

ÉCOLOGIE

Les champs électromagnétiques perturbent le service de pollinisation des abeilles

Marco A. Molina-Montenegro¹ *, Ian S. Acuña-Rodríguez^{1,2}, Gabriel I. Ballesteros^{1,2}, Mariela Baldelomar¹, Cristian Torres-Díaz³, Bernardo R. Broitman⁴

Nous avons évalué l'effet du champ électromagnétique (CEM) sur l'efficacité de la pollinisation des abeilles à l'aide d'expériences sur le terrain et en laboratoire. Premièrement, nous avons mesuré les niveaux d'expression des gènes et des protéines dans les voies métaboliques impliquées dans le stress et les réponses comportementales provoquées par les CEM. Deuxièmement, nous avons évalué l'effet des CEM sur le comportement des abeilles et la production de graines du pavot de Californie pollinisé par les abeilles et, enfin, en mesurant les conséquences de l'échec de la pollinisation sur la richesse et l'abondance des communautés végétales. L'exposition aux CEM a exercé un fort stress physiologique sur les abeilles, comme le montre l'expression accrue des protéines de choc thermique et des gènes impliqués dans l'activité antioxydante et a affecté les niveaux d'expression des gènes liés au comportement. De plus, les individus de pavot de Californie poussant à proximité des champs électromagnétiques ont reçu moins de visites d'abeilles et ont produit moins de graines que les plantes poussant loin des champs électromagnétiques. Enfin, nous avons trouvé une relation en forme de bosse entre les CEM et la richesse en espèces végétales et l'abondance des plantes. Notre étude fournit des preuves concluantes des impacts néfastes des CEM sur le comportement de pollinisation des abeilles, entraînant des effets négatifs sur la communauté végétale.

INTRODUCTION

Les activités humaines ont modifié les écosystèmes naturels du monde entier de multiples manières, à travers la destruction et la dégradation des habitats, la perte de biodiversité et les changements dans les interactions entre les espèces (1). Ces changements dans les écosystèmes naturels ont également altéré les biens et services fournis par les écosystèmes à l'humanité, entravant finalement le bien-être humain (2-5). La pollinisation se démarque parmi les services écosystémiques menacés par les activités humaines (6), notamment à travers la transformation des espaces végétalisés naturels en villes et terres cultivées (7).

À mesure que les paysages se transformaient, l'accès à l'énergie électrique est passé d'env. Entre la fin des années 1990 et environ 70 % de la population mondiale. 90% aujourd'hui (8). Parallèlement, les organismes sauvages sont de plus en plus exposés aux champs électromagnétiques (CEM) des réseaux de distribution (9). L'inquiétude concernant les effets néfastes de l'exposition aux CEM sur les organismes sauvages se reflète désormais dans le nombre croissant d'articles sur le sujet (10).

Les études évaluant les effets des CEM sur les organismes vont des vertébrés (11, 12) aux invertébrés (13, 14) et aux humains (15, 16).

Ces études indiquent que les CEM entraînent une mortalité plus élevée de différents organismes, qui peut varier en fonction de l'identité des taxons étudiés et des conditions d'exposition aux CEM, telles que l'intensité, la durée et la source d'exposition. En particulier, chez les insectes, les CEM peuvent directement entraver le développement, la survie et la navigation des mouches des fruits (17-19) et des abeilles domestiques (20), diminuant finalement l'abondance de ces insectes pollinisateurs sauvages en affectant négativement leur condition physique [par exemple (21)]. En affectant les pollinisateurs, les CEM pourraient également perturber les interactions plantes-pollinisateurs et les services de pollinisation, bien qu'aucune étude antérieure n'ait abordé cet effet potentiel ni évalué l'impact de ces effets sur les pollinisateurs.

mécanismes à l'origine des effets négatifs exercés par les CEM sur les pollinisateurs.

L'abeille domestique (*Apis mellifera* L.) est le visiteur floral le plus fréquent dans les habitats naturels du monde entier, en raison de sa large répartition anthropique, de sa recherche de nourriture généraliste (recherche de nourriture en plein air) et de son efficacité de pollinisation (22). Par conséquent, les abeilles butineuses doivent naviguer avec succès pour localiser les sources de nourriture et retourner à leurs nids en utilisant la composante horizontale naturelle des CEM terrestres comme indices (20).

Cela nécessite un système de magnétoréception très sensible basé sur des protéines ferromagnétiques indépendantes de la lumière et des magnétorécepteurs chimiques basés sur des paires de radicaux, tels que le cryptochrome photosensible 2 (Cry2), qui est impliqué dans la détection de la composante directionnelle des champs électromagnétiques (23). Ainsi, les abeilles sont adaptées aux fluctuations des champs électromagnétiques naturels émis par la foudre, les animaux et les sources extraterrestres, telles que les cycles solaires des taches solaires et les géotempêtes solaires (20, 24).

Cependant, les abeilles sont également de plus en plus exposées aux CEM artificiels à basse fréquence (comme ceux des lignes électriques aériennes), qui agissent comme un facteur de stress sur les abeilles, en modifiant les cartes magnétiques utilisées pendant les vols d'alimentation et la navigation et produisent -ing un trouble de la magnétoréception (20). Cela entraîne moins de retours d'abeilles dans la colonie, une désorientation, voire une perte totale de butineuses adultes (trouble d'effondrement de colonie) (25). Ces effets négatifs des CEM pourraient se traduire par un certain nombre d'effets supplémentaires sur la physiologie et le comportement des insectes, notamment une diminution de la récolte de pollen et de miel (26, 27), une altération de la capacité d'apprentissage, de la dynamique de vol, de la recherche de nourriture et de l'alimentation (28), ainsi que augmentation de la tuyauterie dans la colonie (29).

Ainsi, des perturbations en termes de CEM provenant de sources anthropiques perturberaient les services de pollinisation fournis par les abeilles, car elles éviteraient les endroits exposés aux CEM (24). Cependant, aucune étude antérieure n'a abordé les conséquences de l'exposition des abeilles aux CEM en termes de (i) pollinisation et reproduction des plantes et (ii) mécanismes biochimiques et moléculaires sous-jacents au comportement des abeilles et aux réponses au stress antioxydant.

Dans cette étude, nous avons utilisé une combinaison d'études observationnelles sur le terrain et de manipulations expérimentales à l'aide d'un outil spécialement conçu à cet effet.

¹Centro de Ecología Integrativa (CEI), Instituto de Ciencias Biológicas, Universidad de Talca, Campus Talca, Talca, Chili. ²Instituto de Investigación Interdisciplinaria (I3), Universidad de Talca, Campus Talca, Talca, Chili. ³Grupo de Biodiversidad y Cambio Global (BCG), Departamento de Ciencias Básicas, Universidad del Bío-Bío, Chillán, Chili. ⁴Département des Sciences, Faculté des Arts Libéraux, Université Adolfo Ibáñez, Viña del Mar, Chili. ⁵Institut argentin de recherches de Zonas Áridas, CONICET, Mendoza, Argentine. ⁶Faculté des Sciences Exactes et Naturelles, Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza, Argentine.

*Auteur correspondant. Courriel : marco.molina@utalca.cl (MAM-M.)

solénoïde pour simuler et évaluer les impacts des champs électromagnétiques induits par six tours à haute tension sur la physiologie, le comportement et le service de pollinisation des abeilles sur la plante herbacée auto-incompatible *Eschschol-zia californica* (pavot de Californie) (Fig. 1A). Les tours sélectionnées pour cette étude étaient des structures hautes (20 m de hauteur), construites principalement avec acier et certaines parties de cuivre, utilisées pour supporter une ligne électrique aérienne à haute tension avec un boîtier de stockage d'énergie dans la partie supérieure de la tour. Ces appareils génèrent une CEM proche de $10 \mu\text{T}$, avec un pic enregistré entre 12 et 17 m de la base de la tour et à 25 à 30 cm de hauteur, et diminue jusqu'à presque l'extinction à 200 m de la base de la tour (Fig. 1, B et C). De plus, nous évalué les niveaux d'expression de gènes candidats sélectionnés impliqués dans la défense antioxydante, la recherche de nourriture, l'apprentissage spatial et la magnétoréception, comme mécanisme possible derrière les effets négatifs de EMF sur les abeilles. Plus précisément, nous avons émis l'hypothèse que (i) les CEM module les niveaux d'expression des gènes liés à l'oxydation voies de stress, comportement de recherche de nourriture, apprentissage et navigation magnétique ; (ii) Les champs électromagnétiques exercent un stress physiologique chez les abeilles, perturbant

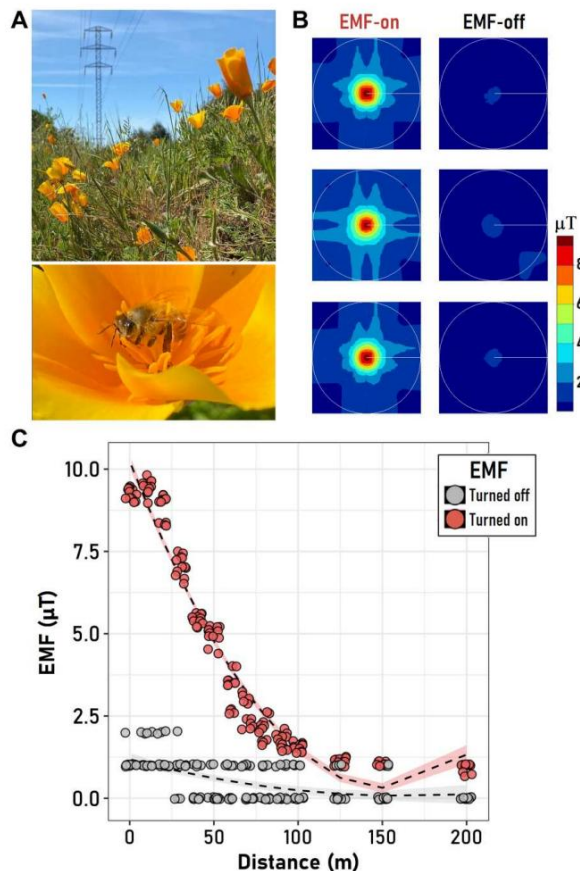


Fig. 1. Caractérisation des CEM sur le terrain et espèces cibles. (A) Vue du populations de terrain d'*E. californica* et une abeille visitant une fleur individuelle lors des enquêtes de terrain. (B) Modèle de champ interpolé du gradient de rayonnement EMF mesuré autour de pylônes à haute tension dans huit directions orthogonales sur des lignes de transmission inactives (EMF-off) ou actives (EMF-on); le cercle blanc à l'intérieur de chacun le tracé indique le périmètre d'une circonférence de 200 m de rayon autour de l'échantillon la tour. La relation entre la distance à l'infrastructure électrique (tours) et l'intensité de l'EMF est présentée en (C), avec le LMM ajusté pour les mesures collectées sur des tours inactives (gris) ou actives (rouge). La zone ombragée représente l'intervalle de confiance à 95 % pour le modèle ajusté respectif.

leur comportement, donc leur service de pollinisation, réduisant le nombre de femelles succès de reproduction chez une espèce végétale cible sur le terrain ; et (iii) les effets des CEM sur la reproduction des plantes se répercuteront à travers le communauté, affectant l'abondance globale des plantes et la richesse en espèces. Nous avons prédit que les abeilles exposées aux CEM devraient présenter une augmentation des marqueurs de stress biochimiques et des changements dans l'expression des gènes. niveaux liés à la fois au stress et à la recherche de nourriture, affectant ainsi leur service de pollinisation par rapport aux abeilles non exposées aux CEM. De plus, les plantes poussant sous l'influence des champs électromagnétiques sur le terrain reçoivent moins de visites d'abeilles, ce qui devrait, à son tour, réduire leur rendement reproductif. Enfin, l'abondance et la richesse des espèces végétales autour des tours qui transmettent activement de l'énergie électrique devraient augmenter avec la distance par rapport à l'infrastructure de la tour, une pente qui sera absent autour des tours inactives (c'est-à-dire non émettrices).

