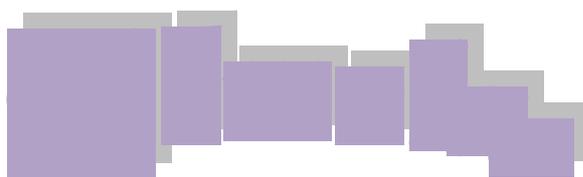


République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur
Et de la Recherche Scientifique

Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou
Faculté des sciences biologiques et de sciences agronomiques
Département des sciences agronomiques



De fin d'études

En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master en Sciences Agronomiques

Option : Ressources animales en zone de montagne

Thème

*Détermination de la dose létale 50 (DL50)
des deux insecticides: Diméthoate et
Lambda Cyhalothrine chez l'abeille
domestique Apis mellifera intermissa*

Réalisé par : M^{lle} BOUACEM Khedoudja

Mr SIFOUANE Rachid

Devant le jury :

Président : Mr AMRANE R.

Promotrice : M^{me} DJOUBER F.

Examineurs : Mr ALLILI N.

M^{lle} CHOUGAR S.

Promotion : 2015 - 2016

Remerciements

Nous remercions Dieu, Le Tout-puissant et miséricordieux, de nous avoir donné la santé et la volonté pour accomplir ce modeste travail.

*Nous adressons nos remerciements les plus sincères et les plus chaleureux à notre promotrice, **M^{me} Djouber-Toudert F.**, maître assistante « A » à l'université d'UMMTO. Nous la remercions tout d'abord pour nous avoir fait confiance, ensuite pour ces conseils précieux, ses orientations judicieuses et ses directives efficaces. Qu'elle trouve ici l'expression de notre profonde gratitude.*

Nous remercions aussi :

***Mr Amrane R.**, maître de conférences « A » au département d'Agronomie d'UMMTO pour nous avoir honorés en acceptant de présider le jury de notre soutenance.*

***Mr Allili N.**, maître assistant « A » au département d'Agronomie d'UMMTO d'avoir accepté d'examiner et de valoriser notre travail.*

***M^{elle} Chougar S.**, maître assistante « A » au département de Biologie d'UMMTO d'avoir accepté d'examiner et de valoriser notre travail.*

Nous remercions ainsi toute personne qui nous a soutenu de pré ou de loin à la réalisation de ce travail.

Sommaire

Introduction	1
---------------------------	---

Chapitre I : Structure d'une colonie d'abeilles

1. Différentes castes d'abeilles.....	3
1.1. Caste des sexués	3
1.1.1. Reine	3
1.1.2. Faux-bourdons.....	4
1.2. Caste des aséxués (ouvrières).....	4
2. Développement de l'abeille	Erreur ! Signet non défini.
2.1. Stade embryonnaire.....	5
2.2. Stade larvaire	5
2.3. Stade nymphale	6
2.4. Stade adulte (imago).....	6
3. Répartition des tâches au sein de la colonie	8
3.1. Reine.....	8
3.2. Faux-bourdons	8
3.3. Ouvrières	8
3.3.1. Abeille nétoyeuse	8
3.3.2. Abeille nourricière.....	8
3.3.3. Abeille cirière	9
3.3.4. Abeille butineuse	9
4. Cycle de la colonie d'abeille	9
4.1. Phase de développement (printemps).....	9
4.2. Période d'essaimage	10
4.3. Phase de préparation d'hivernage	10
4.4. Phase hivernale	10

Chapitre II : Causes de la mortalité des abeilles

1. Agents biologiques	12
1.1. <i>Varroa destructor</i>	12
1.2. <i>Nosema ceranae</i>	13
1.3. Loque américaine	14
1.4. Loque européenne	14

2. Agents chimiques	15
3. Agents environnementaux	16
4. Pratiques apicoles	16
5. Syndrome d'effondrement des colonies d'abeilles	17

Chapitre III : Pesticides et leurs effets les abeilles

1. Définition des produits phytosanitaires	19
2. Marché des produits phytosanitaires	19
3. Techniques d'application	20
4. Mode de contamination	21
5. Classification des pesticides	22
5.1. Les organochlorés et organophosphorés	23
5.1.1. Diméthoate	23
5.1.2. Propriétés physico-chimiques de Diméthoate	24
5.2. Carbamates et pyrethrinoides de synthèse	24
5.2.1. Lambda Cyhalothrine	24
5.2.2. Présentation de la molécule	25
5.2.3. Propriété chimiques	25
5.2.4. Action de Lambda Cyhalothrine	25
5.3. Les nouvelles molécules insecticides	25
6. Plantes transgène (OGM)	26
7. Effets des insecticides sur les abeilles	27
7.1. Effets létaux	28
7.2. Effets sublétaux	29

Matériels et méthodes

1. Objectif	32
2. Matériels et méthodes	32
2.1. Matériel biologique	32
2.2. Matériel de l'exploitation	32
2.3. Matériel de laboratoire	33
4. Méthodes	35
4.1. Période pré-expérimentale	36
4.2. Période expérimentale	36
4.2.1. Préparations des doses des insecticides	36
4.2.2. Expérimentation	38

4.2.3. Contrôle de la mortalité.....	38
--------------------------------------	----

Résultats et discussion

1. Symptômes induits par la toxicité des insecticides Diméthoate et Lambda Cyhalothrine ...	39
2. Toxicité	40
3. Discussion	41

<i>Conclusion</i>	44
--------------------------------	----

Liste des tableaux

<u>Tableau 1</u> : Durée du développement du couvain d'abeilles pour les 3 castes	7
<u>Tableau 2</u> : Effets des insecticides sur le comportement des abeilles.....	31
<u>Tableau 3</u> : Doses de diméthoate testées.....	37
<u>Tableau 4</u> : Doses de lambda cyhalothrine utilisées	37
<u>Tableau 5</u> : Toxicité de Diméthoate vis-à-vis des lots d'abeilles <i>Apis mellifera</i>	40
<u>Tableau 6</u> : Toxicité de Lambda Cyhlothrine vis-à-vis des lots d'abeilles <i>Apis mellifera</i>	41

Liste des figures

<u>Figure 1</u> : Castes des abeilles.	3
<u>Figure 2</u> : Différents stades de développement d'une abeille Erreur ! Signet non défini.	
<u>Figure 3</u> : Développement journalier du couvain d'ouvrières d' <i>Apis mellifera</i>	7
<u>Figure 4</u> : Différentes causes de la mortalité des abeilles	11
<u>Figure 5</u> : Vue dorsale de <i>Varroa destructor</i>	12
<u>Figure 6</u> : Loque américaine	14
<u>Figure 7</u> : Loque européenne.....	15
<u>Figure 8</u> : Différentes familles des insecticides	22
<u>Figure 9</u> : Formule chimique de diméthoate.....	23
<u>Figure 10</u> : Formule chimique de lambda cyhalothrine	25
<u>Figure 11</u> : Enfumoir et brosse à abeilles	32
<u>Figure 12</u> : Lève-cadre	33
<u>Figure 13</u> : Cagette pain	33
<u>Figure 14</u> : Etuve	34
<u>Figure 15</u> : Micropipette et seringues.....	34
<u>Figure 16</u> : Flacons opaques.....	34
<u>Figure 17</u> : Diméthoate 40 vallés	35
<u>Figure 18</u> : Karate 2,5 EC	35

L'abeille mellifère, *Apis mellifera*, est un insecte très important pour l'économie. Elle produit du miel, du pollen, de la gelée royale, de la propolis, de la cire et enfin du venin. En outre en tant que pollinisateur de nombreuses plantes cultivées et sauvages, elle joue un rôle clef du point de vue écologique et économique.

Depuis des années, les colonies d'abeilles domestiques *Apis mellifera*, subissent d'importantes pertes au niveau mondial. Ce phénomène est couramment appelé syndrome d'effondrement des colonies ou Colony Collapse Disorder (CCD). Il se caractérise par une disparition rapide des abeilles adultes dans des colonies où il y a présence de la reine, du couvain et des réserves alimentaires semblable à celles observées dans les colonies ne subissant pas ce phénomène (Dussaubat, 2009).

Dans son environnement, l'abeille est soumise à différents éléments que sont les agents biologiques infectieux (prédateurs, parasites, champignons, bactéries, virus) et les agents non biologiques (toxiques divers, conditions climatiques, contraintes de production, etc.). Si, historiquement, les anomalies apicoles étaient majoritairement mises en relation avec les maladies dues aux agents pathogènes biologiques de l'abeille, plus récemment, la présence d'éléments chimiques dans l'environnement de l'abeille, provoquant potentiellement son intoxication, a été incriminée (Chiron et Hattenberger, 2008).

L'utilisation des pesticides en agriculture représente donc un danger réel pour cet insecte pollinisateur, le risque n'est pas nouveau mais il est en constante évolution : l'appariation de nouvelles molécules et techniques d'applications bouleverse les données et suscite de nouvelles craintes (Le conte, 2008). Il convient donc de bien évaluer le risque afin de prendre des mesures de protection adaptées et faire coexister tant bien que mal l'agriculture moderne et les abeilles.

Cette présente étude rentre dans ce cadre puisque l'objectif visé est de déterminer la dose létale qui tue 50% des effectifs (DL50) en utilisant deux insecticides Diméthoate et la Lambda Cyhalothrine chez l'abeille domestique *Apis mellifera intermissa*.

Le présent travail est scindé en deux parties ; une partie bibliographique portant sur une synthèse des connaissances sur la biologie de l'abeille, les causes de la mortalité. Ainsi que la toxicité et le risque des insecticides pour l'abeille. Et une partie expérimentale où seront présentés d'abord le matériel et les méthodes utilisés, les résultats obtenus ainsi que leur discussion et enfin, nous terminerons par une conclusion.

Les abeilles sont présentes partout dans le monde, des Tropiques à l'Arctique, des forêts amazoniennes aux déserts. Il existe plus de 20.000 espèces d'abeilles sur notre planète. Certaines sont petites, d'autres plus grosses et chacune s'adapte différemment en fonction de l'environnement. Depuis des milliers d'années, l'homme récolte les produits de la ruche : du miel, de la propolis et de la cire. Il en a fait un métier : l'apiculture, qui se propage dans le monde entier.

1. Différentes castes de l'abeille

Chez l'abeille domestique, la structure sociale de la colonie repose sur une organisation en castes. On distingue deux castes : les sexués dont la reine et les faux bourdons et les asexués représentés par les ouvrières (**Figure1**).

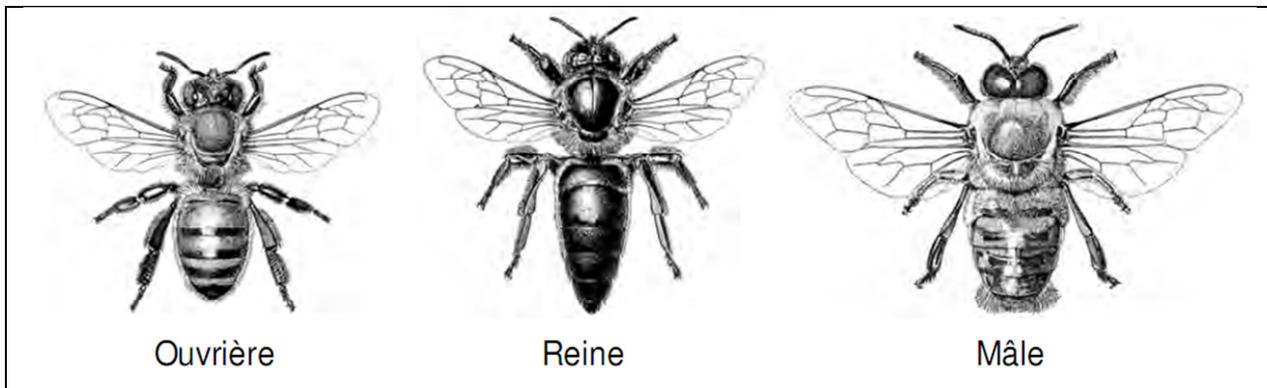


Figure 1 : Castes des abeilles (Bourg, 2006).

1.1. Caste des sexués

Elle assure la fonction de reproduction et regroupe la reine et les mâles. Le déterminisme de la caste est différent pour les femelles et les mâles. Pour ces derniers, le déterminisme est génétique. La reine et les ouvrières sont diploïdes (issues d'œufs fécondés) et les mâles sont haploïdes (issus d'œufs non fécondés). On pourrait donc penser que la reine contrôle la production de mâles dans la colonie en choisissant de féconder ou non les œufs qu'elle pond (Bourg, 2006). A la différence des mâles, le déterminisme de la caste chez les femelles est lié au régime alimentaire. N'importe quelle larve issue d'un œuf fécondé peut être élevée en reine, si elle est nourrie par les ouvrières avec de la gelée royale.

1.1.1. Reine

La reine se reconnaît à son abdomen allongé qui dépasse largement la pointe des ailes au repos. Son thorax est plus gros que celui de l'ouvrière. Les reines et les ouvrières se développent à partir des mêmes œufs mais les larves qui deviendront des reines reçoivent plus de gelée royale que les larves qui deviendront des ouvrières.

En général, il n'y a qu'une reine par colonie, et normalement, elle est la seule femelle à pondre. Avant de pondre, la reine effectue un vol nuptial du huitième au dixième jour après sa naissance, elle s'accouple en vol avec une dizaine de faux-bourçons. Les spermatozoïdes produits lors des accouplements sont conservés vivants dans un sac situé dans son abdomen la spermathèque. Tant que cette dernière contient des spermatozoïdes, elle peut pondre des œufs fécondés (si les accouplements ont été réussis, elle peut pondre des œufs fécondés pendant 3 à 5 ans). Les reines pondent la plupart des œufs la première année de leur vie, c'est pourquoi les apiculteurs remplacent souvent les reines après une ou deux années. La reine ne butine pas elle-même sa nourriture. Elle doit être nourrie avec, exclusivement, la gelée royale secrétée par des glandes situées dans la tête des ouvrières (Van't Leven *et al.*, 2005).

