Wiemers, M. (2015). Systemic insecticides (neonicotinoids and fipronil): Trends, uses, mode of action and metabolites. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(1), 5–34. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3470-y>
- Simon-Delso, N., Amaral-Rogers, V., Belzunces, L. P., Bonmatin, J.-M., Chagnon, M., Downs, C., Furlan, L., Gibbons, D. W., Giorio, C., Girolami, V., Goulson, D., Kreutzweiser, D. P., Krupke, C. H., Liess, M., Long, E., Mcfield, M., Mineau, P., Mitchell, E. A. D., Morrissey, C. A., ... Wiemers, M. (2014). *Pesticides néonicotinoïdes. Tendances, usages et modes d'action des métabolites*. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3470-y>
- Somerville, D. (2000). *Pollen trapping and storage*. <https://www.semanticscholar.org/paper/Pollen-trapping-and-storage.-Somerville/2a10635989d29c9fe75f88d3b3ced67c9a34b172>
- Spipoll. (n.d.). *Ils pollinisent—Office pour les insectes et leur environnement | Opie*. <https://www.insectes.org/content/37-ils-pollinisent>
- SPW. (n.d.-a). *Régions agricoles de Wallonie*. Etat de l'Agriculture Wallonne. Retrieved January 21, 2025, from https://etat-agriculture.wallonie.be/contents/indicatorsheets/EAW-A_I_d_2.html
- SPW. (n.d.-b). *Régions agricoles de Wallonie*. Etat de l'Agriculture Wallonne. Retrieved June 6, 2025, from https://etat-agriculture.wallonie.be/contents/indicatorsheets/EAW-A_I_d_2.html

- SPW. (2023). *Biodiversité—État de l'environnement wallon*. Etat de l'environnement wallon.
<https://etat.environnement.wallonie.be/home/diagnostic/biodiversite-1.html>
- Thakur, M., & Nanda, V. (2020). Composition and functionality of bee pollen: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 98, 82–106. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.02.001>
- Trapp, S., Rein, A., & Fantke, P. (2024). Initial pesticide residue concentrations in nectar and pollen after spray application on flowering plants for assessing impacts on pollination. *Environmental Sciences Europe*, 36(1), 214. <https://doi.org/10.1186/s12302-024-01039-9>
- Tsvetkov, N., Samson-Robert, O., Sood, K., Patel, H. S., Malena, D. A., Gajiwala, P. H., Maciukiewicz, P., Fournier, V., & Zayed, A. (2017). Chronic exposure to neonicotinoids reduces honey bee health near corn crops. *Science*, 356(6345), 1395–1397. <https://doi.org/10.1126/science.aam7470>
- Vaissière, B. (2002). *Abeilles et pollinisation*.
- Van Rooij, S. A. M., Pleijte, M., Steingröver, E. G., & De Groot, G. A. (2023). *Collaborer pour une terre de pollinisateurs: Que pouvons-nous faire?* <https://doi.org/10.18174/585214>
- Vanhove. (2018). *Classification des pratiques d'agriculteurs et relation avec les caractéristiques structurales et biologiques des sols en régions limoneuse et sablo-limoneuse de Wallonie*. <https://hdl.handle.net/2078.2/7338>
- Wang, W.-J., Lin, Y.-T., Chen, H.-F., Huang, M.-Y., Ren, Z.-X., & Zhao, J.-L. (2025). Diurnal nectar secretion dynamics in *Roscoea cautleoides* (Zingiberaceae) reveal the role of non-sugar chemicals in plant–pollinator interaction. *Current Plant Biology*, 41, 100443. <https://doi.org/10.1016/j.cpb.2025.100443>
- Westphal et al. (2006). Foraging trip duration of bumblebees in relation to landscape-wide resource availability | Request PDF. *ResearchGate*.

https://www.researchgate.net/publication/227798869_Foraging_trip_duration_of_bumblebees_in_relation_to_landscape-wide_resource_availability

Wintermantel, D., Odoux, J. F., Decourtye, A., Henry, M., Allier, F., & Bretagnolle, V. (2018). *Les restrictions européennes sur l'usage des néonicotinoïdes n'ont pas vraiment éliminé le risque pour les abeilles qui butinent le nectar de colza.*

<https://agris.fao.org/search/en/providers/122439/records/64747267425ec3c088f2b3bb>

Woodcock, B. A., Bullock, J. M., Shore, R. F., Heard, M. S., Pereira, M. G., Redhead, J., Ridding, L., Dean, H., Sleep, D., Henrys, P., Peyton, J., Hulmes, S., Hulmes, L., Sárospataki, M., Saure, C., Edwards, M., Genersch, E., Knäbe, S., & Pywell, R. F. (2017). Country-specific effects of neonicotinoid pesticides on honey bees and wild bees. *Science (New York, N.Y.)*, 356(6345), 1393–1395. <https://doi.org/10.1126/science.aaa1190>

Zhang, X., Huang, Y., Chen, W.-J., Wu, S., Lei, Q., Zhou, Z., Zhang, W., Mishra, S., Bhatt, P., & Chen, S. (2023). Environmental occurrence, toxicity concerns, and biodegradation of neonicotinoid insecticides. *Environmental Research*, 218, 114953. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2022.114953>

Interactions entre néonicotinoïdes et ressources florales pour évaluer la santé des pollinisateurs

Étude de cas à l'échelle du paysage agricole wallon

Thomas Schmitz

Le déclin des pollinisateurs, essentiels à la reproduction des plantes et la production agricole est aujourd'hui un enjeu écologique majeur. Parmi les multiples facteurs en cause, l'appauvrissement des ressources florales et l'exposition aux pesticides, notamment les néonicotinoïdes, sont particulièrement préoccupants. Ce mémoire s'inscrit dans le cadre du projet NUTRIBEE et propose une approche intégrée pour évaluer la santé des pollinisateurs en croisant ces deux dimensions clés à l'échelle du paysage agricole.

L'étude s'appuie sur l'analyse de 30 sites réparties en Wallonie, avec une attention particulière portée à 16 colonies de *Bombus terrestris*. Un score composite a été développé à partir de densités de pollen disponibles dans le paysage et des concentrations estimées de néonicotinoïdes dans les sols. Ces données ont été extrapolées à l'échelle des parcelles, puis agrégées autour de chaque colonie dans un rayon de 500 mètres, reflétant la zone moyenne de butinage.

Les résultats révèlent une corrélation significative entre ce score et certains indicateurs de vitalité des colonies, comme leur activité de butinage ou leur gain de masse, soulignant l'importance de l'interaction entre qualité nutritionnelle et pression chimique. Toutefois, certains aspects plus complexes, tels que la production de reines ou la charge parasitaire, restent difficilement expliqués par le modèle, ce qui met en lumière la nécessité d'intégrer d'autres facteurs écologiques.

En croisant écologie du paysage, toxicologie environnementale et données biologiques, ce mémoire ouvre des perspectives méthodologiques pour mieux caractériser la qualité des habitats des pollinisateurs. Ils proposa ainsi un outil d'aide à la décision pour les acteurs agricoles et environnementaux soucieux de concilier production et conservation de la biodiversité.