RÉSULTATS

Comme prévu, les mesures sur le terrain ont montré que l'intensité de l'EMF était constamment faible ($\sim 1,5 \mu\text{T}$) autour d'une infrastructure inactive (« EMF-off »), tandis qu'autour des tours de transmission actives, l'intensité était 10 fois plus élevée et diminuait avec la distance de la source (« EMF activé »; Fig. 1B). A 10 m des pylônes actifs, l'intensité moyenne de l'EMF était de $9,47 \mu\text{T}$ ($\pm 0,21 \text{ SD}$), tombant à la moitié de son intensité à 50 m et devenant pratiquement indétectable à 200 m (Fig. 1C). Le la force de l'EMF ne variait pas de manière significative selon la direction cardinale ou entre les sites (tableau S1), ce qui suggère que les tours de transmission ont produit des intensités CEM cohérentes avec une distribution spatiale orthogonale autour d'elles (Fig. 1, B et C).

Lorsque nous avons étudié l'effet des champs électromagnétiques dans des conditions de terrain, nous avons constaté que la synthèse de la protéine de choc thermique 70 (Hsp70) la protéine du biomarqueur du stress était significativement plus élevée chez les abeilles maintenu à proximité des pylônes de transmission (10 à 25 m) par rapport avec ceux qui en sont éloignés (210 à 235 m) mais seulement lorsque l'infrastructure haute tension transmettait activement de l'énergie (Fig. 2A et tableau S2). Les niveaux d'expression de Hsp70 ont doublé après 5 minutes chez les abeilles proches des tours de transmission actives par rapport aux abeilles mellifères proches des tours de transmission actives. niveau d'expression observé chez les abeilles domestiques éloignées de eux. Abeilles positionnées à proximité des tours inactives et loin d'eux ont montré la même réponse (Fig. 2A). Différences dans le niveau de synthèse de l'Hsp70 entre les abeilles proche de et loin des tours qui transmettaient activement de l'énergie diminuer lorsque les deux groupes ont été récupérés du terrain (après 15 min), mais des différences significatives entre les traitements sont restées 45 min après l'exposition (Fig. 2A).

Par la suite, nous avons cherché à falsifier les conditions observées dans sur le terrain et rechercher des preuves d'une réponse au stress au niveau génétique liée à l'exposition des abeilles aux CEM. À cette fin, nous avons conçu un traitement expérimental utilisant un solénoïde spécialement conçu à cet effet. exposer les abeilles individuelles aux conditions CEM observées Sur le terrain. Pour 12 des 14 gènes évalués, une expression différentielle significative a été observée entre les gènes non exposés (EMF-off) et abeilles exposées (EMF-on; Fig. 2B). L'effet de l'expression des gènes était cohérent entre les deux groupes de gènes fonctionnels inclus dans notre évaluation (gènes comportementaux et de réponse au stress). Chaque groupe fonctionnel réagit de manière similaire en fonction des conditions expérimentales, tandis que pour les abeilles domestiques maintenues dans l'état inactif solénoïde (EMF-off), tous les niveaux d'expression étaient légèrement surexprimés (par rapport à un gène normalisateur); pour ceux qui étaient dans le dispositif actif (EMF-on), la plupart des gènes liés au comportement semblaient significativement réprimés

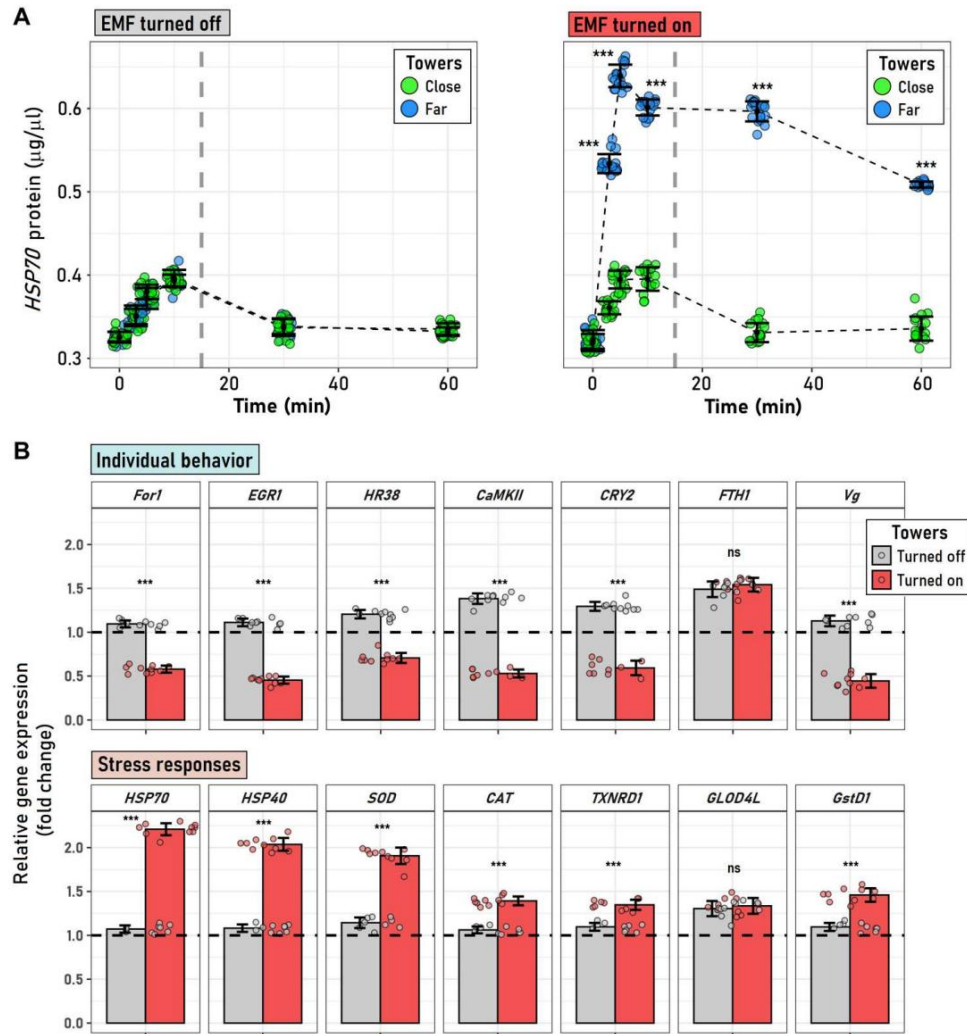


Fig. 2. Effets des CEM sur la physiologie des abeilles et les niveaux d'expression des gènes. (A) Variation temporelle de la concentration individuelle de la protéine Hsp70 dans les tissus corporels des abeilles exposées (ou non) à un CEM autour d'une tour de transmission haute tension. La variation temporelle de Hsp70 a été surveillée pendant 60 min sur des individus d'A. mellifera qui ont été maintenus pendant 15 min (ligne pointillée verticale grise) à proximité (15 à 25 m) ou à distance (210 à 235 m) de tours, qui transmettaient du courant (EMF activé) ou non (EMF désactivé). (B) Pour les abeilles exposées aux CEM générés par des solénoïdes dans des conditions de laboratoire, nous avons également examiné l'expression relative de 14 gènes. Niveaux relatifs d'expression génique dans des conditions EMF-off par rapport à EMF-on. La première rangée montre les résultats de sept gènes liés au comportement d'A. mellifera [recherche de nourriture (*For1*), gène de réponse de croissance précoce de type 1 (*EGR1*), récepteur hormonal 38 (*HR38*), protéine kinase II dépendante du calcium/calmoduline (*CaMKII*), *CRY2*, ferritine heavy polypeptide 1 (*FTH1*) et vitellogénine (*Vg*)], tandis que la deuxième rangée montre sept gènes liés au stress physiologique [*HSP70*, *HSP40*, superoxyde dismutase (*SOD*), catalase (*CAT*), thiorédoxine réductase 1 (*TXNRD1*), la protéine de type 4 contenant le domaine glyoxalase (*GLOD4L*) et la glutathion S-transférase D1 (*GstD1*)]. Les barres d'erreur dans (A) et (B) représentent \pm SD. *** en (A) mettent en évidence les différences significatives ($P < 0,0001$) entre les individus maintenus proches et éloignés des tours à un instant donné, estimées par un test de différence significative honnête de Tukey a posteriori à $P = 0,05$. Dans (B), les astérisques indiquent des différences significatives entre les moyennes des groupes (EMF-off versus EMF-on) selon un test t à deux échantillons ($P < 0,0001$). La ligne pointillée horizontale en (B) désignait le niveau d'expression unique; Des tests t indépendants sur un échantillon réalisés sur chaque expression génique ont indiqué que tous les gènes étaient soit surexprimés de manière significative (barre au-dessus de 1), soit réprimés (barre en dessous de 1). ns, non significatif.

(six des sept gènes) et la plupart des gènes de réponse au stress étaient systématiquement surexprimés (six des sept gènes; figure 2B et tableaux S3 et S4).