1.1.2. Faux bourçons

Les œufs non fécondés, haploïdes, engendrent des mâles, les œufs de mâles sont généralement produits au printemps et parfois à l'automne dans certaines régions. Le faux bourdon est facilement reconnaissable à sa taille plus imposante, ils sont beaucoup plus gros que les ouvrières, mais plus courts que la reine. Sa seule fonction apparente consiste à féconder les jeunes reines. L'appareil génital est très développé dans l'abdomen. Les faux boudons possèdent un endophallus qui est l'organe reproducteur sur lequel débouche le canal éjaculateur. L'accouplement induit la perte de l'endophallus et la mort du mâle (Videl-Naquet, 2009).

La maturité sexuelle du mâle est atteinte entre 12 et 15 jours après l'émergence, mais il ne peut s'accoupler qu'à partir de l'âge de 30 ou 40 jours. La durée de vie moyenne est de 50 jours.

1.2. Caste des asexuées : les ouvrières

Une grande colonie peut comporter plus de 50 000 ouvrières, elles naissent des œufs fécondés. De face, la tête de l'ouvrière est triangulaire, elle présente des pièces buccales spécialisées avec un appareil collecteur de nectar. Ses yeux sont plus petits que ceux de la reine. Le thorax supporte des ailes aussi longues que l'abdomen et des pattes pourvues d'une structure spécifique pour collecter le pollen. L'appareil vulnérant est fonctionnel tandis que l'appareil génital est atrophié. Dépendamment de son âge et de l'influence des phéromones royales, les caractéristiques des ouvrières varient, notamment le développement des différentes glandes.

Les ouvrières sont des femelles stériles, dont le fonctionnement ovarien est bloqué par les phéromones produites par la reine. Certaines de ces ouvrières peuvent cependant pondre,

mais uniquement dans une situation d'absence de reine (colonie orpheline), dans ce cas précis, la descendance engendrée sera exclusivement mâle (Van't Leven *et al.*, 2005).

2. Développement de l'abeille

La reine, dont le rôle est la perpétuité de l'espèce, pond plus de 2000 œufs par jour, elle en dépose un par alvéole. L'abeille est un insecte à métamorphose complète, il se passe 22 jours entre la ponte et la sortie de l'alvéole d'un adulte reproducteur complet (imago) (**figure2**).

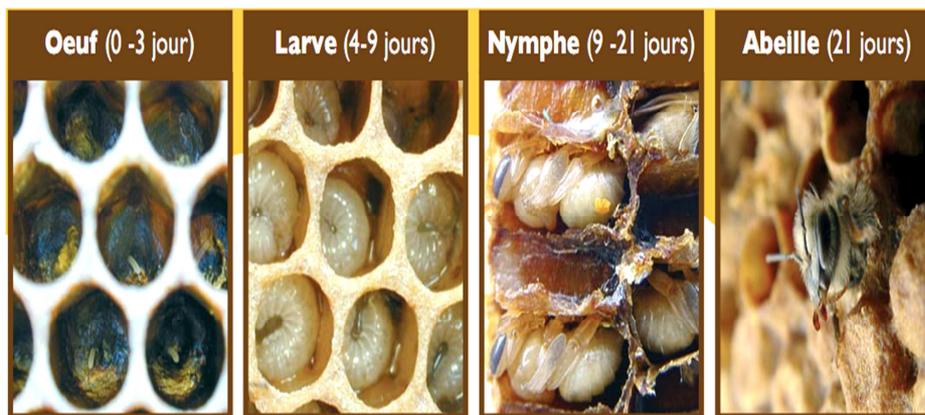


Figure 2 : Différents stades de développement d'une abeille (Bertrand, 2003).

Après le stade œuf, cinq stades larvaires se développent successivement dans le couvain ouvert, les larves étant alimentées et soignées par les abeilles nourrices jusqu'à l'operculation de l'alvéole.

2.1. Stade embryonnaire

L'œuf est blanchâtre, cylindrique, allongé et légèrement incurvé, il mesure 3mm. Le poids est compris entre 0,12 et 0,22 mg. Ils ont d'abord une disposition verticale au fond des alvéoles, puis oblique et finalement horizontale vers le 3ème jour. L'œuf éclot 3 jours environ après la ponte pour les 3 castes d'abeilles, et donne lieu à une larve (Bertrand, 2003).

2.2. Stade larvaire

Au 3ème jour, l'œuf éclot par dissolution de sa membrane. Il devient alors une larve qui a la forme d'un petit ver. La larve passe presque tout son temps à manger la nourriture déposée dans l'alvéole par les abeilles nourrices. Au fur et à mesure que la larve grandit, elle mue à 5 reprises (Bertrand, 2003).

Selon le même auteur, la larve gagne énormément de poids par rapport à son poids initial, environ 900 fois pour l'ouvrière, 1700 fois pour la reine et 2300 fois pour le mâle.

Elle beigne dans une nourriture constamment renouvelée par les ouvrières nourrices ; la qualité et la quantité de l'alimentation varient :

- les ouvrières sont nourries par les sécrétions des nourrices (sécrétion claire des glandes hypopharyngiennes + sécrétion blanche mandibulaires auxquelles celles-ci ajoutent peu à peu du pollen et du miel) ;

- les reines reçoivent de la nourriture en quantité beaucoup plus importante (toute la cellule est remplie) et la proportion des sécrétions mandibulaires est beaucoup plus grande que pour les ouvrières ; leur nourriture est aussi plus riche en sucre notamment le glucose ;

- les mâles reçoivent également une nourriture abondante et riche en protéines.

Au 9^{ème} jour, l'alvéole est operculée par un petit bouchon de cire. Les derniers jours du stade larvaire sont consacrés à la construction d'un cocon. Au terme de sa croissance, la larve effectue une dernière mue qui l'amène au stade de nymphe. La durée du stade larvaire varie selon la caste : reine 8 jours, ouvrière ou faux-bourdon 9 jours (Bertrand, 2003).

2.3. Stade nymphal

Au stade nymphal, la tête, les yeux, les antennes, les pièces buccales, le thorax, les pattes et l'abdomen ont les caractéristiques de celles de l'adulte. La cuticule devient de plus en plus foncée; sa couleur est utilisée pour déterminer l'âge d'une nymphe. A l'intérieur, les muscles et les organes se transforment, puis une ultime mue intervient. Il faudra quelques heures pour que la nouvelle cuticule sèche. Les nymphes, immobiles, ne se nourrissent pas, ne grandissent pas et aucun changement extérieur de forme n'est observé. Les organes internes subissent par contre des remaniements importants. Le stade nymphal dure environ 8 à 9 jours pour les ouvrières et les faux-bourdons, 4 à 5 jours pour les reines. Il est suivi de la 6ème et dernière mue appelée mue imaginale qui va faire passer la nymphe au stade adulte (Winston, 1993).

2.4. Stade adulte (Imago)

Au 21ème jour, l'imago perfore l'opercule de cire avec ses mandibules. Après sa sortie de l'alvéole, l'adulte déploie ses ailes et ses antennes, laisse sécher ses poils puis commence ses activités. Tant que l'exosquelette autour des glandes vulnérantes (contenant le venin) n'est pas durci, la jeune abeille ne peut piquer. Dans les 8 à 10 jours suivant la naissance, le développement interne (notamment des glandes) se poursuit. Les reines et les faux-bourdons poursuivent quant à eux le développement de leurs organes reproducteurs (Winston, 1993).

La **figure 3** donne un aperçu général sur le développement journalier du couvain d'ouvrières d'*Apis mellifera*.

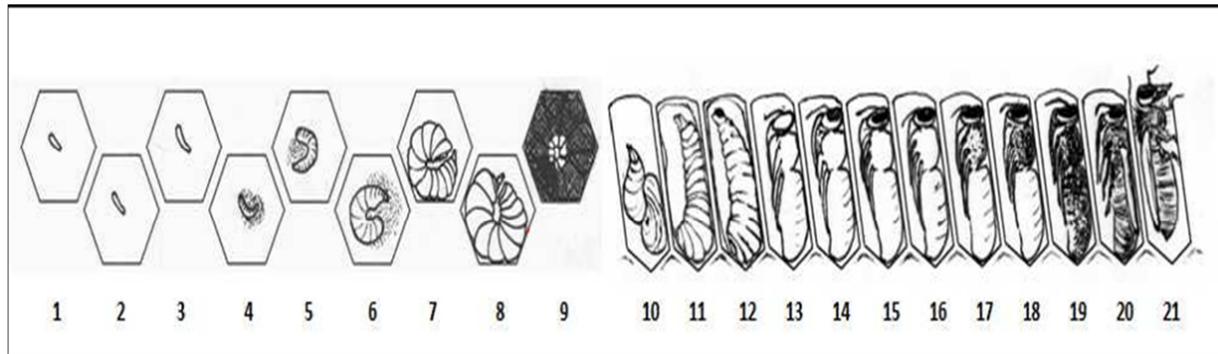


Figure 3 : Développement journalier du couvain d'ouvrières d'*Apis mellifera* (Wendling, 2012).

Aussi, le **tableau 1** résume les stades de développement, de l'œuf à l'insecte parfait, des différentes castes d'abeilles. Les durées totales d'évolution de l'œuf à l'imago sont respectivement de 16, 21 et 24 jours pour respectivement la reine, l'ouvrière et le faux-bourdon; il existe cependant des variations selon la température d'élevage ou les disponibilités en nourriture.

Tableau 1: Durée du développement du couvain d'abeilles pour les 3 castes (Wendling, 2012)

Stades du développement du couvain d'abeilles		Durée de chaque stade (jours)			
		Reine	Ouvrière	Faux-bourdon	
Couvain ouvert	Stade oeuf		3,0	3,0	3,0
	Stades larvaires	1	4,6	5,5	6,3
		2			
		3			
4					
Couvain operculé	5	non operculé	1,4	1,5	2,1
		operculé, avant et pendant le tissage du cocon			
		operculé après le tissage du cocon ou prénymphe			
Stade nymphal		4,6	8,0	8,9	
Stade imago pré-émergent		0,9	0,8	1,2	
Temps nécessaire pour un développement total (jours)		16	21	24	

3. La répartition des tâches au sein de la colonie

L'intérêt de la division de la colonie en castes réside dans la répartition du travail. Cette division est contrôlée par différents facteurs internes lié à l'animal (caste, âge, physiologie...) ou externes (environnement, interactions sociales, ...).

3.1. Reine

L'activité principale de la reine est d'assurer la pérennité de la colonie par la ponte, plus de 2000 œufs par jour au printemps. C'est l'individu central sur lequel repose la cohésion du groupe grâce à ses phéromones qui régulent la physiologie et le comportement des ouvrières. Elle est l'objet de tous les soins de la part des ouvrières.

3.2. Faux bourdons

Les mâles eux ont pour rôle principal de s'accoupler avec une reine lors du vol nuptial. Ils participent aussi à la maturation du miel et la régulation de la température de la ruche par la ventilation et incitation des ouvrières à travailler.

3.3. Ouvrières

Les ouvrières forment l'écrasante majorité des individus de la ruche et en assument tous les travaux : entretien du couvain, construction des rayons, récolte de nourriture etc. Au cours de son existence chaque ouvrière réalise une dizaine de tâches différentes : elle débute par les travaux d'intérieur et ce n'est que dans les derniers jours qu'elle butinera.

3.3.1. Abeille nettoyeuse

Les abeilles émergentes (0-3 jours) ne peuvent pas voler ou piquer et sont considérées comme immatures. La première tâche que les jeunes abeilles accomplissent c'est le nettoyage. En effet, elles déblayent les résidus de cire ou de pollen ainsi que les cadavres des cellules afin que la reine puisse y pondre (Winston, 1993). La préparation d'une cellule prend environ quarante minutes et quinze à trente ouvrières y participent successivement. L'aptitude des abeilles à nettoyer leur nid révèle l'état de santé de la colonie, car cette propriété est fondamentale à sa pérennité. Il s'agit en effet, de limiter la multiplication des agents pathogènes qui peuvent se reproduire.

3.3.2. Abeille nourricière

Les nourrices apportent les soins nécessaires au couvain surtout l'alimentation. Elles accomplissent cette tâche à un âge situé entre 3 et 16 jours (Rösch, 1925). Une même larve est nourrie par plusieurs ouvrières. Elle est inspectée plus fréquemment qu'elle n'est nourrie (Lindauer, 1952). De plus, les jeunes ouvrières s'occupent de la reine, un cercle d'une dizaine d'abeilles, la cour, est généralement formée autour de la reine. Elles la lèchent en s'imprégnant de ses phéromones qu'elles transmettent aux autres abeilles.

Chez les nourrices, les glandes hypopharyngiennes produisent plus de protéines de la gelée royale qui est distribuée surtout aux jeunes larves et aux reines, mais aussi aux mâles et ouvrières. Les glandes hypopharyngiennes sont situées dans la tête des abeilles ouvrières.

3.3.3. Abeille cirière

Les ouvrières âgées de 12 à 18 jours possèdent des glandes cirières qui sécrètent de la cire. Les glandes sont au nombre de quatre paires situées dans la partie ventrale des quatre derniers segments de l'abdomen de l'ouvrières, elles sont cachées par les plaques de recouvrement, les miroirs. La cire liquide durcit sur le miroir pour former une écaille qui est ramenée par les pattes postérieures vers les mandibules et triturée pour aller contribuer à la construction du rayon. La composition de la cire est particulièrement complexe, elle contient 92% à 95% de la cire pure, des hydrocarbures saturés, des esters, des acides, des alcools et des substances colorantes (Biri, 1986).

3.3.4. Abeille Butineuse

Le butinage est souvent la dernière activité avant la mort de l'abeille. Le pic d'activité se situe autour de 23 jours. Les butineuses effectuent une dizaine de voyages par jour en moyenne pendant quatre ou cinq jours, à la recherche de nectar, pollen, propolis et eau. Certaines tâches nécessitent une spécialisation physiologique ; c'est le cas pour le développement glandulaire qui est fortement lié à l'évolution des tâches. Les glandes hypopharyngiennes se développent lorsque les abeilles deviennent nourrices, se maintiennent lorsqu'elles sont butineuses (invertase), les glandes mandibulaires sont surtout développées chez les jeunes ouvrières (sécrétion de nourriture larvaire), les glande cirières sont au maximum chez les bâtisseuses. D'autres tâches, au contraire, peuvent être exécutées de la même manière par toutes les ouvrières (Wendling, 2012).