Parmi les abeilles de l'expérience solénoïde exposées à un CEM actif, le niveau de concentration moyen de Hsp70 dans leur corps ($\sim 0,68$ $\mu\text{g}/\mu\text{l}$) était 52 % plus élevé par rapport aux abeilles non exposées (fig. S1 et tableau S5), et similaire à Au pic montré sur le terrain, les abeilles sont maintenues à proximité de tours qui transmettaient activement le courant ($\sim 0,63$ $\mu\text{g}/\mu\text{l}$). De plus, les abeilles maintenues dans le solénoïde inactif ont montré des concentrations similaires de Hsp70 au niveau du solénoïde inactif.

début et fin du traitement expérimental (3 min). Ainsi, le traitement expérimental des CEM nous a permis de falsifier les effets d'une CEM sur le terrain et le contrôle procédural; la manipulation et le maintien des abeilles à l'intérieur du traitement EMF expérimental inactif n'ont pas généré de stress évident (fig. S1).

Sur le terrain, l'abondance totale des abeilles et la fréquence de leurs visites aux fleurs du pavot de Californie étaient plus élevées sous une densité florale élevée que sous une densité florale faible, quelle que soit la distance par rapport aux tours de transmission (Fig. 3). L'abondance des abeilles domestiques n'a pas changé de manière significative avec la distance aux pylônes de transmission, tant pour

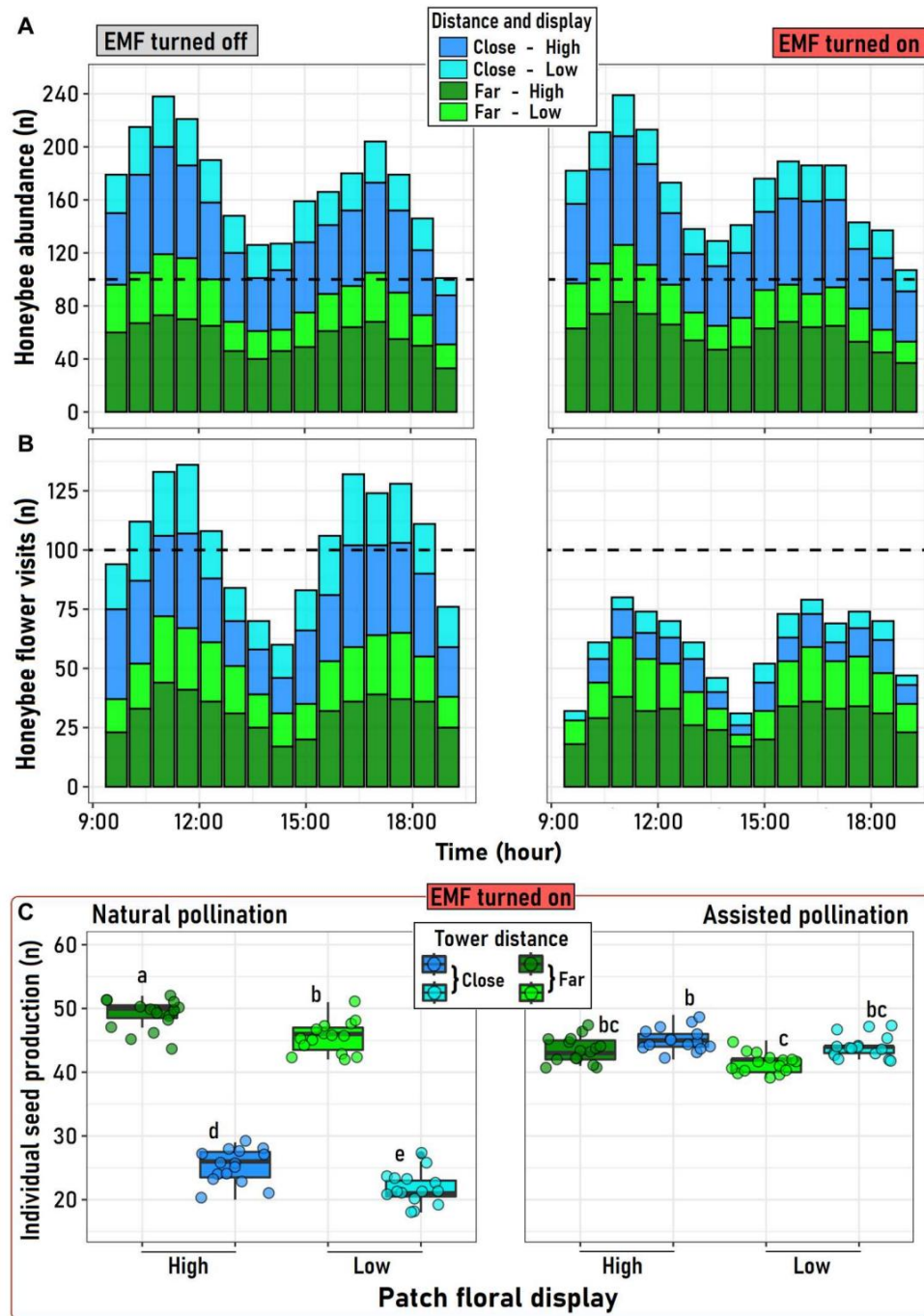


Fig. 3. Effets des CEM sur les services de pollinisation et la reproduction des plantes. Répartition de l'abondance des individus d'*A. mellifera* (A) et de leur nombre de visites florales sur les parcelles de pavot de Californie pendant la journée (B) en fonction de l'affichage floral de la parcelle (faible, jaune vert/cyan ; élevé, vert/bleu) et de la distance (bleu/cyan, proche = 15 à 25 m ; jaune vert/vert, loin = 210 à 235 m) à laquelle se trouvaient les parcelles florales des tours de transmission de courant électrique. Les barres représentent la somme de toutes les observations enregistrées pendant trois jours consécutifs dans les tours qui ne transmettaient aucun courant (EMF désactivé) et dans les tours qui le faisaient (EMF activé ; voir Matériels et méthodes pour plus de détails). La ligne pointillée à 100 points est à titre de référence en bas (C), la production de graines d'individus d'*E. californica* avec différents types de pollinisation (naturelle ou assistée) parmi les quatre groupes de plantes expérimentales (couleurs) sous lignes de transmission actives (EMF-on) . Les points représentent les valeurs du patch à une heure donnée en (A) et (B) (somme sur 3 jours) et les valeurs individuelles en (C) ; les cases et les barres derrière les points en (C) correspondent à la distribution interquartile du groupe (intervalles 5, 25, 50, 75 et 90). Les lettres au-dessus de chaque groupe représentent les résultats de la comparaison par paires de moyennes marginales effectuée sur les données. Des lettres similaires indiquent des différences non significatives ($P > 0,05$) entre les groupes.

tours actives et inactives (éteintes) (Fig. 3A). Cependant, la fréquence des visites de Hon-Eybee aux fleurs de pavot de Californie pousse loin (210 à 235 m) de la base des pylônes actifs était environ 16 % plus bas que pour les tours inactives (Fig. 3B). De même, la visite des abeilles sur le pavot de Californie poussant à proximité (10 à 25 m) des tours actives a fortement diminué (~308 %) par rapport aux tours inactives (Fig. 3B).

Ajustement statistique [évalué par un modèle mixte additif général (GAMM)] de la dynamique temporelle de l'abondance des abeilles autour des pylônes de transmission a révélé que les modèles spatiaux étaient

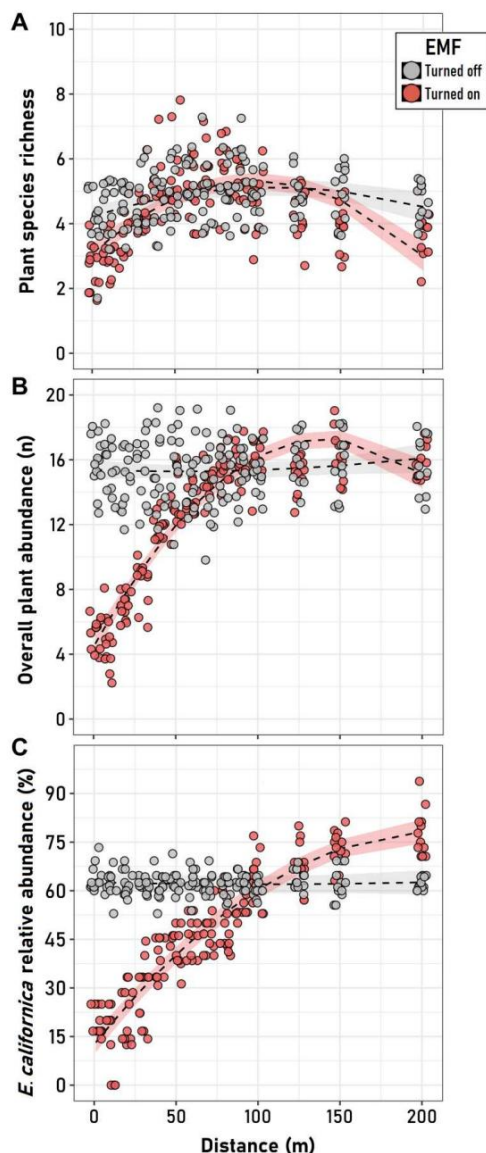


Fig. 4. Effets des CEM sur la communauté végétale. Relations entre la distance aux pylônes de transmission et (A) la richesse en espèces végétales, (B) les espèces végétales globales, et (C) l'abondance relative d'*E. californica* évaluée aux tours qui ne transmettaient aucun courant (EMF éteint, gris) et aux tours qui le faisaient (EMF allumé, rouge).

Les lignes de tendance ont été ajustées selon des modèles quadratiques prenant en compte le site et l'orientation cardinale autour de la tour comme facteurs aléatoires. La zone ombrée représente l'intervalle de confiance à 95 % pour le modèle ajusté respectif. Pour toute réponse variable, le facteur EMF (activé/désactivé) s'est avéré significatif pour expliquer la variance de tous les modèles ajustés.

principalement déterminé par l'exposition florale des individus du pavot de Californie et non par la distance par rapport aux tours de transmission, un modèle qui a été indistinctement observé malgré l'activité des tours de transmission (EMF-off et EMF-on ; tableau S6). Ainsi, dans les deux scénarios d'activité des CEM, l'abondance des abeilles était plus importante autour des plantes individuelles à forte floraison, quelle que soit leur distance (proche ou lointaine) par rapport aux tours (fig. S2A). Dans à son tour, outre l'exposition florale, la distance par rapport aux tours a également affecté les taux et la dynamique de la visite des fleurs par les abeilles, un effet que nous avons uniquement observé dans les parcelles de pavot de Californie situées lignes de transmission actives (fig. S2B et tableau S7). En conséquence, le perturbation attendue des champs électromagnétiques sur l'activité des abeilles autour des zones actives les pylônes de transmission se trouvaient principalement à proximité de ces structures (interaction significative « Distance × Affichage » ; tableau S7) : les plantes à forte floraison poussant à proximité des tours (proches et hautes) ont reçu, en moyenne, moins de visites pendant la journée que les plantes à faible exposition florale mais poussant loin d'eux (loin et bas). Le limité visites d'abeilles domestiques vécues par *E. californica* à proximité de l'actif tours a également été observée dans l'homogénéisation temporelle des taux de visites d'abeilles domestiques reçues par ces plantes individuelles le long le jour (termes GAMM lisses non significatifs ; tableau S7). Dans ce sens, les pics attendus d'activité quotidienne, communs parmi les insectes du matin et de l'après-midi, n'ont été observés que pour les abeilles domestiques recensées autour des tours inactives, ou bien celles situées loin des tours à transmission d'énergie active (fig. S2B).

Ayant établi les solides connaissances physiologiques et comportementales effets des CEM sur les abeilles domestiques, tant en laboratoire qu'en laboratoire. sur le terrain, nous avons examiné les effets écologiques en aval en manipulant et en quantifiant la production de semences sur le terrain. Pour les plantes situées autour des tours transmettant activement de l'énergie, la distance aux tours (proches ou éloignées) ont eu les effets les plus forts sur la production de semences, suivi du type de pollinisation et de la taille de l'affichage floral (Fig. 3C et tableau S8). La production de graines variait davantage chez les plantes qui étaient naturellement pollinisées que chez les plantes pollinisées manuellement (Fig. 3C). L'impact négatif de la proximité des tours sur la reproduction des plantes n'était évident que dans le traitement de pollinisation naturelle (Fig. 3C), ce qui est cohérent avec l'interaction significative entre ces facteurs (tableau S8). En revanche, l'interaction entre les fleurs l'affichage et le type de pollinisation se sont révélés non significatifs (tableau S4) probablement en raison de la forte variabilité introduite par la distance par rapport à la source CEM sur la production de graines naturelles (Fig. 3C). Dans en revanche, lorsque la pollinisation était assistée manuellement, aucune différence dans la production de graines entre des plantes situées à différentes distances du des tours ou avec des niveaux d'exposition florale contrastés ont été trouvés, indiquant que l'assistance à la pollinisation effaçait l'impact des CEM sur la production de graines (Fig. 3C).

Concernant la population d'*E. californica* et sa plante associée communauté, nous avons observé que les champs électromagnétiques affectaient de manière significative les trois modèles spatiaux estimés dans notre étude : répartition de la richesse en espèces, l'abondance globale et l'abondance relative d'*E. californica*, qui étaient étroitement couplés à l'activité des pylônes de transmission (Fig. 4 et tableau S9). Les modèles mixtes linéaires ajustés (LMM) suggèrent que les trois variables de la communauté végétale étaient significativement affecté par l'activité des pylônes de transmission (EMF-off/EMF-on), facteur significatif dans tous les modèles (Fig. 4). Cependant, alors que le modèle quadratique décrivait avec précision l'organisation spatiale des trois variables autour des tours actives (EMF-on), il n'était significatif que pour la richesse en espèces autour des tours inactives (EMF-off). Dans ce dernier cas, outre une tendance légère mais significative à l'augmentation

richesse spécifique loin des tours (le prédicteur linéaire), plante communautés autour des communautés inactives (EMF-off) et actives (EMF-on) les tours ont montré une réponse en forme de bosse (le terme quadratique), qui était plus prononcé autour des tours actives (tableau S9). Par contraste, pour l'abondance globale de la communauté et pour la relative abondance du pavot de Californie, en forme de bosse (quadratique) terme de la répartition spatiale autour de l' infrastructure électrique n'était présent que dans la condition EMF-on (Fig. 4). Le linéaire distribution (c'est-à-dire constante) de ces variables autour des tours inactives forcé la non-significativité de la distance comme facteur principal de leur modèles respectifs. Cependant, comme leurs interactions significatives avec L'activité EMF montre que l'effet de la distance sur l'abondance globale de la communauté et l'abondance relative du pavot de Californie est évident uniquement autour des tours actives (EMF-on) (Fig. 4).

DISCUSSION

Nous avons montré que la présence d'EMF dans des conditions de terrain les services de pollinisation des abeilles vers les plantes sont considérablement altérés, suite à un mécanisme moléculaire putatif associé à des perturbations comportementales et le stress physiologique. Les processus de stress individuels étaient motivés par l'activité de gènes spécifiques, un effet que nous avons reproduit quantitativement dans des conditions de laboratoire. Les impacts au niveau de l' organisme Cela s'est traduit par une diminution du nombre de visites florales, ce qui a réduit la production de graines, ce qui, à son tour, a réduit la diversité et l'abondance des plantes. Le effets négatifs, des gènes aux communautés végétales expérimentales, étaient principalement liés à la distance à la source : ils ont été observés seulement lorsque les tours de transmission étaient en ligne (émettant ainsi des CEM).

Nous proposons que l'exposition des abeilles aux CEM perturbe leurs capacités de recherche de nourriture en altérant leur navigation magnétique, leur apprentissage, mécanismes de prise de décision, de vol et de recherche de nourriture, altérant ainsi activité de pollinisation (30, 28). Cette hypothèse expliquerait la réduction observée de la fréquentation florale des ouvriers autour des zones situées à proximité de pylônes de transmission électrique actifs, que nous se sont avérés être une source importante de stress pour les abeilles (28). Après exposition aux CEM, nous avons constaté une induction significative termes de profils d'expression de gènes codant pour différentes protéines liées aux antioxydants qui sous-tendent le stress physiologique par rapport aux conditions non exposées, où les abeilles domestiques le stress physiologique n' était pas apparent. L'augmentation substantielle de l' activité des voies de stress biochimique permettrait aux individus de contrecarrer la production potentielle d' intermédiaires de paires de radicaux ayant une nature d' oxygène hautement réactive lors d' un champ magnétique – stress induit (31). Ainsi, des protéines, telles que la catalase, la thiorédoxine réductase 1, la superoxyde dismutase, Hsp40 et Hsp70, entre autres, préviendrait efficacement les effets néfastes du stress oxydatif dérivés d' interactions électroniques nuisibles (31). Ces gènes ont été largement utilisés comme indicateurs de multiples facteurs de stress (32), y compris l'exposition aux CEM sur d'autres espèces d'insectes (31). De plus, niveaux plus élevés de production de Hsp70 chez les abeilles après exposition aux CEM ont été mis en évidence, à la fois dans des conditions de terrain et lors d'expériences de manipulation en laboratoire, suggérant que les abeilles domestiques subissent les effets du stress oxydatif induit par une exposition à un CEM anthropique (33).

Nous avons également observé que les CEM régulaient négativement de manière significative les niveaux d'expression de gènes candidats sélectionnés, qui sous-tendent la transition liée à l'âge du travail dans la ruche (infirmière) à la recherche de nourriture. nourriture à l'extérieur (34). Ceux-ci incluent le gène de réponse précoce 1 (ERG1), récepteur hormonal 38 (HR38), guanosine 3',5'-monophosphate–

protéine kinase dépendante (foraging, For1), vitellogénine (Vg), protéine kinase II dépendante du calcium/calmoduline (CaMKII), et Pleurer2. Par conséquent, les champs électromagnétiques peuvent avoir un impact négatif sur le long terme. formation de mémoire (35), altération de l'orientation magnétique dans lumière blanche (36), spécialisation des tâches (37), activité locomotrice réduite, et retour à un phénotype d'infirmière (34).

Ensemble, ces résultats fournissent une forte indication que l'exposition aux CEM lors de la collecte extranidale de nourriture induisent un stress important sur la physiologie des abeilles, probablement en raison d'une augmentation de la température cellulaire et de lésions des tissus cérébraux lors de l'exposition aux CEM (38). Dans Chez les insectes, même une légère augmentation de la température corporelle induit des altérations du métabolisme respiratoire et peut affecter le fonctionnement des systèmes nerveux et endocrinien, comme en témoignent les comportements réponses des abeilles et changements sous-jacents en termes de gènes et les niveaux d'expression des protéines (39). Néanmoins, des recherches plus approfondies en utilisant une approche transcriptomique/protéomique et biochimique serait nécessaire pour dévoiler l' étendue des impacts des CEM sur insectes pollinisateurs. Ces connaissances permettraient d' avoir une perspective plus large sur les conséquences encore imprévues de l' activité humaine. sur les animaux et les plantes.

Comme observé autour des tours inactives et actives, l'abondance des abeilles domestiques était plus influencée par l'exposition florale que par la distance aux tours, étant plus grande à des densités plus élevées de Californie coquelicot et indépendant de la proximité de la tour. Résultats similaires ont été trouvés pour des abeilles sauvages nichant en surface (21), où la richesse en espèces de pollinisateurs n'était pas affectée par les CEM. Cependant, le précédent les études n'ont pas pris en compte la présentation des plantes, ce qui, dans notre étude, ont montré un effet sur l'abondance des pollinisateurs, quelle que soit la distance par rapport aux tours actives. Un affichage floral élevé peut déterminer une grande les taux de visite des pollinisateurs potentiels ; nos résultats ont indiqué que l'effet négatif des champs électromagnétiques est si fort que même les patches à faible abondance florale mais loin des infrastructures peut recevoir plus visites des pollinisateurs que les parcelles avec une plus grande exposition florale mais proche de la source CEM. Ainsi, bien que les CEM n' aient pas affecté l' abondance des abeilles dans la zone d' étude, ils ont été associés à une diminution du nombre d' abeilles. les abeilles entrant en contact avec les fleurs des individus du pavot de Californie, indépendamment de l'abondance florale. Une explication plausible pour ce résultat est lié à une diminution des capacités cognitives et motrices (28) et les capacités d'orientation (25) signalées pour les abeilles comme conséquence de l'exposition aux CEM. Diminution de la visite des pollinisateurs correspondait à une diminution significative du succès de reproduction des plantes. Nous n'a trouvé aucune différence significative dans la production de graines entre les traitements pour les fleurs ayant reçu une pollinisation manuelle, indépendamment si ont été exposés ou non aux effets des CEM. Par conséquent, nos résultats indiquent qu' un service de pollinisation altéré est le plus parcimonieux. explication des réductions observées dans la production de semences que tout effet direct potentiel de l'EMF sur les plantes à travers des processus tels que l'avortement des ovules ou la réduction de la germination du pollen. Ce trouver des contrastes avec les études précédentes documentant des résultats négatifs impacts directs des CEM sur la reproduction des plantes à travers une diminution germination du pollen (40). Ainsi, nos résultats suggèrent que le principal les impacts des CEM sur la reproduction des plantes sont médiés par des effets sur le comportement des pollinisateurs et, par conséquent, seront plus importants pour espèces végétales auto-incompatibles (41).