4. Cycle de vie de la colonie

Le cycle naturel d'une colonie est annuel et dépend fortement de la végétation disponible dans l'environnement. Il débute au printemps et on distingue quatre phases successives:

4.1. Phase de développement (au printemps)

Au cours de cette phase, la reine pond intensément (de 1 500 à 2 000 œufs par jour), suivie d'une relative stabilité de la population qui se poursuit jusqu'à l'automne, avec une ponte de plus en plus réduite (Chiron et Hattenberger, 2008).

.

4.2. Période d'essaimage

Elle correspond à un phénomène de reproduction asexuée. Vers la fin du printemps, alors que la population atteint son maximum, la reine quitte sa ruche avec une partie des ouvrières et va fonder plus loin une nouvelle colonie. Bientôt, une nouvelle reine éclot dans la colonie souche et remplace la reine âgée, partie avec l'essaim.

4.3. Phase de préparation à l'hivernage

Cette phase permettra le meilleur développement possible des colonies dès le printemps suivant. Pendant cette phase cruciale, la colonie produit les ouvrières qui passeront l'hiver. Ces individus vivront plus longtemps (plusieurs mois) que les butineuses d'été qui récoltent le miel et dont l'espérance de vie normale est de quelques semaines. Les ouvrières hivernantes ont également la tâche de redémarrer l'activité de la colonie au printemps. L'état de santé de ces individus hivernants est capital pour la bonne survie des colonies à la saison froide (Chiron et Hattenberger, 2008).

4.4. Phase hivernale

Au cours de laquelle la population, réduite à quelques milliers d'ouvrières regroupées autour de la reine, vit sur les réserves accumulées pendant la belle saison. Le peuplement et l'évolution de la population d'une ruche varient en fonction de nombreux paramètres.

Les abeilles sont sensibles à leur environnement, et leurs populations sont affaiblies par de nombreux facteurs. Actuellement les colonies d'abeilles domestiques subissent d'importantes pertes au niveau mondial (Pelletier, 2010).

Selon le même auteur, la santé des abeilles est liée à divers facteurs de nature différente (bactérienne, virale, parasitique, etc.), à la disponibilité de traitements appropriés, à la prolifération d'espèces envahissantes et aux altérations de l'environnement. Ainsi, l'utilisation des pesticides dans l'agriculture est parmi les principaux facteurs de risque. En outre, on parle souvent de synergies entre plusieurs facteurs, qu'il s'agisse d'un pesticide et d'un pathogène, ou encore la combinaison de plusieurs pesticides ayant des effets sub-létaux.

La **figure 4** résume les différents facteurs causant la mortalité des abeilles. On peut classer ces facteurs en quatre catégories principales, les agents biologiques, les agents chimiques, les facteurs environnementaux et les pratiques apicoles.

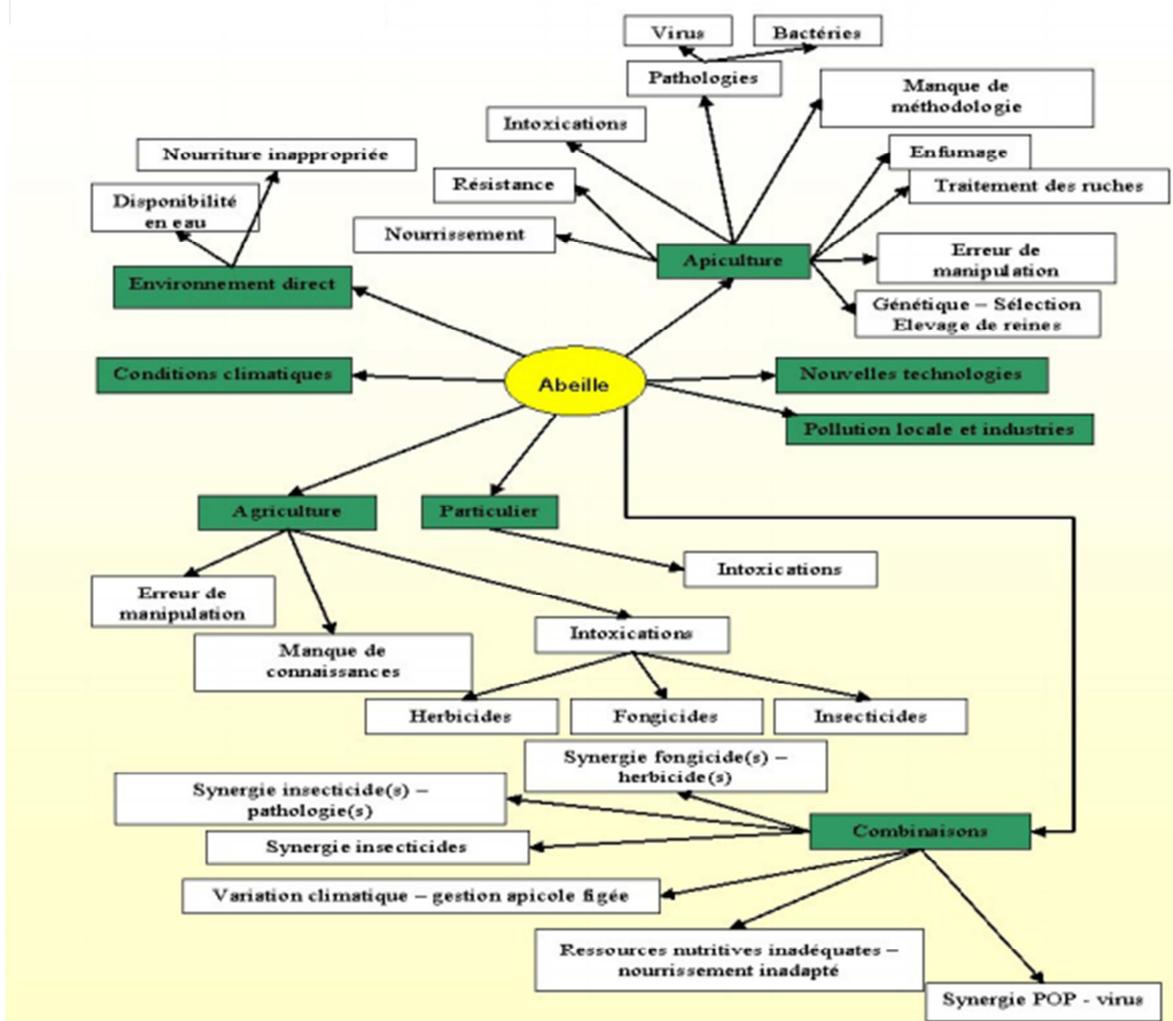


Figure 4 : Différentes causes de la mortalité des abeilles (Haubruge *et al.*, 2006)

1. Agents biologiques

L'abeille est associée à plusieurs centaines d'agents biologiques dans le monde, qu'ils soient des acariens, des virus ou autres bactéries.

1.1. *Varroa destructor*

De nombreux apiculteurs s'accordent à dire que le *varroa destructor*, un acarien ectoparasite invasif, représente une grave menace pour l'apiculture dans le monde. Il parasite non seulement les adultes mais aussi le couvain (**figure 5**) (Videl-Naquet, 2009).



Figure 5 : Vue dorsale de *Varroa destructor* (Videl-Naquet, 2009).

Le cycle de développement de ce parasite se déroule essentiellement dans le couvain et dure huit jours. Le *Varroa* est désormais parfaitement adapté au cycle d'*Apis mellifera*, ce qui permet une ponte optimale en fonction de la cellule infestée. Le développement de l'œuf se fait dans la cellule operculée, les larves se nourrissent de la nourriture apportée à la larve d'abeille, tandis que les femelles adultes se nourriront de l'hémolymphe de la larve d'abeille.

En plus d'affaiblir ses victimes, le *varroa* est également vecteur de maladies virales et de bactéries, notamment le virus du cachemire (KBV), le virus de la paralysie aiguë (ABPV), le virus de la paralysie lente (SBPV) ou encore le virus des ailes déformées (DWV). Certaines pertes de colonies d'abeilles domestiques en hiver ont été attribuées à une association du *varroa* et d'autres agents pathogènes, même si d'une manière générale, de multiples facteurs sont toujours en cause. En Allemagne, il a été établi que plusieurs éléments à savoir une infestation sévère par *varroa* et une infection par certains virus survenant lorsque la reine est âgée et que la colonie est déjà fragilisée à l'automne, avaient concouru aux pertes hivernales observées au niveau des colonies d'abeilles domestiques, et, s'il n'est pas traité, il entraîne

généralement la destruction de la colonie toute entière en trois ans (Genersch et *al.*, 2010). Pour lutter contre la varroase, les apiculteurs disposent de plusieurs moyens, mais ce sont surtout des acaricides.

1.2. *Nosema ceranae*

Autre que les acariens, les agents fongiques *N. apis* et *N. cerana*, autrefois classés comme protozoaires, sont responsables de la nosérose, une pathologie touchant les trois castes d'abeilles, causée par la prolifération des agents dans les cellules intestinales de l'insecte. Cette maladie est présente sur tout le globe, mais son impact est beaucoup plus important dans les pays tempérés, les hibernations longues étant un facteur de propagation important (Ray, 2012).

D'après le même auteur, la nosérose est une maladie relativement contagieuse, notamment à cause de la résistance des spores de *Nosema* en milieu extérieur : environ deux ans dans les excréments d'abeilles, quelques semaines dans les cadavres et plusieurs mois dans le miel. La contamination peut ainsi se faire de diverses manières, que ce soit en butinant une fleur ou un abreuvoir souillé par des déjections d'abeilles, par le pillage d'une colonie affaiblie, par l'échange de mâles, ou lors de manipulations apicoles. Les symptômes de nosérose sont nombreux, mais le premier symptôme est l'apparition de diarrhée.

Le principal risque est celui des co-infestations : en effet *Nosema* seul ne serait pas en mesure de déclencher une dysenterie généralisée. Dans les formes sévères de nosérose, pouvant provoquer l'effondrement et la disparition de la colonie, le champignon était associé à d'autres maladies, conduisant certains chercheurs à la classer comme maladie opportuniste. On considère qu'il faut donc des facteurs extérieurs affaiblissant ou désorganisant la colonie pour que la maladie puisse se développer, tel une période de long confinement (pluies abondantes, hiver long..), présence de pesticides ou d'autres pathologies (Ray, 2012). En cas d'évolution aiguë de la maladie les signes suivants peuvent apparaître :

- accumulation d'abeilles mortes à l'entrée de la ruche ;
- réduction de la durée de vie des abeilles ;
- mortalité précoce des butineuses ;
- augmentation de la mortalité hivernale.

1.3. Loque américaine

La loque américaine est une maladie infectieuse du couvain d'*Apis mellifera* et des autres espèces d'*Apis*, et est présente sur tous les continents. L'agent causal est une bactérie gram positive, *Paenibacillus larvae*, qui peut produire plus d'un milliard de spores par larve infectée. Cette infection très contagieuse aboutit souvent à la mort des colonies, et est donc classée en France comme maladie réputée contagieuse (MRC). Elle s'attaque principalement au couvain des colonies les spores ingérées par les larves arrivent au niveau de leur tube digestif puis germent dans l'intestin (Fluri et *al.*, 1998). Après destruction des tissus intestinaux la bactérie migre dans l'hémolymphe de la larve, où elle se multiplie, provoquant alors une septicémie et la mort de l'insecte (**figure 6**).



Figure 6 : Loque américaine (Anonyme, 2008).

L'infection par la loque américaine est cliniquement visible dans le couvain operculé et notamment les larves qui vont d'abord devenir jaunâtres, ramollies, visqueuses puis elles virent ensuite au brun foncé et meurent, avant de se décomposer en masse filante qui va dégager une forte odeur d'ammoniac, pour finalement sécher et se transformer en un amas d'écailles loqueuses qui vont adhérer à la paroi de la cellule (Ray, 2012).

1.4. Loque européenne

La loque européenne est une maladie du couvain (figure 7), comme la loque américaine, mais elle offre des caractères de gravité bien moindre, d'où son qualificatif de loque bénigne (à l'inverse de la loque américaine, qualifiée de maligne). Cette pathologie est causée par une association de plusieurs agents infectieux, l'agent principal étant *Melissococcus pluton* et les agents secondaires les plus fréquents étant *Paenibacillus alvei*, *Paenibacillus apiari*, *Lactobacillus eurydice* et *Enterococcus faecalis*.



Figure 7 : Loque européenne (Anonyme, 2008).

Ces agents secondaires ne peuvent à eux seuls déclencher la loque, mais ils vont être responsables des différents symptômes, notamment l'odeur et la consistance du couvain. Les larves sont généralement contaminées dans les 2 jours qui suivent l'éclosion, les bactéries se multipliant rapidement dans l'intestin moyen de la larve, entraînant un siphonnage de la nourriture ingérée. Ceci oblige la larve à manger plus, ce qui permet aux nourrices dans les colonies fortes de repérer les larves infectées et de les éliminer, retardant ou empêchant totalement le développement de la maladie (Ray, 2012).

De nouveaux virus et agents pathogènes sont également susceptibles d'exercer une pression accrue sur les colonies d'abeilles. La capacité de résistance des abeilles face à ces maladies et parasites semble être influencée par plusieurs facteurs, et en particulier par leur état nutritionnel et leur exposition aux produits chimiques toxiques. Certains pesticides, par exemple, semblent affaiblir les abeilles domestiques qui deviennent alors plus sensibles aux infections et aux infestations parasitaires (Tirado *et al.*, 2013).

2. Agents chimiques

De part leur activité de récolte, les abeilles sont amenées à couvrir de vastes distances pouvant aller jusqu'à 3 km de leur ruche pour butiner un champ riche en nectar. Ainsi, la surface d'action d'une ruche est potentiellement supérieure à 2500 ha, ce qui expose les abeilles à une forte probabilité de rencontrer des plants traités par des insecticides ou autres pesticides. La complexité de l'évaluation du risque occasionné par un agent chimique repose sur les différents types d'intoxications possibles : l'intoxication aiguë est la plus facilement quantifiable et ne pose guère de problème, mais il est beaucoup plus difficile de quantifier une intoxication chronique ou d'évaluer ses effets, sachant qu'elle peut toucher aussi bien les adultes exposés à l'agent en plein champs que le couvain par l'intermédiaire d'un pollen ou d'un miel contaminé ainsi que la reine, diminuant sa fertilité ou entraînant un comportement de supersédure (essaimage hors période normale d'essaimage) (Pelletier, 2010).