Les impacts négatifs des CEM sur les abeilles décrits ici pourraient produire des réductions substantielles de la reproduction végétale à l' échelle locale, c'est-à-dire autour des lignes de transmission. Considérant que l'augmentation mondiale dans la production agricole (>300%) nécessaire à la sécurité alimentaire mondiale dépend de la pollinisation animale (42), certaines études (43) ont

On estime que sans les services de pollinisation des abeilles, la production agricole totale diminuerait de 8 %, une grande partie de l'impact se produisant dans les pays en développement. Les abeilles domestiques sont les principales espèces pollinisatrices de nos espèces étudiées et de nombreuses cultures de base (44). Actuellement, le nombre de colonies d'abeilles domestiques est en déclin dans certaines régions du monde en raison d'une grande variété de menaces, telles que l'empoisonnement agrochimique, les espèces envahissantes, le changement climatique et la fragmentation de l'habitat (6). Dans ce contexte, les champs électromagnétiques représentent une menace émergente dont l'empreinte s'accroît à travers les paysages agricoles (9). L'interaction entre toutes ces menaces pourrait menacer davantage les populations d'abeilles domestiques, entraînant ainsi des pertes de production pour plusieurs cultures (44), rendant plus difficile le défi consistant à atteindre la sécurité alimentaire mondiale.

En résumé, nos résultats soutiennent l'idée selon laquelle les CEM peuvent avoir des impacts négatifs directs sur le service de pollinisation par les abeilles, avec des conséquences néfastes sur la production de graines d'espèces végétales pollinisées par les insectes et des impacts négatifs indirects sur la communauté végétale (abondance et richesse) en raison d'une éventuelle altération dans le service de pollinisation requis par la communauté végétale (40). Nous soulignons également que l'ampleur de l'impact des CEM sur le service de pollinisation, à l'échelle locale, peut être bien plus grande qu'on ne le pensait auparavant. Les abeilles utilisent des champs électriques pour la communication intraspécifique (au sein de la ruche) et interspécifique (plante-pollinisateur) (9) et sont capables de détecter les CEM anthropiques, et leur capacité d'orientation, de navigation et de recherche de nourriture est altérée, ce qui finirait par affecter leur santé et leur survie (9, 28, 45). Notre étude fournit des preuves solides des effets néfastes des CEM sur la visite des abeilles et la reproduction des plantes et peut contribuer à expliquer, au moins en partie, la crise mondiale de la pollinisation qui met en danger la production adéquate de nombreuses cultures.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

Site d'étude et espèces

Nous avons mené l'étude à Quinamavida (35°48'S, 71°25'W), dans la région du Maule, au Chili. Le climat est méditerranéen, avec une moyenne de 686 mm de précipitations annuelles, concentrées principalement pendant les mois d'hiver austral (mai à août) et les étés chauds et secs (46). Sur le site d'étude, la température moyenne annuelle est de 14,7°C, allant de 19,8° à 7,3°C (données extraites de la base de données du Centre de recherche sur le climat et la résilience ; <https://explorador.cr2.cl>). La végétation correspond à une forêt sclérophylle méditerranéenne dominée par des arbres, tels que *Lithrea caustica*, *Maytenus boaria*, *Peumus boldus* et *Quillaja saponaria*, et des arbustes de taille moyenne, tels que *Baccharis* spp. et *Renatilla Trinervia*. La végétation herbacée correspond à une communauté éphémère, composée de graminées, de géophytes et de plusieurs espèces annuelles à fleurs voyantes, comme *Alstroemeria* spp. et *Eschscholtzia californica* (47).

E. californica est une plante vivace auto-incompatible, pollinisée principalement par les abeilles, les espèces d'abeilles *Apis* et *Bombus* représentant les pollinisateurs les plus fréquents (48). Les abeilles représentaient les visiteurs les plus fréquents avec 88% de tous les visiteurs de cette espèce sur notre site d'étude, suivies par trois autres visiteurs avec une présence inférieure à 7% pour chacun (Fig. 1A et tableau S10). Le pavot de Californie est originaire des États-Unis et envahissant au Chili, en Nouvelle-Zélande, en Australie et en Afrique du Sud (49). Il a colonisé avec succès un large éventail de conditions environnementales dans ses aires de répartition d'origine et introduites, occupant souvent des zones naturelles et

paysages ouverts perturbés par l'homme (48, 50). Au Chili, cette espèce a une large aire de répartition en altitude et en latitude (51).

Caractérisation des CEM

Le site d'étude abrite des lignes et des pylônes de transmission dédiés au transport d'énergie ou à l'infrastructure de téléphonie mobile. La réglementation actuelle exige que la bande située sous les lignes électriques à haute tension soit dégagée de grands arbres autour d'une zone aussi large que la hauteur des lignes de transport. Cependant, nous n'avons trouvé aucune preuve d'activités de défrichage ou de gestion des incendies contre des plantes herbacées ou des arbres, que ce soit sous ou autour des pylônes et des lignes électriques sur les sites d'étude, qui pourraient affecter l'abondance et les valeurs de répartition des espèces végétales au sein de cette communauté.

Pour estimer l'intensité de l'EMF, nous avons sélectionné trois tours de transmission de 20 m de hauteur situées à au moins 500 m les unes des autres (ci-après, EMF-on). Depuis la base de chaque tour et vers chacun des huit points cardinaux conformés par les axes orthogonaux équivalents à 0° (face au nord), 45°, 90°, 135°, 180°, 225°, 270° et 315°, nous avons établi un transect de 200 m et enregistré l'intensité des CEM (en microtesla) tous les 25 m à 50 cm du sol à l'aide d'un compteur EMF (modèle TM191, Tenmars Electronics Co. Ltd., Taiwan).

Le même exercice a été réalisé sur un groupe supplémentaire de trois pylônes faisant partie d'une section inactive de la ligne de transmission (ci-après, EMF-off) ; par conséquent, ils ont servi de contrôle expérimental pour évaluer l'effet de la propre structure (tour de transmission) dans nos analyses.

Effets des CEM sur la physiologie des abeilles et sur les niveaux d'expression des gènes

Pour évaluer les effets des CEM sur la physiologie, le stress et le comportement des abeilles dans des conditions de terrain et de laboratoire, nous avons enregistré la synthèse différentielle de protéines de choc thermique (Hsp70), une protéine reconnue comme marqueur du stress physiologique chez les abeilles (52), et deux groupes de gènes. Les deux groupes de gènes fonctionnels inclus dans notre évaluation correspondaient à ceux liés aux gènes de comportement : recherche de nourriture (For1), gène de réponse de croissance précoce de type 1 (EGR1), récepteur hormonal 38 (HR38), protéine kinase dépendante du calcium/calmoduline II (CaMKII), CRY2, polipeptide lourd de ferritine 1 (FTH1) et vitello-génine (Vg) ; et gènes de réponse au stress : HSP70, HSP40, superoxyde dismutase (SOD), catalase (CAT), thiorédoxine réductase 1 (TXNRD1), protéine de type 4 contenant le domaine glyoxalase (GLOD4) et glutathion-S-transférase D1 (GstD1). Nous avons recherché toutes les abeilles utilisées pour l'expérimentation auprès d'un apiculteur situé à proximité du site d'étude et avons élevé des individus de la même ruche et de la même cohorte pour éviter les facteurs de confusion d'origine génétique.

Tout d'abord, sur le terrain, sur des lignes de transmission inactives (EMF-off) ou actives (EMF-on), nous avons placé les abeilles dans des cages cubiques de 1 000 cm³ (10 cm sur 10 cm sur 10 cm) placées à proximité de (15 à 25 m) ou loin de (210 à 235 m) leurs tours respectives. Pour éviter les interférences avec les champs électromagnétiques, nous avons fabriqué des cadres de cage avec des bâtons de bois et un filet de tulle transparent. Nous avons installé 72 cages dans chacun des six sites d'étude (trois par condition CEM), 36 à proximité et 36 à distance des pylônes de transmission. Nous avons placé une abeille par cage pendant 15 min dans les deux conditions expérimentales, puis nous avons retiré les cages et les avons stockées dans un endroit extérieur pendant 60 min. Nous avons sélectionné une période d'exposition aux CEM de 15 minutes car c'est la durée maximale enregistrée par les abeilles survolant les parcelles de fleurs (observation personnelle de MAM-M.). Nous avons analysé le niveau de Hsp70 à 0, 3, 5, 10, 30 et 60 min. Le temps zéro consistait à mettre l'abeille à l'intérieur de la cage et

il l'a retiré immédiatement et a été considéré comme un contrôle pour évaluer le stress de manipulation. Après exposition à chaque traitement, nous avons stocké tous les individus dans de l'azote liquide jusqu'à ce que nous mesurions l'activité Hsp70 en laboratoire.

Deuxièmement, pour tenir compte des effets potentiels des conditions environnementales sur le terrain sur la physiologie et le comportement des abeilles, nous avons exposé les abeilles à un CEM en laboratoire en utilisant deux solénoïdes fabriqués sur mesure comme source de CEM. Nous avons fabriqué chaque solénoïde avec un tuyau en fer de 1,5 mm d'épaisseur, 15 cm de diamètre et 20 cm de longueur. Le tuyau était recouvert de 300 tours de fil de cuivre verni de 1 mm de diamètre enroulé en deux couches sans espace entre les fils. Pour générer la CEM, chaque extrémité du fil de cuivre a été connectée aux bornes positives et négatives d'une alimentation directe capable de générer 24 V et 15 A (modèle CP20.241, Puls Dimension, Allemagne).

Pour tester le bon fonctionnement des solénoïdes, nous avons disposé quatre compas autour de chaque solénoïde et un à l'intérieur du solénoïde. Le fonctionnement de chaque solénoïde a été confirmé par le changement induit sur une boussole, dont l'aiguille subissait une déviation de son nord magnétique lors de la mise sous tension de la source d'alimentation.

L'intensité moyenne de l'EMF à l'intérieur du centre du solénoïde était de $7,8 \pm 0,51 \mu\text{T}$ ($n = 7$ mesures), une intensité similaire à celle enregistrée sur le terrain à une distance de 25 à 30 m de la base des pylônes de transmission. (c'est-à-dire $7,3 \pm 0,78 \mu\text{T}$). Nous avons placé deux abeilles dans chaque solénoïde tandis qu'un solénoïde était allumé et l'autre éteint. Après 10 s, nous avons retiré une abeille de chaque solénoïde et la deuxième abeille 3 minutes plus tard ; dans les deux cas, nous avons déposé les abeilles immédiatement dans l'azote liquide jusqu'à extraction des protéines (Hsp70) ou expression génique (indiquée ci-dessus). Nous avons sélectionné ces temps d'exposition car ils représentent les temps de pollinisation minimum et maximum (contact entre l'abeille et le pavot de Californie) enregistrés pour les abeilles du site d'étude (observation personnelle de MAM-M.). Nous avons répété ce test 25 fois, en alternant l'activation ou la désactivation du solénoïde attribué au traitement après chaque répétition afin d'éviter tout effet indésirable généré par les appareils.

Pour estimer les niveaux de stress exercés par les CEM sur les abeilles et son effet sur les niveaux d'expression de l'ARNm, nous avons mesuré l'expression de Hsp70 au moyen de tests ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay). Pour chaque abeille, nous avons homogénéisé les tissus de la tête, du thorax et de l'abdomen dans un tampon salin-azote-TAME tamponné au phosphate à 4°C (34). Nous avons centrifugé le tissu homogénéisé à 13 000 g pendant 20 min à 4°C et utilisé le surnageant comme source de protéines pour les tests ELISA. Nous avons utilisé le test de protéines DC (compatible avec les détergents) (Bio-Rad Inc., USA) pour mesurer la teneur totale en protéines solubles du surnageant à 750 nm dans des réactions en triple utilisant un lecteur de microplaques (Tecan, Model Sunrise, Suisse).

Nous avons estimé la concentration de Hsp70 en utilisant une méthode ELISA monoclonale modifiée [voir (52)]. Nous avons utilisé l'anticorps antibovine HSP70 de souris (Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, États-Unis), un anticorps monoclonal qui reconnaît une région hautement conservée de HSP70 et la protéine 70 apparentée au choc thermique. Nous lisons l'absorbance des échantillons et du standard Hsp70 à 450 nm avec un lecteur de microplaques (Tecan, Model Sunrise, Suisse). Pour garantir des comparaisons statistiquement valides des groupes expérimentaux sur plusieurs microplaques, chaque microplaque contenait un standard Hsp70 bovin, et des échantillons provenant de différents traitements ont été chargés sur les microplaques selon une conception adaptée pour garantir des répétitions égales de chaque groupe expérimental par microplaque.

Pour estimer l'effet sur les niveaux d'ARNm des gènes candidats lors

Exposition aux CEM, les têtes d'abeilles ont été disséquées sur la glace à l'aide d'un instrument stérile

scalpel. L'ARN total a été extrait à l'aide de TRIzol (Invitrogen); L'intégrité a été évaluée à l'aide d'une électrophorèse sur gel d'agarose à 1,1 % et quantifiée par spectrophotométrie à 260 nm (spectrophotomètre Epoch Microplate, BioTek) (53). Les traces d'ADN ont été éliminées par traitement à la désoxyribonucléase (DNase) à l'aide de Turbo DNase (Ambion).

Ensuite, des ADNc simple brin ont été synthétisés à l'aide du système de transcriptase inverse Super-Script III (Invitrogen). Toutes les procédures ont été effectuées conformément aux instructions du fabricant. La détermination de l'abondance relative des transcrits a été réalisée par réaction en chaîne par polymérase quantitative (qPCR) en temps réel à l'aide d'amorces spécifiques. Les réactions PCR ont été réalisées sur un système qPCR Mx3000 P (Stratagene, Californie, USA) en triple (trois répétitions techniques) dans les conditions de cyclage suivantes : 95°C pendant 10 min, 40 cycles de 95°C pendant 30 s, 56°C pendant 45 s et 72°C pendant 40 s. Chaque réaction PCR contenait 2 μl d'ADNc dilué (2 ng ; 1 ng/ μl), 10 μl de Maxima SYBR Green PCR Master Mix (Thermo Fisher Scientific), 6,4 μl d'eau sans nucléase et 0,8 μl de chaque amorce spécifique (1,6 μl pour les amorces directes et inverses ; concentration 10 mM). Les données d'expression pour chaque gène cible ont été normalisées à l'aide de la protéine ribosomale S5 d'A. mellifera et calculées à l'aide de la méthode comparative $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ (54).

Effets des CEM sur les services de pollinisation Les

coquelicots de Californie étaient les espèces de plantes à fleurs les plus abondantes dans le site d'étude, dans toutes les parcelles. Comme cette espèce envahissante dépend fortement des abeilles pour la production de graines (48), nous avons comparé l'abondance des individus d'abeilles et leurs taux de visite des fleurs entre les individus de pavot de Californie poussant à proximité et à distance des pylônes de transmission électrique (allumés et éteints). Nous avons enregistré des visites de fleurs sur trois journées ensoleillées consécutives au cours du mois d'octobre 2015, soit le début du printemps austral. Chaque jour, nous avons établi huit parcelles de 3 m sur 3 m (quatre parcelles de près et quatre parcelles de loin) le long de quatre directions orthogonales (N, S, E et W) entourant la tour respective sur chaque site expérimental (trois EMF-off et trois EMF-on). Dans chaque parcelle, nous avons sélectionné deux individus de pavot de Californie distants d'au moins 2 m, chacun présentant une exposition florale contrastée, afin d'évaluer l'effet de la taille de l'exposition florale (faible ou élevée) sur l'abondance des pollinisateurs et la fréquence des visites, à la fois à l'intérieur et à l'extérieur de l'influence des CEM. (voir ci-dessous). Les valeurs moyennes des expositions florales faibles et élevées (nombre de fleurs) dans les parcelles étaient respectivement de $5,1 \pm 1,6$ individus et de $9,6 \pm 1,3$ individus.

Bien que les espèces compagnes comprennent principalement des arbustes et des graminées, pour éviter toute interférence avec notre étude, nous avons retiré tous les individus en fleurs des autres espèces dans un rayon de 1,5 m autour de chaque individu cible. Nous avons divisé chaque journée d'observation en 15 périodes d'observation de 20 minutes réalisées entre 9h20 et 19h00. Nous avons donc effectué un total de 1080 périodes d'observation pour chaque condition CEM (on-off). Durant chaque période d'observation, nous avons observé toutes les parcelles simultanément avec une équipe d'observateurs expérimentés. Chaque observateur portait des vêtements de la même couleur pour éviter de gêner les visites des pollinisateurs. Pour estimer l'abondance des pollinisateurs, nous avons enregistré tout insecte présent dans la parcelle susceptible de visiter les fleurs pendant les périodes d'observation de 20 minutes. Nous les avons finalement considérés comme des visiteurs des fleurs uniquement s'ils touchaient des anthères ou des stigmates à l'intérieur des fleurs.

Effets des CEM sur la reproduction des plantes

Sur les trois sites expérimentaux sous pylônes de transmission actifs (EMF-on), nous avons évalué l'effet de la distance par rapport aux tours

(proche ou lointain), type de pollinisation (naturelle ou manuelle) et affichage floral (faible ou élevé) sur la reproduction du pavot de Californie. Au sein de cinq nouvelles parcelles de 10 m sur 10 m proches (15 à 25 m) et éloignées (210 à 235 m) des pylônes de transmission, nous avons sélectionné au hasard 20 individus dans chaque parcelle. Nous avons sélectionné 10 individus à faible exposition florale et, séparément, 10 individus à forte exposition florale. De cette manière, nous avons échantillonné un total de 300 individus de pavot de Californie (20 individus × 5 parcelles × 3 sites) à chaque distance des tours. Le nombre moyen de fleurs par individu pour les catégories de petite et grande taille d' exposition florale était respectivement de $4,9 \pm 1,1$ et $9,6 \pm 0,9$.

De chaque plante individuelle, nous avons assigné au hasard deux fleurs à la pollinisation naturelle et deux autres à la pollinisation assistée (manuelle). Pour le traitement de pollinisation assistée, nous avons pollinisé une fois la fleur focale avec du pollen allogame soigneusement déposé sur le stigmate avec une petite brosse. Nous avons collecté le pollen d'individus situés à au moins 15 m des plantes focales afin d'éviter les réductions de condition physique dues à la dépression de consanguinité. Nous avons mis en sac les fleurs pollinisées à la main immédiatement après le flétrissement pour conserver les graines. Le traitement de pollinisation naturelle consistait en des fleurs naturellement pollinisées, mises en sac après flétrissement pour retenir les graines à l'aide de sacs en filet de tulle. Au bout de 2 mois, nous avons récupéré tous les sacs contenant les graines tombées des fruits et les avons transportés au laboratoire pour compter les graines. Nous avons fait la moyenne de la production de graines des deux fleurs affectées au même traitement chez un seul individu, puis calculé la production moyenne de graines pour les différents traitements de pollinisation (naturelle ou assistée), les niveaux d'affichage (faibles ou élevés) et la position spatiale par rapport au tours (proches ou lointaines).

Effets des CEM sur la communauté végétale

Pour évaluer si l'intensité des CEM avait un effet direct ou indirect sur la végétation, nous avons enregistré la présence et l'abondance de toutes les espèces végétales poussant dans 20 quadrats de 1 m sur 1 m situés tous les 10 m le long des mêmes 200 m. -m transects décrits pour la caractérisation EMF. La richesse en espèces de la communauté, l'abondance globale des plantes et l'abondance relative d'E. californica au sein de la communauté végétale locale ont ainsi été estimées autour des tours de transmission inactives (EMF-off) et actives (EMF-on).

Analyses statistiques

Pour visualiser l'EMF autour des pylônes de transmission sur des lignes inactives ou actives, nous avons interpolé les intensités EMF de champ respectives à partir des huit transects orthogonaux échantillonnés sur chaque site à l'aide de la fonction d'interp du package akima R (55). Pour évaluer l'effet de l'EMF sur la physiologie des abeilles, nous avons comparé la variation temporelle de Hsp70 à proximité et à distance des tours de transmission qui étaient soit inactives (EMF-off) soit actives (EMF-on) en installant un LMM qui intègre les individus au sein des sites en tant que facteur aléatoire imbriqué. Ceci a été réalisé en utilisant la fonction lme du package nlme R (56). L'importance du facteur aléatoire a été évaluée en comparant le modèle complet (facteurs fixes + aléatoires) avec un modèle sans l'inclusion de « l'individu sur le site » comme facteur aléatoire. Cela a été réalisé avec la fonction anova.lme également du package nlme R (56). L'effet de l'exposition expérimentale aux CEM dans le solénoïde sur les profils relatifs d'expression génique des abeilles exposées et non exposées a été examiné indépendamment pour chacun des 14 gènes sélectionnés au moyen d'un test t apparié. De plus, une évaluation du niveau d'expression de chaque gène par rapport au

un normalisateur interne (c'est-à-dire la référence « unique ») a également été réalisé indépendamment pour chaque gène, dans chaque condition d'exposition, via un test t sur un échantillon sous l'hypothèse nulle d'une vraie moyenne de groupe égale à 1. De manière complémentaire, nous avons effectué une analyse de variance bidirectionnelle (ANOVA), également en utilisant R, pour évaluer l'effet de la CEM du solénoïde sur la concentration de Hsp70 chez les abeilles de laboratoire. Dans ce cas, nous avons inclus la condition du solénoïde (on-off) et le temps expérimental (début-fin) comme facteurs.