De plus le risque d'affaiblissement de la colonie, sans pour autant entraîner directement la mort des individus est réel, une exposition chronique favorise l'activation d'un virus latent ou l'invasion par un parasite.

D'après Person, (1984), la toxicité des pesticides sur les abeilles est basée sur la DL50 (dose individuelle de produit pour entraîner la mort d'un individu sur deux), selon les critères suivants :

- $DL50 > 100 \mu\text{g} / \text{abeille}$: produit inoffensif ;
- $11 \text{ mg} < DL50 < 100 \mu\text{g} / \text{abeille}$: produit légèrement toxique ;
- $2 \text{ mg} < DL50 < 10,99 \mu\text{g} / \text{abeille}$: produit modérément toxique ;
- $DL50 < 2 \mu\text{g} / \text{abeille}$: produit fortement toxique

3. Agents environnementaux

Les modifications climatiques peuvent altérer les colonies d'abeilles. Ainsi, des basses températures, des périodes de pluies ou de vents violents peuvent entraîner des confinements et avoir des influences directes néfastes sur le couvain mais aussi être des facteurs favorisant certaines pathologies ce qui induit à la mortalité des abeilles (Vidal-Naquet, 2011). Les monocultures et l'affaiblissement de la biodiversité peut entraîner des carences en acides aminés et avoir un effet négatif sur le développement du couvain et la santé de la colonie.

La perte de la biodiversité, l'accroissement de la monoculture, l'urbanisation croissante et l'usage massif des herbicides sont les facteurs qui appauvrissent l'environnement de l'abeille et affaiblissent les colonies. Ainsi, les variétés végétales cultivées ne sont pas sélectionnées sur la production de nectar ou la qualité de pollen, et ces facteurs jouent un rôle sur la force et la santé des colonies (Aubert, 2002). La diminution de la biodiversité, l'augmentation des surfaces des parcelles et la disparition des haies sont autant de causes de la baisse, à certaines périodes de l'année tout au moins, des ressources en nectar et pollen. Or on sait qu'une colonie qui manque de pollen devient plus sensible au développement de la loque européenne (Sandon, 2012).

4. Pratiques apicoles

Certaines pratiques apicoles jouent un rôle dans le phénomène d'affaiblissement de la colonie, pour cela les apiculteurs doivent veiller à ne pas effectuer de fausses manœuvres. Un manque d'ouvrières et donc de ressources nutritives entraîne un développement ralenti des colonies et une population insuffisante. En période hivernale, un nombre d'abeilles trop faible ne permet pas de maintenir la température nécessaire à la survie de la grappe d'abeilles. La perte de la reine, individu unique au sein de la ruche, peut entraîner la mort des colonies si sa

disparition survient durant la période hivernale, sans mâle, donc sans fécondation (Chiron et Hattenberger, 2008). L'importation de reines exotiques moins adaptées au biotique local, la prophylaxie insuffisante dans certains ruchers avec l'utilisation de traitement anti-varroa inefficace ou inadaptés.

Une autre cause avérée de mortalité correspond au manque de nourriture durant la période hivernale. En effet, après avoir récupéré le miel et donc la réserve d'hydrates de carbone stockée dans les hausses par l'apiculteur, il est indispensable qu'il apporte aux abeilles un substitut car un déficit en nourriture entraîne la mort de la colonie.

Ainsi, de nombreuses interactions entre les différents facteurs impliqués sont très difficiles à évaluer et rendent le problème très complexe. Tout ces facteurs peuvent causer des dépopulations sévères en saison et porter préjudice à la survie hivernale de la colonie si celle-ci n'a pas le temps de se reconstruire et d'accumuler des réserves. Les pesticides à des doses plus en moins fortes fragilisant les colonies qui se défendent moins bien contre les maladies ; à moins que ce ne soit les maladies qui entraînent une sensibilité accrue à certains insecticides (Faucon et Ribiere, 2003).

5. Syndrome d'effondrement des colonies d'abeilles

Le syndrome d'effondrement des colonies d'abeilles (Colony Collapsus Disorder ou le CCD) est un état caractérisé par une disparition soudaine et inexplicable d'une partie importante de la population des ouvrières d'une colonie d'abeille, pouvant aller jusqu'à 70 à 80% de la population totale de la ruche ; ainsi que par l'absence de cadavres dans ou à proximité de la ruche.

De plus la disparition des ouvrières, lorsqu'elle n'est pas fatale à la colonie, entraîne une baisse de la productivité importante, pouvant elle-même entraîner le déclin de la ruche à court terme. En effet, le CCD peut survenir à n'importe quel moment de l'année, excepté en hiver car la ruche hiverne, entraînant diverses complications: au printemps et au début de l'été le CCD aura une incidence directe sur les cultures vivrières, telles les pommiers, les amandiers ou les cerisiers, dont la pollinisation dépend à plus de 80% des hyménoptères pollinisateurs. Une disparition survenant à la fin de l'été ou à l'automne aura, quant à elle, une conséquence directe sur la survie hivernale de la ruche, celle-ci dépendant directement du stock de miel et de pollen que la colonie aura réussi à se constituer.

Ainsi, aux Etats-Unis les pertes durant l'hiver 2009-2010 représentent environ 34% du cheptel apicole. Ces pertes hivernales anormalement élevées se retrouvent dans un grand

nombre de pays, dont le Canada, la France, l'Espagne, l'Italie qui enregistrent tous des pertes comprises entre 20 et 35%. L'ANSES (Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail) considère un taux de mortalité hivernale normal est inférieur à 16% des colonies (Anonyme a, 2012). Ce syndrome de disparition des abeilles a réellement commencé à faire parler de lui au début des années 2000, lorsque la majorité des pays industrialisés ont enregistré des pertes d'abeilles importantes. Ainsi l'hiver 2003 à vu la disparition de plus de 50% des colonies d'abeilles au Canada, essentiellement dues à *Varroa destructor*, tandis qu'en octobre 2006 certains ruchers américains enregistraient des pertes variant de 30 à 90% de leur colonies, le pic ayant été atteint en 2007, avec la disparition de près de 60% des colonies américaines (Ray, 2012).

Les causes de disparition des abeilles sont pour l'instant inconnues, chaque pays attribuant la responsabilité à un agent différent:

- Les États-Unis privilégient les causes virales, notamment le virus israélien de la paralysie aigue (IAPV) et le virus de cachemire (KBV).
- Le Canada et la Belgique incriminent un ectoparasite, *Varroa destructor*.
- En Espagne les microsporidies *Nosema* sp., et notamment *Nosema apis* sont considérées comme étant les principaux responsables.
- En France l'hypothèse des pesticides et des synergies entre agents chimiques est la piste privilégiée par les professionnels.

Un consensus international s'est donc établi pour considérer le syndrome d'effondrement des colonies comme un phénomène épidémique ayant un caractère potentiellement infectieux et d'origine multifactorielle.

Les pesticides sont devenus un élément important de la technologie agricole et de la lutte contre les vecteurs de maladies, leur importance est directement reliée aux ravages causés par les déprédateurs. L'utilisation des pesticides est actuellement la façon la plus rapide et la moins chère de réduire les dégâts causés par les organismes nuisibles.

1. Définition des produits phytosanitaires

Les produits phytopharmaceutiques sont définis comme substance chimique, naturelle ou synthétisée, destinée à repousser, détruire ou combattre les ravageurs et les espèces indésirables (microbes, animaux ou végétaux), durant la production, le stockage ou la commercialisation de produits agricoles ou des denrées alimentaires. Ils servent également à combattre les différents vecteurs de maladies humaines ou animales (Ferragu *et al.*, 2010).

Pour désigner un produit phytosanitaire plusieurs expressions plus ou moins synonymes peuvent être employées: produits phytosanitaires, pesticides, produits antiparasitaires à usage agricole, produits pour lutter contre les ennemis des cultures, produits de protection des plantes, produits agrosanitaires, produits agropharmaceutiques. Les mots pesticide, insecticide, fongicide, sont tous construits à partir du même suffixe d'origine latine « cide » caedo ou caedere qui signifie tuer, et « pestis, qui désigne un animal nuisible, un fléau (Anonyme, 2013).

2. Marché des produits phytosanitaires

Le marché mondial représente environ 40 milliards de dollars et à peu stable depuis les années 2000. Les Etats-Unis sont le premier consommateur mondial de pesticides, suivie par l'Inde, la France, 1er consommateur en Europe, puis l'Allemagne. En Europe et en Amérique du Nord, les herbicides représentent 70 à 80% des produits utilisés (notamment à cause de la forte augmentation des cultures de maïs) tandis que sous les tropiques, 50% des produits appliqués sont des insecticides. La consommation mondiale de pesticide est en augmentation constante depuis les années 40, passant de 0,49 kg/ha en 1961 à 2 kg/ha en 2004. 20% de la surface totale des Etats-Unis, 35% de celle de la France, sont soumis à des traitements. Concernant, La consommation à l'hectare, on trouve en tête le Japon avec 12 kg/h, suivi par l'Europe, 3 kg, les Etats-Unis, 2,5 kg, puis l'Inde 0,5 kg/ha (Anonyme a, 2012).

Malgré les recommandations du Grenelle de l'environnement, La France, première puissance agricole européenne, est toujours en tête de liste de l'utilisation des produits

phytosanitaires en Europe. En 2012, elle est classée le premier consommateur européen et le quatrième au plan mondial, derrière les Etats-Unis, le Brésil et le Japon avec 700 tonnes de pesticides utilisées. 95% des pesticides répandus sont à usage agricole et à 5% non agricole. L'évolution de la consommation française de substances actives a diminué depuis la fin des années 90. Environ 120500 tonnes de substances actives étaient commercialisées en 1999, 77300 tonnes en 2007, alors qu'en 2012, 63700 tonnes. Certaines années, ce tonnage augmente à cause de conditions climatiques défavorables, propices aux maladies et à l'apparition de nouveaux insectes ravageurs (Anonyme, 2013).

3. Techniques d'application

En zone agricole, les traitements phytopharmaceutiques étant, pour la plupart, destinés à être appliqués uniquement sur les surfaces cultivées, l'exposition se limite, en théorie, aux individus présents aux moments de traitement. L'application de ces produits, s'effectue soit par pulvérisation, soit par traitement des semences.

La pulvérisation, est une technique classique d'application des produits phytosanitaires qui vise la partie aérienne des végétaux ; le liquide contenant l'insecticide est fractionné en gouttelettes par le pulvérisateur. L'agriculteur utilise, lors de l'application, des appareils portatifs pour les petites surfaces, des machines terrestres ou même aériennes pour les grandes surfaces (Fagot et Larratj, 2002). La pulvérisation conduit à une contamination des bordures des surfaces traitées, ces pertes aériennes sont à l'ordre de 40% des quantités administrée (Grosmand, 2008), et varient en fonction:

- des conditions météorologiques du moment (vitesse et direction du vent, courants atmosphériques etc.),
- de la nature de la culture traitée : la dispersion est plus grande sur les cultures basses et peu denses,
- de mode opératoire suivi : l'épandage aérien génère une dispersion beaucoup plus forte (jusqu'à 40 % de produit est déposé hors de la cible) que l'épandage terrestre,
- de type de pulvérisateur ou le nombre de passages influent également.

On sait qu'avec la pulvérisation, les insecticides se dispersent largement dans l'atmosphère, puisqu'à peine 5 % des doses répandues se déposent sur les végétaux qu'on veut traiter. La recherche agronomique s'est donc tournée vers une technique alternative consistant à traiter les semences avant leur enfouissement dans le sol. Ceci vise, d'abord, à

protéger les graines lors de la germination qui est une phase du développement où la plante est très fragile.

Dans l'absolu, la pratique d'enrobage ne présente que des avantages: elle allie efficacité, économie et respect de l'environnement naturel. En effet, avec l'enrobage, le gaspillage de produits actifs est insignifiant et les doses utilisées sont donc en quantité moindre. Par aspersion ou pulvérisation, le traitement conventionnel, en pleine surface, d'un hectare de terrain agricole met 10 000 m² de sol en contact avec le produit; l'enrobage des graines expose seulement 50 m² de terre aux molécules chimiques: c'est 200 fois moins (Grosmand, 2008).

4. Mode de contamination

Les insecticides prennent deux chemins principaux pour atteindre leur cible. Soit par contact dont ils peuvent traverser le tégument des mellifères lorsque ceux-ci se trouvent sous le jet d'un appareil de traitement (pulvérisation) ou lorsqu'ils marchent sur les résidus du produit déposé sur les végétaux (épandage). Ces résidus secs ou humides, générés lors du traitement ou par volatilisation à partir du feuillage ou du sol, contribuent, parfois significativement, au transfert de substances toxique à moyenne ou longue distance de l'endroit de traitement (Chiron et Hattenberger, 2008).

Les pesticides sont, également, transférés lors de la consommation du nectar ou le pollen contaminé au fond des corolles. Cette contamination est d'autant plus forte que l'insecticide peut avoir des propriétés endothérapeutiques, pénétrant ainsi facilement dans les vaisseaux conducteurs de sève. Les abeilles domestiques consomment également de l'eau ou du miellat de pucerons pollués.

Il existe un mode insidieux de contamination: le transport au nid, par les butineuses, des aliments pollués, nectar ou pollen, qui vont servir à nourrir, soit des congénères adultes, ce qui arrive régulièrement chez l'abeille domestique, soit des larves. Les molécules toxiques agissent généralement en désorganisant la conduction de l'influx nerveux; cependant une autre génération des produits, régulateurs de croissance, inhibent la synthèse de constituants du tégument et, de ce fait, ne perturbent que les larves (Tasei, 1996).

5. Classification des pesticides

On peut classer les pesticides selon leur cible visé en :

- Les insecticides sont toutes les substances qui tuent les insectes, empêchent l'éclosion des œufs, altèrent le développement normal des larves ou la maturation sexuelle. C'est le plus important groupe de pesticides;
- Fongicides : ils servent à combattre la prolifération des champignons pathogènes. Ils permettent de lutter contre les maladies cryptogamiques qui causent de graves dommages aux végétaux cultivés;
- Herbicides : Ce sont des substances destinées à éliminer les mauvaises herbes adventices des cultures. Ils ont des modes d'action peu diversifiées car ils agissent sur une ou plusieurs étapes de la photosynthèse;
- Les acaricides (contre les acariens);
- Les nématicides (toxiques pour les vers du groupe des nématodes);
- Les rodenticides (contre les rongeurs);
- Les molluscicides (contre les mollusques, limaces et escargots);
- Les corvicides et les corvifuges (contre les oiseaux ravageurs de cultures).