De plus, nous avons utilisé des GAMM pour évaluer l'effet de la distance (proche) à laquelle les plantes se trouvaient des tours EMF-on et EMF-off sur le schéma quotidien de l'activité des abeilles (c'est-à-dire l'abondance locale des abeilles et les visites florales) autour. Individus de pavot de Californie avec des compositions florales contrastées (faible contre élevée). Nous avons tiré parti de la capacité des GAMM à gérer les relations non linéaires entre les variables et les facteurs aléatoires dans la structure des données (c'est-à-dire la parcelle et le site). Les analyses ont été effectuées avec les fonctions gamm et gam.check du package mgcv R (54). De manière complémentaire, nous avons réalisé un LMM supplémentaire pour évaluer, sur les trois sites de transmission électrique active (EMF-on), l'influence de la distance aux tours (proche versus lointain) sur le nombre de graines produites par Cal- les individus du pavot d'ifornia et son interaction avec leur exposition florale (faible ou élevée) et leur type de pollinisation (naturelle ou assistée). Comme ci-dessus, la parcelle et le site ont été inclus en tant que facteurs aléatoires lors de l'ajustement du modèle via la fonction lme du package nlme R (56).

Les effets des CEM sur la communauté végétale (richesse en espèces et abondance globale des plantes) et sur l'abondance du pavot de Californie ont été évalués en ajustant des LMM indépendants qui incluent l'activité de la ligne (EMF-off ou EMF-on), la distance à la les tours (proches ou lointaines) et leur interaction comme facteurs fixes, et la cardinalité du transect (N, W, S ou E) et le site comme facteurs aléatoires. Pour chaque variable de réponse, l'importance du facteur aléatoire a été évaluée en comparant la variance expliquée par le modèle ajusté respectif avec celle d'un modèle sans l'inclusion de la « cardinalité du site » comme facteur aléatoire. Ceci a été réalisé grâce à la fonction anova.lme, également issue du package nlme R (56).

Lorsque cela était nécessaire, nous avons vérifié si les résidus du modèle correspondaient à la distribution normale grâce aux tests de Shapiro-Wilk. Pour le cas des interactions LMM significatives, les différences spécifiques par paire entre les traitements ont été évaluées en comparant la valeur moyenne des moindres carrés pour chaque groupe, comme le permet le package emmeans (57). Pour l'ANOVA bidirectionnelle, un test de Tukey a posteriori post hoc a été réalisé. Par défaut, le premier niveau d'une variable catégorielle (classée par ordre alphabétique) est utilisé dans les analyses LMM et GAMM comme niveau de référence pour leurs comparaisons internes ; par conséquent, EMF-off, « Distance-close » et « Display-high » étaient les groupes de référence pour les variables « activité de la tour », « distance aux tours » et « affichage floral » dans les analyses référencées. La visualisation des données a été réalisée à l'aide des fonctions des packages R plotly (58) et ggplot2 (59).

Matériel supplémentaire

Ce fichier PDF comprend :
Fig. S1 et S2
Tableaux S1 à S10

RÉFÉRENCES ET REMARQUES

- M. Jung, P. Rowhani, JPW Scharlemann, Impacts des changements brusques de terres passés sur les biodiversité à l' échelle mondiale. *Nat. Commun.* 10, 5474 (2019).
- EC Ellis, JO Kaplan, DQ Fuller, PH Verburg, Used Planet : Une histoire globale. *Proc. Natl. Acad. Sci. États-Unis* 110, 7978-7985 (2013).
- E. Allan, P. Manning, F. Alt, J. Binkenstein, S. Blaser, N. Blüthgen, S. Böhm, F. Grassein, N. Hölzel, VH Klaus, T. Kleinebecker, EK Morris, Y. Oelmann, D. Prati, SC Renner, MC Rillig, M. Schaefer, M. Schlöter, B. Schmitt, I. Schöning, M. Schirmpf, E. Solly, E. Sorkau, J. Steckel, I. Steffen-Dewenter, B. Stempfhuber, M. Tschapka, CN Weiner, WW Weisser, M. Werner, C. Westphal, W. Wilcke, M. Fischer, L'intensification de l'utilisation des terres modifie la multifonctionnalité des écosystèmes via la perte de biodiversité et des modifications de la composition fonctionnelle. *Écol. Lett.* 18, 834-843 (2015).
- S. Diaz, U. Pascual, M. Stenseke, B. Martin-López, RT Watson, Z. Molnár, R. Hill, KMA Chan, IA Baste, KA Brauman, S. Polasky, A. Church, M. Lonsdale, A. Larigauderie, PW Leadley, APE van Oudenhoven, F. van der Plaats, M. Schröter, S. Lavorel, Y. Aumeeruddy-Thomas, E. Bukvareva, K. Davies, S. Demissew, G. Erpul, P. Failler, CA Guerra, CL Hewitt, H. Keune, S. Lindley, Y. Shirayama, Évaluation des contributions de la nature aux humains. *Sciences* 359, 270-272 (2018).
- XP Song, MC Hansen, SV Stehman, PV Potapov, A. Tyukavina, EF Vermote, JR Townshend, Changements terrestres mondiaux de 1982 à 2016. *Nature* 560, 639-643 (2018).
- SG Potts, JC Biesmeijer, C. Kremen, P. Neumann, O. Schweiger, WE Kunin, Déclin mondial des pollinisateurs : tendances, impacts et facteurs déterminants. *Tendances Ecol. Évol.* 25, 345-353 (2010).
- JA Foley, R. DeFries, GP Asner, C. Barford, G. Bonan, SR Carpenter, FS Chapin, MT Coe, GC Daily, HK Gibbs, JH Heikowski, T. Holloway, EA Howard, CJ Kucharik, C. Monfreda, JA Patz, IC Prentice, N. Ramankutty, PK Snyder, Conséquences mondiales de l'utilisation des terres. *Sciences* 309, 570-574 (2005).
- Indicateurs du développement dans le monde (2021) ; <https://databank.worldbank.org/source/world-development-indicators> .
- AJ Vanbergen, SG Potts, A. Vian, EP Malkemper, J. Young, T. Tschudin, Risque pour les pollinisateurs du rayonnement électromagnétique anthropique (EMR) : lacunes en matière de preuves et de connaissances. *Sci. Environ. Total.* 695, 133833 (2019).
- G. Redlarski, B. Lewczuk, A. Żak, A. Koncicki, K. Krawczuk, J. Piechocki, K. Jakubiak, P. Tojza, J. Jaworski, D. Ambroziak, Ł. Skarbek, D. Gradolewski, L'influence de la pollution électromagnétique sur les organismes vivants : tendances historiques et prévisions de changements. *Biomédec. Rés. Int.* 2015, 234098 (2015).
- KJ Fernie, SJ Reynolds, Les effets des champs électromagnétiques des lignes électriques sur la biologie et la physiologie de la reproduction aviaire : une revue. *J. Toxicol. Environ. Santé B Partie B Crit.* 8, 127-140 (2005).
- AF Pourlis, Effets sur la reproduction et le développement des CEM dans des modèles animaux vertébrés. *Physiopathologie* 16, 179-189 (2009).
- L. Albert, F. Deschamps, A. Jolivet, F. Olivier, L. Chauvaud, S. Chauvaud, Une synthèse actuelle sur les effets des champs électriques et magnétiques émis par les câbles électriques sous-marins sur les in-vertébrés. *Mars Environ. Rés.* 159, 104958 (2020).
- A. Thielens, D. Bell, DB Mortimore, MK Greco, L. Martens, W. Joseph, Exposition des insectes aux champs électromagnétiques radio-fréquences de 2 à 120 GHz. *Sci. Rep.* 8, 1-10 (2018).
- A. Lacy-hulbert, JC Metcalfe, R. Hesketh, Réponses biologiques aux champs électromagnétiques. *FASEB J.* 12, 395-420 (1998).
- BB Levitt, H. Lai, Effets biologiques de l'exposition au rayonnement électromagnétique émis par les stations de base des tours de téléphonie cellulaire et autres réseaux d'antennes. *Environ. Rev.* 18, 369-395 (2010).
- E. Atli, H. Ünlü, Les effets des champs électromagnétiques de fréquence micro-ondes sur le développement de *Drosophila melanogaster*. *Int. J. Radiat. Biol.* 82, 435-441 (2006).
- E. Atli, H. Ünlü, Les effets des champs électromagnétiques micro-ondes sur la fécondité de *Drosophila melanogaster*. *Turc J. Biol.* 31, 1-5 (2007).
- DJ Panagopoulos, LH Margaritis, L'effet de la durée d'exposition sur l'activité biologique des rayonnements de la téléphonie mobile. *Mutat. Rés.* 699, 17-22 (2010).
- TE Ferrari, Les aimants, les fluctuations du champ magnétique et les perturbations géomagnétiques nuisent à la capacité de retour des abeilles mellifères (*Apis mellifera*). *J. Apic. Rés.* 53, 452-465 (2014).
- A. Lázaro, A. Chroni, T. Tschudin, J. Devaldez, C. Matsoukas, T. Petanidou, Le rayonnement électromagnétique des antennes de télécommunications mobiles affecte l'abondance et la composition des pollinisateurs sauvages. *J. Conservation des insectes.* 20, 315-324 (2016).
- KLJ Hung, JM Kingston, M. Albrecht, DA Holway, JR Kohn, L'importance mondiale des abeilles mellifères en tant que pollinisateurs dans les habitats naturels. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* 285, 20172140 (2018).
- O. Bazalova, M. Kvalcova, T. Valkova, P. Slaby, P. Bartos, R. Netušil, K. Tomanova, P. Braeuniger, HJ Lee, I. Sauman, M. Damulewicz, J. Provoznik, R. Pokorny, D. Dolezel, M. Vacha, *Cryp-tochrome 2* assure la médiation de la magnéto-réception directionnelle chez les blattes. *Proc. Natl. Acad. Sci. États-Unis* 113, 1660-1665 (2016).
- P. Migdał, E. Berbec, P. Bieńkowski, M. Plotnik, A. Murawska, K. Latarowski, L'exposition aux champs magnétiques modifie le comportement des abeilles (*Apis mellifera* L.) dans des conditions de laboratoire. *Animala* 12 855 (2022).
- C. Hsu, F. Ko, C. Li, K. Fann, J. Lue, Système de magnéto-réception chez les abeilles (*Apis mellifera*). *PLOS UN 2*, e395 (2007).
- VP Sharma, NR Kumar, Changements dans le comportement et la biologie des abeilles sous l'influence des radiations des téléphones portables. *Curr. Sci.* 98, 1376-1378 (2010).
- SS Kumar, Trouble d'effondrement des colonies (CCD) chez les abeilles domestiques causé par les rayonnements EMF. *Bio-informations* 14, 521-524 (2018).
- S. Shepherd, MAP Lima, EE Oliveira, SM Sharkh, CW Jackson, PL Newland, Ex- Les champs électromagnétiques à très basse fréquence altèrent les capacités cognitives et motrices des abeilles. *Sci. Rep.* 8, 7932 (2018).
- D. Favre, Tuyauterie des ouvrières des abeilles induites par le téléphone portable. *Apidologie* 42, 270-279 (2011).
- MC Pereira, IDC Guimarães, D. Acosta-Avalos, WFA Junior, Une modification du champ magnétique peut-elle affecter le comportement de recherche de nourriture des fourmis ? *PLOS UN 14*, e0225507 (2019).
- D. Pandir, R. Sahingoz, Stress oxydatif induit par un champ magnétique et dommages à l'ADN chez Larves de la teigne méditerranéenne de la farine *Ephesia kuehniella* Zeller (Lepidoptera : Pyralidae). *J. Pest Sci.* 87, 79-87 (2014).
- T. Tang, C. Wu, J. Li, G. Ren, D. Huang, F. Liu, Le HSP70 induit par le stress de *Musca domestica* joue un rôle fonctionnel important dans le système immunitaire. *J. Physiol des insectes.* 58, 1226-1234 (2012).
- R. Goodman, M. Blank, Le stress du champ magnétique induit l'expression de hsp70. *Stress cellulaire Chaperon.* 3, 79-88 (1998).
- J. Chen, Y. Zhou, Y. Lei, Q. Shi, G. Qi, Y. He, L. Lyu, Rôle du gène de recherche de nourriture dans la transition comportementale des travailleurs chez la fourmi de feu rouge importée, *Solenopsis invicta* (Hymenoptera : Formicidae). *Gestion antiparasitaire. Sci.* 78, 2964-2975 (2022).
- C. Scholl, N. Kübert, TS Muenz, W. Rössler, CaMKII knockdown affecte à la fois les phases précoces et tardives de la mémoire olfactive à long terme chez l'abeille. *J. Exp. Biol.* 218, 3788-3796 (2015).
- Y. Gao, P. Wen, RT Cardé, H. Xu, Q. Huang, En plus du cryptochrome 2, les particules magnétiques avec co-récepteur olfactif sont importantes pour l'orientation magnétique chez les termites. *Commun. Biol.* 4, 1121 (2021).
- R. Ma, J. Rangel, CM Grozinger, Les phéromones larvaires de l'abeille domestique (*Apis mellifera*) peuvent réguler l'expression des gènes liée à la spécialisation des tâches de recherche de nourriture. *BMC Génomique* 20, 592 (2019).
- F. Forouharmajd, S. Pourabdian, H. Ebrahimi, Évaluation des changements de température du tissu cérébral dus au chauffage induit des ondes des téléphones portables. *Int. J. Précédent. Méd.* 9, 40 (2018).
- LG Neven, Réponses physiologiques des insectes à la chaleur. *Biol après récolte. Technique.* 21, 103-111 (2000).
- M. Czerwiński, Ł. Januskiewicz, A. Vian, A. Lázaro, L'influence des technologies mobiles bioactives. rayonnement lephonique au niveau d' une communauté végétale –Mécanismes possibles et indicateurs des effets. *Écol. Indice.* 108, 105683 (2020).
- V. Anic, CA Henriquez, SR Abades, RO Bustamante, Nombre de congénères et reproduction dans la plante envahissante *Eschscholzia californica* (Papaveraceae) : existe-t-il un effet Allee médié par les pollinisateurs ? *Biol végétal.* 17, 720-727 (2015).
- MA Aizen, LD Harder, Le stock mondial d'abeilles domestiques croît plus lentement que la demande agricole en matière de pollinisation. *Curr. Biol.* 19, 915-918 (2009).
- MA Aizen, LA Garibaldi, SA Cunningham, AM Klein, Combien coûte l'agriculture dépendre des pollinisateurs ? Leçons tirées des tendances à long terme de la production agricole. *Anne. Bot.* 103, 1579-1588 (2009).
- AM Klein, BE Vaissière, JH Cane, I. Steffan-Dewenter, SA Cunningham, C. Kremen, T. Tschamtkke, Importance des pollinisateurs dans l'évolution des paysages pour les cultures mondiales. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* 274, 303-313 (2007).
- J. Wyszowska, P. Grodzicki, M. Szczygiel, Champs électromagnétiques et trouble d'effondrement des colonies de l'abeille domestique. *Prz. Électrotechnique* 95, 137-140 (2019).
- F. di Castri, E. Hajek, *Bioclimatología de Chile* (Editorial Universidad Católica de Chile, 1976).
- F. Luebert, P. Pliscoff, dans *Sinopsis Bioclimática y Vegetacional de Chile*. (Édition Universitaire, 2006), p. 296.
- S. Cook, Système génétique, variation et adaptation chez *Eschscholzia californica*. *Évolution* 16, 278-299 (1962).
- M. Arroyo, C. Marticorena, O. Matthei, LA Cavieres, Invasions végétales au Chili : tendances actuelles et prévisions futures, dans *Espèces envahissantes dans un monde en évolution*, En H. Mooney et R. Hobbs, Eds. (Island Press, 2000), pages 385 à 421.
- EA Leger, KJ Rice, Évaluation de la vitesse et de la prévisibilité de l'adaptation locale des coquelicots envahissants de Californie (*Eschscholzia californica*). *J. Evolution. Biol.* 20, 1090-1103 (2007).
- F. Peña-Gómez, P. Guerrero, G. Bizama, M. Duarte, R. Bustamante, Conservatisme de niche climatique et non-équilibre biogéographique chez *Eschscholzia californica* (papaveraceae), une plante envahissante de la région méditerranéenne chilienne. *PLOS UN 9*, 1-8 (2014).