Il existe près de 100 familles chimiques de pesticides: organophosphorés, organochlorés, carbamates, pyréthrinoïdes, triazines. Il existe, aussi, près de 10000 formulations commerciales composées de la matière active et d'adjuvants et qui se présentent sous différentes formes (liquides, solides, granulés, poudres,..). La **figure 8** résume les différentes familles des insecticides.

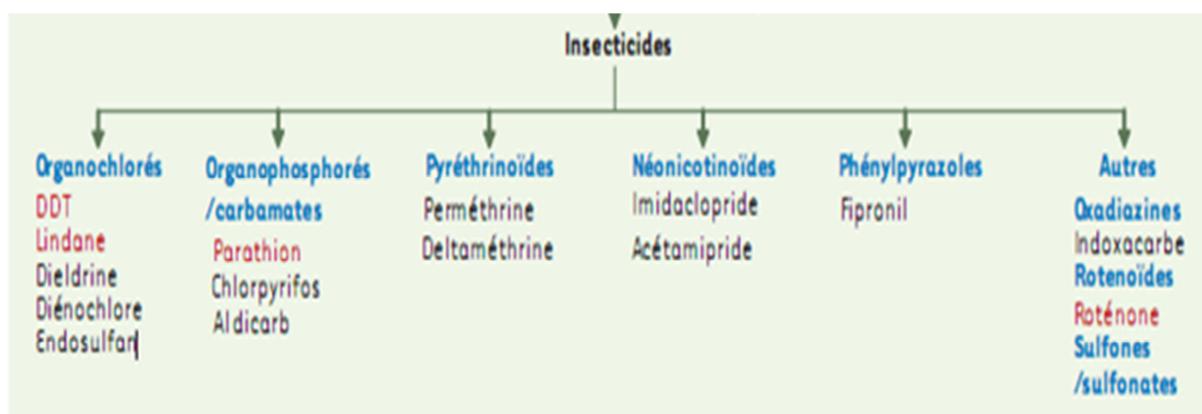


Figure 8: Différentes familles des insecticides (Thany et *al.*, 2013).

5.1. Les organochlorés et organophosphorés

Après la deuxième guerre mondiale, les problèmes d'intoxication se sont généralisés avec l'utilisation accrue des traitements phytopharmaceutiques et l'apparition des molécules d'insecticides synthétiques. Les composés organochlorés, qui sont les précurseurs des insecticides de synthèse, ont provoqué de nombreux cas d'intoxications aux Etats-Unis dans les années 50 (Johansen et Mayer, 1990). Les insecticides organophosphorés, tels que le penitrothion, le parathion, le méthyl parathion ou le malathion proviennent de la recherche sur les gaz de combat pendant la deuxième guerre mondiale. Ils ont été la cause d'importante mortalité d'abeilles et de dépeuplement de ruchers entre la années 50 et 80 en Amérique du Nord (Siebert, 1980). Parmi les organophosphorés, on trouve :

- **Diméthoate**

Le Diméthoate, ou 2-diméthoxy-phosphinothioylthio-N-méthylacétamide, est un composé organique de la famille des organophosphorés de formule $C_5H_{12}NO_3PS_2$. C'est un insecticide et acaricide à large spectre apparu en 1948 à action systémique. Cette substance agit en inhibant les activités de la cholinestérase, enzyme essentielle pour le bon fonctionnement du système nerveux des insectes mais aussi chez l'Homme. Le Diméthoate est efficace contre de nombreuses espèces d'insectes, en particulier les insectes suceurs-piqueurs tels que pucerons, les thrips, les cicadelles et les aleurodes ainsi que contre les mineuses (larves de diptères creusant des galeries dans les feuilles). On l'utilise aussi en pulvérisation sur les murs des bâtiments agricoles contre la mouche domestique. On l'a également administré au bétail pour lutter contre des diptères parasites (Oestridae). Le Diméthoate est très toxique, nocif et dangereux. Sa toxicité en laboratoire sur le rat est importante, la liposolubilité est nulle (impossibilité de bioaccumulation) et la solubilité dans l'eau très forte. Sa formule chimique est représentée par la **figure 9**.

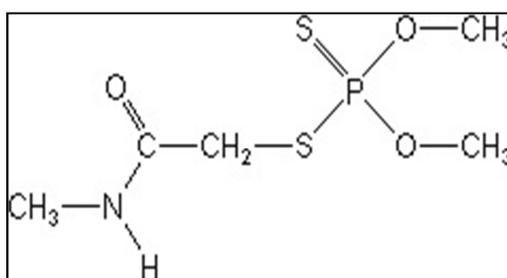


Figure 9 : Formule chimique de Diméthoate.

➤ Propriétés physico-chimiques de Diméthoate

La formule brute de Diméthoate est: $C_5H_{12}NO_3PS_2$, sa masse molaire est : 229,257 ± 0,016 g/mol C 26,19 %, H 5,28 %, N 6,11 %, O 20,94 %, P 13,51 %, S 27,97 %.

Sa température de fusion est de: 51 à 52 °C, celle d'ébullition est à 0,01 kPa: 117 °C (décomposition >60 °C). Sa solubilité dans l'eau à 21 °C est de 25 g·L⁻¹, il est également soluble dans le chloroforme, le chlorure de méthylène, le benzène, l'alcool, les esters et les cétones. Peu soluble dans le xylène, le tétrachlorure de carbone. Il apparaît sous forme de cristaux incolores (produit pur), d'odeur caractéristique.

5.2. Carbamates et pyréthrinoides de synthèse

Les carbamates correspondent à la troisième famille d'insecticides synthétiques qui furent développés vers les années 60. Ils agissent en inhibant l'acétylcholinestérase. Pour l'année 1967, on estime à 500 000 le nombre de colonies d'abeilles détruites aux Etats-Unis par les traitements phytosanitaires et principalement par un représentant des carbamates, le carbaryl (Louveau, 1985). Les recherches faites sur les extraits de fleurs de pyrèthres (pyréthrines naturelles), qui sont instables à la lumière, ont conduit au développement de pyréthrinoides de synthèse photostables.

Les pyréthrinoides de synthèse (qui perturbent l'ouverture des canaux sodium voltage-dépendants) sont très efficaces contre les insectes ravageurs, même à faibles doses. Ils sont peu rémanents et ont un puissant effet paralysant (effet knock down). Ces caractéristiques ont conduit à l'expansion de leur utilisation dans les années 70 et 80. Toutefois, les pyréthrinoides seraient en partie impliqués dans de nombreux cas d'affaiblissements de ruches. De plus, la synergie reconnue de certains insecticides pyréthrinoides et de fongicides imidazoles ou triazoles a provoqué la destruction de nombreuses ruches françaises à la suite de l'emploi simultané de ces composés.

• Lambda Cyhalothrine

La Lambda Cyhalothrine est un insecticide appartenant à la famille des pyréthrinoides. Elle a été évaluée par la DG SANCO (DG SANCO, 2001). L'évaluation est terminée et l'inclusion du Lambda Cyhalothrine à l'Annexe I de la Directive 91/414/CEE (C.E., 1991) a été adoptée au 01/01/2002.

La Lambda Cyhalothrine est un mélange d'isomères hautement actifs de la cyhalothrine. C'est un solide incolore à beige. Il est peu soluble dans l'eau et n'est pas volatil. Il a une certaine action répulsive sur les insectes³ ??..

➤ Présentation de la molécule

Lambda Cyhalothrine est une substance active insecticide de la famille des pyréthrinoïdes. C'est un dérivé fluoré de la pyréthrine (trifluorométhyl-pyréthrine). Le nom chimique: cyclopropanecarboxylate de 3-(2-chloro-3,3,3-trifluoro-1-propényl)-2,2-diméthyl-cyano (3-phénoxyphényl) méthyle.

➤ Propriétés chimiques

Sa formule brute : $C_{23}H_{19}ClF_3NO_3$, sa masse molaire : $449,85 \pm 0,023$ g/mol
C 61,41 %, H 4,26 %, Cl 7,88 %, F 12,67 %, N 3,11 %, O 10,67 %,

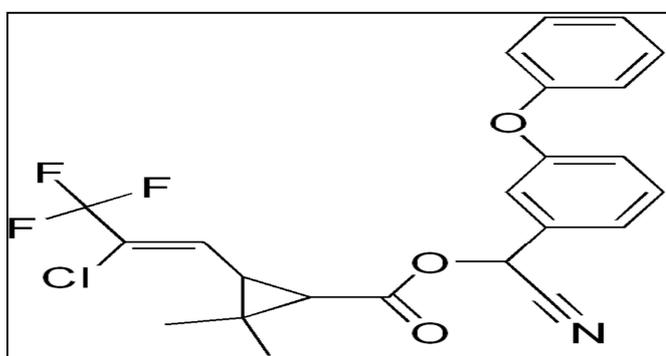


Figure 10 : Formule chimique de Lambda Cyhalothrine.

➤ Action de Lambda Cyhalothrine

Cette substance active agit sur le système nerveux dont elle perturbe le fonctionnement normal. Elle provoque la paralysie et la mort des insectes en bloquant la transmission de l'influx nerveux par action sur le canal ionique sodium. Parmi les produits à base de lambda-cyhalothrine on trouve: Demand, Karaté, Warrior...etc.

5.3. Nouvelles molécules insecticides

La prédominance et l'intensité de l'utilisation des organochlorés, des organophosphorés, des carbamates et des pyréthrinoïdes dans l'agriculture mondiale a engendré des phénomènes de résistance envers ces familles d'insecticides chez les insectes ravageurs. Il a donc été nécessaire de développer de nouvelles molécules insecticides ayant un mode d'action pharmacologique différent de celui des anciennes molécules. A partir des années 80, on a alors synthétisé de nouvelles molécules ayant une action au stade larvaire, tels que les analogues de méthoprène, diflubenzuron, ou une action sur les récepteurs nicotiniques

de l'acétylcholine, tels que les néonicotinoïdes, dont l'imidaclopride est le premier représentant (Dechaume-Moncharmont, 2003).

Les insecticides synthétiques sont utilisés à très grande échelle. Ils représentent une véritable révolution des façons de faire en matière de phytoprotection. Leur matière active appartient à une toute nouvelle classe de molécules qui agissent sur le système nerveux des insectes. Contrairement à d'autres pesticides qui restent sur la surface du feuillage traité, les pesticides systémiques sont repris par la plante et transportés dans tous les tissus (feuilles, fleurs, racines et tiges, ainsi que dans le pollen et le nectar), ceci est rendu possible par leur caractère hydrosoluble. Ils sont généralement appliqués au moment de la mise en terre. Pour les cultures telles que le maïs, le soya et le canola, les semences sont même pré-enrobées avec une substance contenant la matière active (Anonyme b, 2012).

En conséquence de leur usage largement répandu, ces substances sont trouvées dans tous les compartiments de l'environnement : sol, eau et air. La persistance dans les sols, les cours d'eau et les plantes non-cibles, est variable mais peut être longue ; par exemple, la demi-vie des néonicotinoïdes dans les sols peut dépasser 1000 jours et ils peuvent persister dans les plantes ligneuses pour des périodes supérieures à un an.

6. Plantes transgène (OGM)

Un autre facteur de variation potentiel de l'attractivité des plantes cultivées sur les insectes lié à l'homme est l'utilisation de plantes génétiquement modifiées. On en distingue plusieurs types: les plantes insectes-résistantes, herbicides-résistantes, champignons-résistantes ou bien mixtes. Chaque transgène est spécifique à une cible donnée (sur le génome) et donc à une fonction cible. De ce transgène intégré au génome de la plante s'en suit l'expression d'une protéine entraînant les modifications cellulaires donnant la propriété nouvelle souhaitée. En effet, de nombreux gènes codant pour les protéines insecticides existent dans la nature et peut être exprimé dans les plantes transgéniques. Les types de gènes les plus répandus sont ceux qui codent pour les endotoxines de *Bacillus thuringiensis* (Bt) qui est, un véritable réservoir d'insecticides. Les plantes Bt sont modifiées pour produire des toxines insecticides et les abeilles pourraient être affectées par cette nouvelle source de protéines qu'elles récoltent et rapportent à la ruche (Ceballos, 2008).

Les gènes les plus utilisés codent pour des protéines possédant des propriétés anti-nutritionnelles, les inhibiteurs de protéases (IP). Ces derniers bloquent l'activité des protéases digestives en prenant la place du substrat sur le site actif, ce qui provoque un retard de

développement ou la mort du ravageur. Ainsi, des abeilles qui butineraient des plantes transgéniques exprimant des inhibiteurs de protéase pourraient être intoxiquées et tuées. Des essais de toxicité au laboratoire ont montré que des inhibiteurs altéraient la survie, la physiologie digestive et les capacités d'apprentissage des abeilles (Pham-Delègue *et al.*, 2000).

7. Effets des insecticides sur les abeilles

L'abeille est très sensible à la pollution, elle y est aussi très exposée. Par son activité de butinage, elle est mise en contact intime avec tous les éléments de son environnement, l'eau, l'air et la terre. L'abeille butineuse recueille aussi dans l'environnement une quantité impressionnante d'eau, cette eau expose, d'une façon indirecte, la colonie à la pollution créée par les pesticides. Indépendamment du nectar, l'abeille trouve dans les fleurs du pollen qui est, aussi, très exposé à la pollution.

L'abeille peut être exposée aux insecticides par contact direct accidentel lors de l'application de ceux-ci par pulvérisation. Elle peut aussi être exposée à la dérive aérienne des substances qui survient souvent lors des applications. Elle peut de plus être exposée par contact indirect alors qu'elle butine sur des fleurs sur lesquelles le produit insecticide s'est déposé, soit à dessein, soit accidentellement à cause de la dérive. Le plus souvent, ce type d'exposition provoque la mort de l'abeille par intoxication aiguë. Les abeilles peuvent ne jamais revenir à la ruche et mourir au champ. Parfois, elles reviennent mais les cadavres d'abeilles mortes s'empilent très vite sur le sol à l'entrée de la ruche (Anonyme a, 2012). Il est évident que les effets des intoxications des mellifères seront, en fonction de la matière active, tantôt immédiats, tantôt différés. S'il y a effet immédiat, les conséquences sont visibles après quelques heures et durant 2 à 4 jours, aboutissant parfois à l'extinction totale de la population.

Dans le cas des insecticides régulateurs de croissance, les effets peuvent être lents à apparaître: par exemple la mortalité larvaire maximale, dans un rucher butinant un verger traité au phénoxy-carbe, n'était enregistrée qu'au 17^e jour. Cette matière active, inoffensive pour les adultes, était transmise par les ouvrières nourrices récoltant nectar et pollen contaminés aux larves qui n'ont pas pu arriver au terme de leur développement de 3 semaines. L'effet néfaste d'une substance toxique ne dépend pas que de sa nature chimique (toxicité, rémanence), il dépend également de facteurs externes liés aux conditions d'utilisation par le cultivateur (situation météorologique, température extérieure, vent, attractivité des végétaux traités,...) (Gerster, 2012).

Les pesticides peuvent avoir d'autres effets négatifs, effet sur le pollen stocké dans la ruche. L'abeille a une façon bien particulière de conserver ses récoltes de pollen à long terme: elle le fait fermenter dans les alvéoles en présence de miel. Cette fermentation est bénéfique, car en plus de garantir sa conservation, elle augmente la valeur nutritive du pollen. Cependant, la présence des pesticides dans le pollen récolté par les abeilles peut interférer avec le processus de fermentation nécessaire à sa conservation dans la ruche et, de façon imprévue, causer ainsi la détérioration ou la perte des réserves protéiques de la colonie (Anonyme a, 2012).

Des études ont démontré que les abeilles élevées dans des alvéoles de cire contaminée (herbicides, fongicides, insecticides et acaricides) avaient une longévité moindre. On s'est aussi aperçu que ces abeilles avaient des périodes de développement (stades larvaire et nymphal) plus longues, ce qui favorise ainsi la multiplication plus rapide des varroas (parasites externes) qui se multiplient à l'intérieur du couvain.

7.1. Effets létaux

Une intoxication aiguë peut se traduire par une mortalité anormale, intense et brutale : typiquement l'apiculteur constate un grand nombre d'abeilles mortes ou mourantes, à terre, à proximité de la ruche. Les cadavres peuvent s'accumuler à l'intérieur de la ruche. Dans les cas d'intoxications aux organophosphorés les abeilles meurent avec le proboscis étendu, la masse de cadavres est alors humide et collante car les ouvrières ont régurgité le nectar contenu dans leurs jabots. Si l'action du produit est foudroyante les butineuses meurent au champ, le dépeuplement est brutal sans mortalité visible à proximité de la ruche. Une baisse dans la fréquence des entrées et sorties de la ruche peut être observée.

Dans les cas chroniques, la baisse de population des ouvrières (dépopulation de la ruche) fait que le couvain est peu à peu abandonné, la colonie n'est plus correctement protégée des agressions extérieures. Si la colonie n'a pas assez de temps pour reconstituer une population et des réserves suffisantes elle ne survivra pas à l'hiver (Bourg, 2006).

7.2. Effets sublétaux

Les insecticides peuvent provoquer des perturbations comportementales ou physiologiques chez les abeilles. Ces perturbations peuvent entraîner un non retour à la ruche des butineuses (la colonie perd alors une catégorie d'ouvrières expérimentées essentielle à sa survie), ou de la reine lors de son vol nuptial (ruches orphelines). Par exemple les carbamates et les pyréthrinoïdes provoquent un découplage des muscles du vol de l'abeille. Certains organophosphorés empêchent les abeilles de communiquer l'emplacement de la source de nourriture aux autres ouvrières (INRA, 1992).

Les poussières d'insecticide résultant des opérations de semis de semences traitées aux néonicotinoïdes ont des effets chroniques sur les abeilles exposées à cette poussière (Tomé et *al.*, 2012) tel que :

- Perturbation du système enzymatique (impacts sur le fonctionnement de l'abeille) ;
- Impacts sur la capacité de l'abeille à s'orienter (certaines abeilles ne reviennent pas à la ruche) ;
- Impacts sur la mémoire olfactive de l'abeille ce qui compromet, entre autres, sa capacité à trouver ou retrouver efficacement les sources de nourriture;
- Affaiblissement du système immunitaire, rendant l'abeille plus vulnérable aux virus, bactéries, champignons pathogènes;
- Réduction de la capacité de l'abeille à percevoir les phéromones. Ce problème peut perturber de toutes sortes de façons le fonctionnement de la colonie qui est contrôlée par les phéromones, de la même façon que les hormones contrôlent les fonctions du corps humain. Ceci pourrait expliquer l'incidence plus élevée de problèmes liés à l'acceptation et à la performance des reines constatés par les apiculteurs;
- Réduction des fonctions cognitives (capacités d'apprentissage) ;
- Perturbation dans le développement du couvain (période de développement prolongée et réduction du nombre de larves viables.

Selon le même auteur, l'exposition aux insecticides à des doses sublétales peut conduire à des défauts dans le comportement des insectes. Différents comportements peuvent être altérés comme la mobilité, la recherche de nourriture ou d'hôtes mais aussi le comportement alimentaire.

L'exposition aux insecticides peut provoquer une diminution de la mobilité chez différents insectes. Par exemple, chez *Melipona quadrifasciata* (abeille originaire du Mexique), ainsi que l'exposition des larves à des doses sublétales d'imidaclopride (0,0056 à 0,112µg/abeille) provoque une diminution de l'activité locomotrice des adultes âgés de quatre jours ou plus.

Des abeilles ont été exposées à des doses sublétales d'imidaclopride pendant leur développement (0,04ng/larve). Cette exposition n'affecte pas le développement des larves mais les adultes présentent des défauts dans le comportement associé à l'olfaction. Ce défaut de comportement suggère une diminution de la mémorisation et de l'apprentissage des adultes qui ne seraient plus capables de localiser la nourriture et la direction de la ruche entraînant une réduction importante du nombre d'individus de la colonie (Yang et *al.*, 2012).

L'étude Gill et *al.*, (2012), a montré que l'exposition des butineuses à l'imidaclopride (néonicotinoïde) provoque une diminution de l'efficacité du butinage. En effet, les butineuses sont absentes de la ruche pendant une période plus longue et rapportent une quantité moindre de pollen par rapport aux butineuses non exposées. Ainsi, la quantité de nourriture n'est plus suffisante pour la colonie et plusieurs travailleuses sont amenées à sortir de la ruche pour rechercher de la nourriture. Il y a donc moins de travailleuses présentes dans la ruche pour l'entretenir et pour nourrir les larves ce qui affecterait le développement et entraînerait une diminution du nombre de naissance.

Les insecticides pyréthrinoïdes, font partie des plus toxiques pour les insectes, car ils peuvent affecter, à faibles doses, l'abeille en altérant son sens de l'orientation et sa capacité à retrouver la ruche. Ils altèrent aussi ses fonctions vitales, en l'empêchant de produire la chaleur nécessaire pour maintenir sa température corporelle (35-37°C), température nécessaire à l'élevage du couvain. Le **tableau 2** donne un aperçu sur les effets des pesticides sur les comportements des abeilles.

Tableau 2: Effets des insecticides sur le comportement des abeilles.

Effets sub-létaux	Matières actives	Dose	Références	
Effets sur la capacité d'orientation				
Changements de repère	Deltaméthrine	0,25ng/ab	Vandame <i>et al.</i> , 1994	
Les abeilles recrutées ont des informations erronées lors de l'interprétation de la danse de l'abeille traitées	Parathion	0,015ng/ab	Stephen & Schriker, 1970	
Pas de changement de comportement de butinage évident		0,03ng/ab	Schriker & Stephen, 1970	
Effet sur la mémoire de temps entraînant un avancement de temps de visites de la source de nourriture		Très faible (inf. à 0,03 gammas)		Schriker, 1974b
Fausse interprétation des informations acquises lors de la danse frétilante				Schriker, 1974a
Rétablissement de la danse après quelques heures				
Diminution de la durée de récolte de la nourriture, augmentation du temps de toilettage, de la durée de danse frétilante et des rotations	Permethrine	0,009µg/ab	Cox & Wilson, 1984	
Perte de la capacité de vol et de la plupart des activités, comme la cessation de la collecte de pollen	Orthene®: acephane Sevin®: carbaryl		Johnansen, 1984	
Pas d'effet sur les abeilles	Dimilin®: Diflubenzuron			
Effets sur la capacité d'apprentissage				
- Réduction de la capacité d'apprentissage associatif, mais induction d'une sensibilisation à l'odeur - Pas d'effet sur la capacité d'apprentissage si conditionnement discriminatif	Dicofol	10µg/ab	Stone <i>et al.</i> , 1997	
Difficulté dans la perception et/ou dans la réponse à l'odeur de thym si exposition avant le conditionnement	Permethrine	0,015mg/20 ab	Mamood & Waller, 1990	
Effets sur la capacité à mémoriser par association mais pas d'effet sur la capacité à utiliser la mémoire olfactif, si exposition entre le conditionnement et le test				
Rétablissement de la capacité d'apprentissage 4 jours après le traitement				
Inhibition de l'acquisition, et l'extinction très accélérée	Endosulfan		Abramson <i>et al.</i> , 1999	
Faible réduction de l'acquisition, mais l'extinction accélérée	Décis® : Deltaméthrine			
Diminution des performances d'apprentissage olfactif, diminution de la sensibilité antennaire	Endosulfan	0,13 ; 0,25 ; 1,30ng/ab	Decourtye <i>et al.</i> , 2000	
Diminution de la discrimination olfactive au niveau de source de butinage	Amidaclopride	0,05 ; 0,1 ; 0,50ng/ab		
Effet sur les réponses au conditionnement olfactif (classement d'effets par ordre croissant : fluvalinate : peu d'effets par rapport à flucythrinate)	Fluvalinate > Cyperméthrine, Permethrine, Fenvalérate > Cyfluthrine	CL50	Taylor <i>et al.</i> , 1987	

Source : Rafalimanana, 2003.

1. Objectif

L'objectif de notre expérimentation est la détermination de la dose létale qui tue 50% des effectifs (DL50) de deux insecticides le Diméthoate et la Lambda Cyhalotrine chez l'abeille domestique *Apis mellifera intermissa*.

Notre expérience a été réalisée au laboratoire G01 au niveau de département d'agronomie avec des abeilles provenant du rucher de la faculté des sciences biologiques et des sciences agronomiques de l'université de Tizi-Ouzou (UMMTO) sur une durée qui s'étale du 6/6/2016 au 4/7/2016.

2. Matériel et méthodes

Le matériel utilisé lors de nos essais est classé en trois catégories le matériel biologique, le matériel de l'exploitation et le matériel de laboratoire.

2.1. Matériel biologique

Les expériences sont réalisées avec des abeilles butineuses de la race *Apis mellifera intermissa*. La colonie présente un état général satisfaisant et une absence de symptômes pathologiques visibles.

2.3. Matériel de l'exploitation

Durant notre expérimentation, nous avons utilisé un matériel qui est composé essentiellement de (figures 11, 12):

- La combinaison, les gants ;
- L'enfumeur, la brosse à abeilles ;
- Le lève-cadre ;



Figure 11 : Enfumeur et brosse à abeilles (photo originale, 2016).



Figure 12 : Lève-cadre (photo originale, 2016).

3.3. Matériel de laboratoire

Au niveau de laboratoire, nous avons utilisé des cagettes Pain (figure 13), de l'étuve (figure 14) afin d'assurer aux abeilles les meilleurs conditions d'ambiance ; des seringues micropipette (figure15) et flacons opaques (figure16) pour effectuer les différentes dilutions.

- Les cagettes Pain

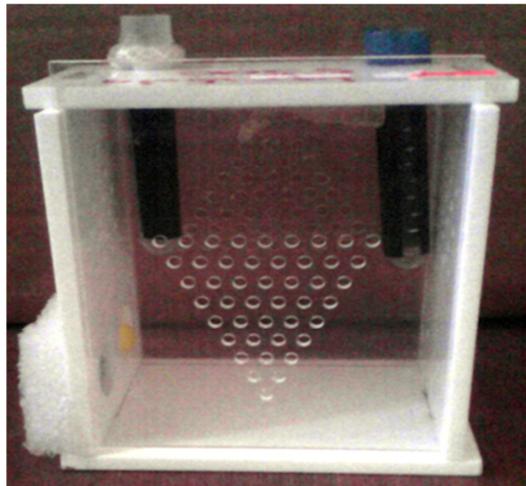


Figure 13: Cagette pain (photo originale, 2016)

- Etuve



Figure 14: Etuve (photo originale, 2016).

- Micropipette et Seringues

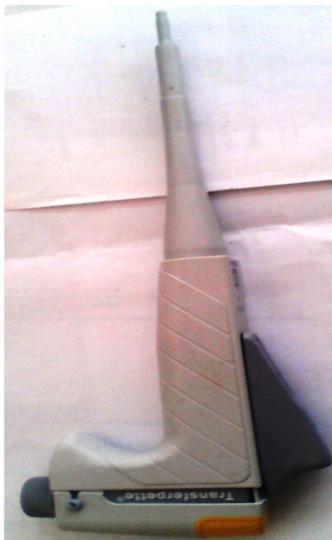


Figure 15: Micropipette et seringues (photo originale, 2016).

- Flacons opaques



Figure 16 : Flacons opaques (photo originale, 2016).

Afin de nourrir les abeilles, nous avons préparé une solution de saccharose (volume/volume) et des différentes dilutions des deux insecticides Diméthoate 40 vallés 400g/l (figure 17) et Karate 2,5 EC (figure 18)

- **Le Diméthoate 40 vallés 400g/l**

Un insecticide acaricide systémique agissant par contact ou par ingestion sur un grand nombre des ravageurs. Il renferme la molécule de diméthoate, il est formulé par la société Espagnole.



Figure 17: Diméthoate 40 vallés (photo originale, 2016)

- **Karate 2,5 EC**

Un insecticide acaricide systémique agissant par contact ou par ingestion sur un grand nombre des ravageurs. Il renferme la molécule de Lambda cyhalotrine, il est formulé par la société Syngenta.



Figure 18 : Karate 2,5 EC (photo originale, 2016).