52. S. Kim, K. Kim, JH Lee, SH Han, SH Lee, Expression différentielle de l'acétylcholinestérase 1 en réponse à divers facteurs de stress chez les ouvrières des abeilles domestiques. *Sci. Rep.* 9, 10342 (2019).
53. JD Evans, RS Schwarz, YP Chen, G. Budge, RS Corman, P. de la Rúa, JR de Miranda, S. Foret, L. Foster, L. Gauthier, E. Genersch, S. Gisder, A. Jarosch, R. Kucharski, D. Lopez, CM Lun, RFA Moritz, R. Maleszka, I. Muñoz, MA Pinto, Méthodes standard pour la recherche moléculaire sur *Apis mellifera*. *J. Apic. Rés.* 52, 1–54 (2013).
54. S. Wood, dans *Modèles additifs généralisés : une introduction avec R*, (Chapman et Hall/CRC, éd. 2, 2017), p. 496.
55. H. Akima, A. Gebhardt, akima : Interpolation de données irrégulièrement et régulièrement espacées. R. version du package 0.6-2 (2020).
56. J. Pinheiro, D. Bates, S. DebRoy, D. Sarkar, R-Core Team, nlme : Modèles à effets mixtes linéaires et non linéaires. R-package version 3 (2021), pp. 1-152 ; <https://CRAN.R-project.org/package=nlme> .
57. RV Lenth, Emmeans : Moyennes marginales estimées, également appelées moyennes des moindres carrés (2021) ; <https://github.com/rvleth/emmeans>.
58. C. Sievert, Visualisation interactive de données sur le Web avec R, plotly et brillant (CRC Presse, 2020).
59. H. Wickham, ggplot2 : Graphiques élégants pour l'analyse des données (Springer-Verlag, 2016), pp. 260.
- Remerciements : Nous remercions P. Flores, M. Serrano, A. Villegas, R. Parra, M. Smith, E. Vásquez, R. Gómez, M. Andaur, W. Plaza, V. Schlageter et M. Belmonte pour leur aide. sur le terrain et en laboratoire. Nous remercions également le personnel du CEAZA pour son aide dans les analyses biochimiques et la construction des solénoïdes. Nous remercions H. Benítez et C. Muñoz pour l'identification des insectes pollinisateurs. Financement : Cette étude n' a été soutenue financièrement par aucune subvention ou projet. Contributions des auteurs : MAM-M., CT-D. et BRB ont développé l'idée originale des analyses présentées ici. Les données de terrain ont été collectées par MAM-M., CTD, MB et ISA-R. Les analyses de laboratoire ont été effectuées par MAM-M., GIB et MB. Les analyses statistiques ont été effectuées par ISA-R. et BRB Le manuscrit a été rédigé par MAM-M. avec les contributions de tous les coauteurs. Intérêts concurrents : Les auteurs déclarent qu' ils n' ont aucun intérêt concurrent. Disponibilité des données et du matériel : toutes les données nécessaires pour évaluer les conclusions de l'article sont présentes dans l'article et/ou dans les documents supplémentaires.
- Soumis le 13 février 2023 Accepté le 11 avril 2023 Publié le 12 mai 2023 10.1126/sciadv.adh1455

ScienceAdvances

Les champs électromagnétiques perturbent le service de pollinisation des abeilles

Marco A. Molina-Montenegro, Ian S. Acuña-Rodríguez, Gabriel I. Ballesteros, Mariela Baldelomar, Cristian Torres-Díaz, Bernardo R. Broitman et Diego P. Vázquez

Sci. Av. 9 (19), EADH1455. DOI : 10.1126/sciadv.adh1455

Consulter l'article en ligne

<https://www.science.org/doi/10.1126/sciadv.adh1455> Autorisations

<https://www.science.org/help/reprints-and-permissions>

L'utilisation de cet article est soumise aux [conditions d'utilisation](#)

Science Advances (ISSN 2375-2548) est publié par l'Association américaine pour l'avancement de la science. 1200 New York Avenue NW, Washington, DC 20005. Le titre Science Advances est une marque déposée de l'AAAS.

Copyright © 2023 Les Auteurs, certains droits réservés ; titulaire exclusif de la licence American Association for the Advancement of Science. Aucune réclamation sur les travaux originaux du gouvernement américain. Distribué sous licence Creative Commons Attribution 4.0 (CC BY).