4. Méthode

Afin de réaliser notre expérimentation, nous avons effectué des manipulations sur terrain pour récolter des butineuses et des manipulations au laboratoire qui consistent à la préparation des solutions avec les insecticides à tester, le nourrissage des abeilles ainsi que la récolte des données.

4.1. Période pré-expérimentale

Des travaux ont été réalisés avant le début de l'expérimentation afin de préparer la colonie d'abeilles pour un bon déroulement des expériences.

Au début du mois de novembre, un traitement anti-varroa, traitement prophylactique, a été effectué pour les colonies à base de Bayvardol (matière active Flumethrine 3,6 mg) à raison de deux lanières par colonie, huit semaines plus tard, nous avons retiré les lanières.

Ainsi, un nourrissage massif a été effectué pour les colonies afin de constituer les réserves pour l'hiver, la concentration de sirop est de 1,5 kg de sucre pour 1 litre d'eau. En plus un nourrissage stimulant a été distribué avec une fréquence d'une fois par semaine à partir du mois Février à une concentration de 1 kg de sucre pour 1 litre d'eau.

4.2. Période expérimentale

Les différentes opérations réalisées durant cette période sont comme suit :

4.2.1. Préparations des doses des insecticides

Nous avons préparé les différentes doses au niveau du laboratoire du département d'Agronomie de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.

- **Diméthoate 40 Vallés (liquide)**

Au préalable, nous avons préparé une solution mère. La concentration du sirop en cet insecticide est de 22,5 ml/500 ml de sirop, ce qui correspond à 18 g de Diméthoate dans un litre de sirop. A partir de cette solution mère, nous avons effectué les différentes dilutions pour avoir les 10 doses testées qui sont représentés dans le tableau qui suit. Les solutions sont mélangées dans un *erlen meyer* afin de bien les homogénéiser. Elles sont, ensuite, stockées à 4°C.

Tableau 3: Doses de Diméthoate testées

Test	Dosages	Dosage de la molécule active (Démithoate)
D1	1µl de démithoate vallés 40 /100 µl de sirop	4 mg /100 µl de sirop
D2	1µl de démithoate vallés 40 /1000 µl de siro	4 mg /1000 µl de sirop
D3	1µl de démithoate vallés 40 /4000 µl de sirop	4 mg /4000 µl de sirop
D4	1µl de démithoate vallés 40 /5000µl de sirop	4 mg /5000 µl de sirop
D5	1µl de démithoate vallés 40 /6000 µl de sirop	4 mg /6000 µl de sirop
D6	1µl de démithoate vallés 40 /7000 µl de sirop	4 mg /7000 µl de sirop
D7	1µl de démithoate vallés 40 /9000 µl de sirop	4 mg /9000 µl de sirop
D8	1µl de démithoate vallés 40 /9500 µl de sirop	4 mg /9500 µl de sirop
D9	1µl de démithoate vallés 40 /10000 µl de sirop	4 mg /1000 µl de sirop
D10	1µl de démithoate vallés 40 /12000 µl de sirop	4 mg /12000 µl de sirop

- **Karate 2,5 EC**

Nous avons préparé une solution mère, qui renferme 760µl de l'insecticide Karate dans 500 ml du sirop, une concentration de 38×10^{-3} g de la molécule active de Lambda cyhalortine dans un litre de sirop. A partir de cette solution mère, nous avons effectué une dizaine de doses que nous avons représentées dans le tableau 4.

Tableau 4: Doses de Lambda cyhalotrine utilisées

Test	Dosages	Dosage de la molécule active (Lambda cyhalotrine)
D1	1µl de Karate /10 µl de sirop	25µg /10 µl de sirop
D2	1µl de Karate /100 µl de siro	25µg /100 µl de sirop
D3	1µl de Karate /1000 µl de sirop	25µg /100 µl de sirop
D4	1µl de Karate /4000µl de sirop	25µg /4000 µl de sirop
D5	1µl de Karate /5000 µl de sirop	25µg /5000 µl de sirop
D6	1µl de Karate /5500 µl de sirop	25µg /5500 µl de sirop
D7	1µl de Karate /8000 µl de sirop	25µg /8000 µl de sirop
D8	1µl de Karate /9000 µl de sirop	25µg /9000 µl de sirop

4.2.2. Expérimentation

Des abeilles butineuses sont récoltées la matinée de chaque essai, après avoir bouché le trou de vol. Elles sont mises dans des cagettes Pain à raison de 20 abeilles par cagette, chaque dose testée est répétée 3 fois (3cagettes d'abeilles butineuses).

Les abeilles sont soumises à une brève congélation (7 à 10 minutes), l'anesthésie permet d'immobiliser les abeilles afin de pouvoir les compter.

Pour favoriser le phénomène de trophallaxie (échange de nourriture) et pour induire un même niveau d'appétit, les abeilles sont mises à un jeûne pendant 2 heures dans une étuve ($30^{\circ}\text{C} \pm 2$), 60 % d'humidité relative et à l'obscurité. Le taux d'humidité est assuré par la présence de bacs d'eau placés dans l'étuve.

Ensuite, les abeilles sont nourries d'une façon collective avec du sirop contaminé ou non (témoin) à raison de 10 μl /abeille. Lorsque les abeilles ont terminé l'ingestion de leurs solutions, elles sont alimentées ad libitum avec du sirop non contaminé.

4.2.3. Contrôle de la mortalité

La mortalité est contrôlée après 1 heure, 2 heures, 24 heures et 48 heures. Toutes les abeilles parfaitement immobiles, à un moment défini, sont considérées comme mortes. Les taux de mortalité des abeilles témoins et traitées sont calculés par la formule suivante:

$$\text{Taux de mortalité \%} = \frac{\text{nombre d'abeilles mortes}}{\text{nombre total d'individus}} \times 100$$

La mortalité obtenue est corrigée par la formule d'ABBOT.

$$M_c = \frac{M_2 - M_1}{100 - M_1} \times 100$$

M_c : Pourcentage de mortalité corrigée

M_2 : Pourcentage de mortalité dans le lot traité

M_1 : Pourcentage de mortalité dans le lot témoins

Résultats

Les deux insecticides Diméthoate et Lambda Cyhalothrine agissent sur les abeilles. Nous avons recherché des effets létaux de ces pesticides sur les abeilles qui ont été contaminées soit par inhalation soit par administration orale. Durant notre étude, Nous avons déduit la DL40 pour le Diméthoate et la DL50 pour Lambda Cyhalothrine, ainsi nous avons pu remarquer quelques symptômes, sur les abeilles, qui touchent surtout leurs comportements locomoteurs.

1. Symptômes induits par la toxicité des insecticides Diméthoate et Lambda Cyhalothrine

Pour l'étude de la toxicité orale, les abeilles ingèrent en moyenne 10 μ l de Diméthoate ou de Lambda Cyhalothrine. La mortalité des abeilles est suivie pendant 1, 2, 24 et 48 heures. Les symptômes observés chez *Apis mellifera* autres que la mortalité, lors de l'intoxication orale par ces insecticides ressemblent à ceux notés avec d'autres substances neurotoxiques.

Ces symptômes se manifestent par une activité générale accrue, avec des mouvements désordonnés, des tremblements et des convulsions, puis un comportement apathique. En revanche, l'apparition des premières mortalités n'est observée que deux heures après l'ingestion du toxique.

Suchail *et al.* (2003) ont observé, 20 minutes après l'intoxication des abeilles par l'imidaclopride et ces métabolites, l'apparition rapide des symptômes de neurotoxicité donc hyperactivité, mouvements désordonnés et tremblement, puis elles deviennent apathiques. De même, Lambin *et al.* (2001) ont démontré que les abeilles qui ont reçu une dose d'imidaclopride supérieure à 5 ng/abeille présentent une altération de l'activité locomotrice et de la sensibilité au sucre.

Ainsi, l'étude de Rafalimanana (2003) a montré que les pesticides neurotoxiques agissent sur des processus clés utilisés par les ouvrières lors de la recherche de nourriture: la communication de la direction et de la distance de la source de nourriture par les danses, la navigation par rapport à la lumière polarisée, l'horloge interne de l'insecte, et la capacité à mémoriser les informations. Selon la même source, certains individus survivants, après exposition au chlorpyrifos éthyl, présentent une modification de posture. Ils gardent souvent leur abdomen replié vers l'avant, en posture de ponte.

2. Toxicité

Les résultats de toxicité aiguë par ingestion et inhalation, obtenus lors du dénombrement des abeilles après traitement à base de Diméthoate et Lambda Cyhalothrine, sont représentés dans les tableaux 3 et 4 respectivement.

Tableau 3 : Toxicité de Diméthoate vis-à-vis des lots d'abeilles *Apis mellifera intermissa*

Doses	Mortalité (%)					Mortalité corrigée
	1h	2h	24h	48h	Cumulus	
D1=1/100	100	/	/	/	100	100
D2=1/1000	100	/	/	/	100	100
D3=1/4000	3,33	/	96,67	/	100	100
D4=1/5000	0	/	100	/	100	100
D5=1/6000	0	5	95	/	100	100
D6=1/7000	2,43	0,07	87,82	/	90,32	89,95
D7=1/9000	10	4,03	74,85	/	88,88	88,45
D8=1/9500	0	0	32,25	/	32,25	29,66
D9=1/10000	0	0	9,09	33,33	42,42	40,22
D10=1/12000	0,99	0,99	1,98	/	3,96	0,3
Témoin	0,92	0	2,75	3,67	/	/

De ce tableau nous pouvons tirer quelques renseignements :

Pour le témoin un taux de mortalité de 3,67% a été enregistré pendant 48h.

Au bout de la première heure de traitement, les doses D1 et D2 ont donné les taux de mortalité les plus importants (100%).

Après la dilution de l'insecticide D3, D4 et D5, le taux de mortalité corrigée 100% a été enregistré 24h après le traitement.

Pour les doses D6 et D7, il convient de remarquer que la mortalité avant 2h est inférieure à 10%, alors qu'après 24h les pourcentages observés sont respectivement 87,82% et 74,85%.

Concernant les doses D8 et D9, les mortalités au bout de deux heures est nulle (0%). Après 24h, La D8 enregistre un taux de mortalité corrigé de 29,66% qui correspond à la DL30 (24h), alors que la D9 n'a enregistré que 9,09% puis augmente pour atteindre un taux de 40,22% en 48h de traitement ce qui correspond à la DL40.

Le taux de mortalité corrigée pour la dose D10 est environ de 0% après de 72h de traitement c'est alors une dose sublétales.

Tableau 4 : Toxicité de Lambda Cyhalothrine vis-à-vis des lots d'abeille *Apis mellifera*

Doses	Mortalité (%)				Mortalité corrigée
	1h	2h	24h	Cumulus	
D1=1/10	100	/	/	100	100
D2=1/100	100	/	/	100	100
D3=1/1000	/	100	/	100	100
D4=1/4000	10	/	90	100	100
D5=1/5000	5	/	95	100	100
D6=1/5500	0	7,14	46,43	53,57	51,18
D7=1/8000	0	2,5	25	27,5	24,73
D8=1/9000	0	0	4,16	4,16	0,5
Témoin	0,92	0	2,75	3,67	/

Pour les doses D1et D2 les abeilles sont mortes sans même l'ingestion de traitement, pour la dose D3 elles sont mortes au bout de 2h. Les doses D4 et D5, la mortalité corrigée est de 100% après 24h.

D'après le **tableau 4**, nous remarquons que la DL50 est obtenue par la dose D6 (1/5500 μ l) pendant 24h.

Les résultats montrent que les mortalités observées pour la dose D7 après 2h ne dépassent pas 3%, alors qu'après 24h elle est de 25%, pour la dose D8, la mortalité est de 0.5% au bout de 24h de traitement.

3. Discussion

Pour les doses D1 et D2, nous avons remarqué que les abeilles sont mortes avant même d'ingérer les sirops contaminés, ce qui peut être expliqué par une contamination par inhalation. Ainsi, après 2 heures de jeûne les abeilles s'éloignent des tubes nourissants contenant les sirops traités alors que ce n'est pas le cas chez les lots témoins. Il apparait donc, de façon surprenante, que l'odeur des sirops traités est répulsive pour les abeilles. La même tendance a été observée par Guez (2001) dans les lots traités par l'imidaclopride.

La toxicité aiguë des deux insecticides Diméthoate et Lambda Cyhalothrine pour les doses D3 et D4 est caractérisée par la rapidité d'apparition des symptômes de neurotoxicité,

alors que la mortalité ne survient que 2 heures voir 24 heures après l'intoxication orale des abeilles. Chahbar *et al.* (2011), ont observé le même phénomène chez *Apis mellifera sahariensis* avec le Thiaméthoxame.

En effet, les insecticides tels que les pyréthrinoïdes comme la deltaméthrine ou les organophosphates, comme le chloropyrifos présentent une toxicité plus importante après contact direct qu'après ingestion chez les abeilles (Smart et Stevenson, 1982).

Selon SAGE pesticides (outil d'information sur les risques pour la santé et l'environnement ainsi que sur les usages agricoles pour une gestion rationnelle et sécuritaire des pesticides au Québec), le Diméthoate est très toxique chez les abeilles en effet la DL50 par voie orale est de 0.05 µg/abeille et la DL50 par contact est de 0.16 µg/abeille pour l'abeille domestique *Apis mellifera*. Dans notre étude il est apparu que la DL40 orale de Diméthoate chez *Apis mellifera intermissa* est de 4 µg/abeille, ce qui pourrait être expliqué par la différence de sensibilité entre la race d'abeille étudiée et celle du Canada. Dans ce cas la, l'abeille algérienne est plus résistante, et ceci pourrait être due à la variation de la capacité de détoxification.

On peut aussi expliquer cette variabilité des DL50 par la différence de mode d'ingestion (ingestion individuelle ou collective). Rafalimanana (2003) confirme cette dernière hypothèse, en effet à dose faible de Diméthoate (1 µg/µl), la toxicité en ingestion collective diminue. Mais à une forte dose (3,5 µg/µl), il n'y a pas de différence de toxicité entre les deux modes d'ingestion ceci peut être expliqué par le degré de toxicité très élevé dans le sirop.

Selon SAGE pesticides le Lambda Cyhalothrine est hautement toxique chez les abeilles. Sa DL50 par contact est de 0.038 µg/abeille, alors que dans notre travail nous avons enregistré une DL50 de 0,045 µg/abeille pour l'abeille *Apis mellifera intermissa*.

En revanche, l'étude réalisée par Rafalimanana (2003) a montré que la DL50 est de 0,239 µg/abeille pour le même pesticide Lambda Cyhalothrine, soit 5 fois plus forte que la valeur obtenue dans notre étude. Ces variations de la DL50 entre les différentes études pourrait s'expliquer: soit par la différence de la sensibilité des races à ce produit, soit par le mode de contamination. En effet, dans le cas d'une ingestion collective, on n'arrive pas à contrôler la quantité reçue par abeille lors de la détermination de la DL50. Ainsi, une variabilité dans le phénomène de trophallaxie peut interférer sur la répartition homogène d'insecticide, et entraîne une estimation imprécise de la DL50.

Concernant le mode de traitement, ce même auteur a déduit que l'abeille domestique est plus sensible à l'insecticide Lambda Cyhalothrine par application topique avec une dose

de 0,109 $\mu\text{g}/\text{abeille}$, que par ingestion collective de 0,239 $\mu\text{g}/\text{abeille}$. Ces résultats peuvent s'expliquer par la capacité de l'abeille à métaboliser les matières actives en fonction de leurs voies de pénétration. Le produit ingéré passe dans les organes de détoxification (intestin moyen, tubes de Malpighi), avant d'être réparti dans tout le corps. Par contre, le produit appliqué sur le thorax traverse la cuticule au travers des canalicules cireux et la distribution s'effectue directement dans l'organisme, plus particulièrement dans les zones les plus lipophiles (Noble-Nesbitt, 1970).

De ces résultats, nous pouvons conclure que les pesticides Diméthoate et Lambda Cyhalothrine sont très toxiques pour les abeilles et peuvent agir même à des faibles doses. En plus, notre race algérienne *Apis mellifera intermissa* est plus résistante aux deux insecticides Diméthoate et Lambda Cyhalothrine 4 $\mu\text{g}/\text{abeille}$ et 0,045 $\mu\text{g}/\text{abeille}$ respectivement par rapport à la race canadienne 0,05 $\mu\text{g}/\text{abeille}$ et 0,038 $\mu\text{g}/\text{abeille}$. Mais aussi, elle moins résistante à Lambda Cyhalothrine 0,045 $\mu\text{g}/\text{abeille}$ versus la race étudié par Rafalimanana 0,239 $\mu\text{g}/\text{abeille}$.

A l'instar des organophosphorés (Diméthoate) et des pyrethrinoides (Lambda Cyhalothrine), Les néonicotinoïdes nitro-substitués (imidaclopride et thiamethoxam), en application topique, sont aussi très toxiques pour les abeilles avec des valeurs de DL50 de 18 ng/abeille pour l'imidaclopride et de 30 ng/abeille pour le thiamethoxam. Contrairement, Les néonicotinoïdes cyano-substitués présentent une toxicité beaucoup plus faible avec une DL50 de 7,1 mg/abeille pour l'acétamipride (Iwasa et al., 2004).

En effet, dans la plupart des cas, lorsqu'un xénobiotique (substance étrangère à l'organisme considéré) pénètre dans un organisme, ce dernier essaie de l'éliminer en changeant sa structure moléculaire pour le rendre plus soluble et donc plus facilement excrétable. Cette métabolisation conduit en général à la formation de métabolites moins toxiques, mais, elle peut aussi dans certains cas, aboutir à la formation de métabolites toxiques voir plus toxiques que le produit parent. Ainsi, la nature des voies de dégradation mises en jeu dans la métabolisation du Diméthoate et de Lambda cyhalothrine peut influencer grandement leurs toxicités et entraîner une sensibilité variable des abeilles d'une saison à l'autre (Suchail et al., 2011).

Au terme de cette étude, qui s'est intéressé à la détermination de la dose létale 50 (DL50) des insecticides Diméthoate et Lambda Cyhalothrine sur l'abeille *apis mellifera intermissa*, il ressort qu'une faible dose de ces produits influence majoritairement sur la mortalité des abeilles.

En effet, plusieurs symptômes apparaissent sur les abeilles dès l'ingestion des sirops traités. Ces symptômes se manifestent par une activité générale accrue, avec des mouvements désordonnés, des tremblements et des convulsions, puis un comportement apathique.

S'agissant des doses létales, le Diméthoate a permis une DL40 de 4 µg/abeille, cette dose est environ 80 fois plus forte que celle testés par SAGE au Canada 0,05 µg/abeille. Quant à Lambda Cyhalothrine, nous avons enregistré une valeur de 0,045 µg/abeille.

De cette étude de toxicité aiguë, il apparait donc que l'insecticide Lambda Cyhalothrine est plus toxique que le diméthoate, et que la race étudiée *Apis mellifera intermissa* est plus résistante que les autres races.

A partir des résultats obtenus, nous pouvons tirer les perspectives suivantes :

- L'utilisation des produits toxiques pour les abeilles doivent être régis par des lois, car aucune réglementation ne protège l'abeille ;
- Les agriculteurs doivent contrôler leur utilisation massive de ces produits surtout en période de floraison où l'activité de butinage des abeilles est au maximum.

L'abeille est un excellent indicateur biologique. Elle signale l'état de santé de l'environnement dans lequel elle vit. Elle détecte la présence de substances phytosanitaires, des agents polluants comme les métaux lourds et les radionucléides. Elle assure en outre, la biodiversité grâce à son rôle de pollinisateurs. L'abeille mérite donc d'être protégée !

Références bibliographique

- Anonyme, 2008.** Loque Americana De Las Abejas Melíferas. Manual de la OIE sobre animales terrestres 2008. 11p.
- Anonyme a, 2012.** Les pesticides dans le monde. www.planetoscope.com/agriculture/alimentation/885-consommation-des-pesticides-dans-le-monde.html. Consulté le 03 mai 2016.
- Anonyme b, 2012.** Mémoire présenté dans le cadre des consultations publiques sur le Livre vert pour une politique bio-alimentaire du Québec. Maison de l'UPA. 31p. www.apiculteursduquebec.com. Consulté le 22 avril 2016.
- Anonyme, 2013.** Les pesticides ou les produits phytosanitaires. www.notreplanete.info/ecologie/alimentation/pesticides.php. Consulté le 03 mai 2016.
- Biri, 1986
- Aubert M., 2002.** L'état sanitaire de cheptel apicole français. Analyse des phénomènes d'affaiblissement des colonies d'abeilles. Edition AFSSA, Paris, 8-12.
- Bertrand F., 2003.** Les maladies de l'abeille domestique (*Apis mellifica*) et leurs conséquences sanitaires en France. Th. Doc. Vét., Lyon, 190 p.
- Bourg P., 2006.** Abeilles et insecticides phytosanitaires. Th. Doc. Vét., Toulouse, 125 p.
- Ceballos L., 2008.** Cultures transgéniques Bt et abeilles. Edition Rhône Alpes.
- Chahbar N., Belzunces L. P. et Doumandji S., 2011.** Effet d'un insecticide utilisé en protection des végétaux: thiamethoxam sur l'abeille saharienne *Apis mellifera* sahariensis. Algerian journal of arid environment **1** (2), 11-21.
- Chiron J et Hattenberger A. M., 2008.** Mortalités, effondrements et affaiblissements des colonies d'abeilles. AFSSA, 155 p.
- Dechaume-Moncharmont F. X., 2003.** Butinage collectif chez l'abeille *Apis mellifera* L. Th. Doc. École doctorale Diversité du Vivant, Paris VI, 319 p.
- Fagot et Larrat, 2002.** Application des produits phytosanitaires sur les cultures : Pesticides et protection phytosanitaire dans une agriculture en mouvement. Paris, ACTA, 501-
- Faucon et ribiere, 2006.** Les causes d'affaiblissement des colonies d'abeilles. Bulletin des GTV 20, 301-304
- Ferragu C., Bompay S. et Trou I., 2010.** Pesticides et santé : Etat de connaissance sur les effets chronique en 2009. Edition ORS Bretagne.

- Fluri P., Herrmann M., Imdrof A., Buhlmann G. et Charrière J. D., 1998.** Santé et maladies des abeilles: connaissance de base. Centre Suisse de la recherche apicole, 31 p.
- Genersch et al, 2010.** In Tirado R., Simon G et Johnston P., 2013. Le déclin des abeilles : Analyse des facteurs qui mettent en péril les pollinisateurs et l'agriculture en Europe
- Gerster F., 2012.** Plan de développement durable de l'apiculture, conseil général de l'alimentation, de l'agriculture et des espaces ruraux. 31 p.
- Gill R. J., Ramos-Rodriguez O. et Raine E., 2012.** Combined pesticide exposure severely affects individual –and colony-level traits in bees. *Rev. Nature* **491**, 105-108.
- Grosmond G., 2008.** Guide des pratiques alternatives en apiculture. Comptoir des plantes médicinales.
- Guez D., 2001.** Effets sublétaux de l'imidaclopride sur le comportement de l'abeille domestique (*Apis mellifera*). Th. Doc. Uni. Pierre et Marie Curie, 124 p.
- INRA, 1992.** In Bulzunces, 2005. Les effets des faibles doses de pesticides sur les abeilles. INRA (275), 19p.
- Iwasa T., Motoyama N., Ambrose J. T. et Roe M.R., 2004.** Mechanism for the differential toxicity of neonicotinoid insecticides in the honey bee, *Apis mellifera*. *Crop Protection* **23**, 371-378.
- Johansen et Mayer, 1990.** In Bourg P., 2006. Abeilles et insecticides phytosanitaires. Th. Doc.Vét., Toulouse, 125 p.
- Lambin M., Armengaud C., Raymond S. et Gauthier M., 2001.** Imidacloprid induced facilitation of the proboscis extension reflex habituation in the honeybee. *Arch Insect Biochem Physiol* **4**, 129-134.
- Lindauer M., 1952.** Contribution to the question of division of labour in the honeybee colony. *Z. Vergl. Physiol.* **34**, 299-345 p.
- Louveaux, 1985.** In Djouber F., 2010. Contribution à l'étude des effets sublétaux de l'imidaclopride sur la physiologie des ouvrières et des reines de l'abeille domestique (*Apis mellifera intermissa*). Th. Mag. Agr., Tizi-Ouzou, 105 p.

- Noble-Nesbitt J., 1970.** In Rafalimanana J. H., 2003. Evaluation des effets d'insecticides sur deux types d'Hyménoptères auxiliaires des cultures, l'abeille domestique (*Apis mellifera* L.) et des parasitoïdes de pucerons : études de terrain à Madagascar et de laboratoire en France. Th. Doc. Agr. Paris- Grignon, 207 p.
- Pelletier N., 2010.** Le déclin des populations d'abeilles au Québec : causes probables, impacts et recommandations. Centre universitaire de formation en environnement Université de Sherbrooke, Québec, 77 p.
- Person, 1984.** Pollinisation et reproduction végétale. Edition Quas, 663 p.
- Pham-Delègue et al., 2000.** In Abderrahmani S., 2014. Evaluation des mortalités des colonies d'abeilles et leurs causes dans la wilaya de Tizi-Ouzou. Th. Ing. Agro., Tizi-Ouzou. 82 p.
- Rafalimanana J. H., 2003.** Evaluation des effets d'insecticides sur deux types d'Hyménoptères auxiliaires des cultures, l'abeille domestique (*Apis mellifera* L.) et des parasitoïdes de pucerons : études de terrain à Madagascar et de laboratoire en France. Th. Doc. Agr. Paris- Grignon, 207 p.
- Ray R., 2012.** La disparition des abeilles (Colony Collapsus Disorder). Etat des lieux, analyse des causes et des conséquences. Th. Doc. Pha., Bordeaux 2, 115 p.
- Rosch G. A., 1925.** In Maisonnasse A., 2010. Communication chimique et régulations sociales dans la colonie d'abeilles (*Apis mellifera* L.). Th. Doc. Université d'Avignon, France, 155 p.
- Sandon Y., 2012.** Mortalités et dépeuplements des colonies d'abeilles : Création d'une base de données destinée à cerner les principaux facteurs mis en jeu. LSA (248), 3-4.
- Siebert J., 1980.** In Djouber F., 2010. Contribution à l'étude des effets sublétaux de l'imidaclopride sur la physiologie des ouvrières et des reines de l'abeille domestique (*Apis mellifera intermissa*). Th. Mag. Agr., Tizi-Ouzou, 105 p.
- Smart L.E. et Stevenson J.H., 1982.** Laboratory estimation of toxicity of pyrethroid insecticides to honeybees : relevance to hazard in the field. Bee World **63**, 150- 153.
- Suchail S., Belzunces L. P. et Vaissière B. E., 2003.** Toxicité aigüe de l'imidaclopride et de ses métabolites chez l'abeille domestique *Apis mellifera*. Abeilles et Fleurs, **643**, 27-30.
- Tasei J-N., 1996.** Impact des pesticides sur les abeilles et les autres pollinisateurs. INRA **29**.

Thany S. F., Rynier P. et Lenaers G., 2013. Neurotoxicité des pesticides : Quel impact sur les maladies neurodégénératives. *Med. Sci.*, **29** (3), 273-278.

Tirado R., Simon G et Johnston P., 2013. Le déclin des abeilles : Analyse des facteurs qui mettent en péril les pollinisateurs et l'agriculture en Europe.

Tomé

Van't Leven L., Boot W. J., Mutraers M., Segeren P et Welthuis H., 2005. L'apiculture dans les zones tropicales. Fondation Agromisa, Wageningen.

Vidal-Naquet N., 2011. Les maladies de l'abeille domestique d'élevage, *Apis mellifera* L. Reared honeybee *Apis Mellifera* L. diseases. Communication à l'Académie Vétérinaire de France, décembre 2011.

Videl-Naquet N., 2009. Caractéristiques de la reproduction de l'abeille *Apis mellifera* [www/Apiculture/abeilles_et_biologie.htm](http://www.Apiculture/abeilles_et_biologie.htm) . Consulté le 10 mai 2016.

Wendling P., 2012. *Varroa destructor* (Anderson et Trueman, 2000), un acarien ectoparasite de l'abeille domestique *Apis Mellifera* Linnaeus, 1758. Revue bibliographique et contribution à l'étude de sa reproduction. Th. Doc. Vét., Alfort. 196p.

Winston, 1993. La biologie de l'abeille. Editions Frison-Roche, Paris 276 p.

Yang