

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



UNIVERSITE MOULOU D MAMMERI DE TIZI-OUZOU
FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET DES SCIENCES AGRONOMIQUES
DEPARTEMENT DES SCIENCES AGRONOMIQUES

Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de
Magistère en sciences Agronomiques
Option : Alimentation animale et produits animaux

Thème

**CONTRIBUTION A L'ETUDE DES EFFETS SUBLETAUX
DE L'IMIDACLOPRIDE SUR LA PHYSIOLOGIE DES
OUVRIERES ET DES REINES DE L'ABEILLE
DOMESTIQUE (*Apis mellifera intermissa*)**

Présenté par Madame DJOUBER née TOUDERT Fatima

Devant le jury composé de :

Président	BERCHICHE Mokrane	Professeur	UMM Tizi-Ouzou
Rapporteur	AMRANE Rachid	Maitre de conférences A	UMM Tizi-Ouzou
Examineurs	BERKANI M. Laid	Maitre de conférences A	ENSA El Harrach
	MESBAHI Mahmoud	Maitre de conférences A	UMM Tizi-Ouzou
Invité	MOHAMMEDI Arezki	Maitre de conférences A	UMB Boumerdes

Année universitaire : 2010-2011.

A la mémoire de mon père.

REMERCIEMENTS

Au terme de ce modeste travail, je tiens tout d'abord à remercier profondément mon promoteur Mr **AMRANE Rachid**, maître de conférences au département d'agronomie, faculté des sciences biologiques et des sciences agronomiques à l'université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, pour m'avoir permis de réaliser ce mémoire et le mener à bien grâce à ses conseils, ses recommandations et surtout sa disponibilité.

J'adresse également mes sincères remerciements à Mr **MOHAMMEDI Arezki**, maître de conférences à l'université de Boumerdes, sans qui ce travail n'aurait pas été réalisé. Merci pour son soutien scientifique et moral sans faille.

Nos remerciements sont adressés :

A Mr **BERCHICHE Mokrane**, professeur au département d'agronomie, faculté des sciences biologiques et des sciences agronomiques à l'université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, qui nous a fait l'honneur de présider notre jury. Hommages respectueux.

A Mr **BERKANI Mohamed Laid**, Maître de conférences à l'École Nationale d'Agronomie d'El Harrach, d'avoir accepté de faire partie de notre jury et d'examiner notre travail.

A Mr **MESBAHI Mahmoud**, maître de conférences au département de Biologie, faculté des sciences biologiques et des sciences agronomiques à l'université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, qui a accepté d'examiner notre travail.

Je remercie Mr **AIRED Salem** maître assistant chargé de cours au département de Biologie, faculté des sciences biologiques et des sciences agronomiques à l'université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, pour son aide précieuse.

Je ne peux oublier Mr **ZEMIHANI Hanachi**, ingénieur agronome et apiculteur, pour son aide précieuse dans la réalisation de ce mémoire.

Je remercie aussi Mme **MOHAMMEDI**, maître de conférences à l'université de Bab Ezzouar, de m'avoir accueillie dans son laboratoire, ainsi que son étudiante **Drareni f.**

Mes vifs remerciements vont également à Mr **SAOUDI Achour** (Directeur de la coopérative apicole de Tizi-Ouzou), Dr **Nabila** et Dr **Mehni** (médecins biochimistes au CHU TO), Mr **BELKHEIR Boussaad**, Mme **LAMRI Lila**, Mme **YEFSAH Rebiha** et Mr **Djouber Ali**.

Enfin, je garde la place la plus chère dans mon cœur pour mon père (que dieu ait son âme) et ma mère sans qui je n'aurais jamais pu en arriver là.

Que mon frère, mes sœurs, ma belle sœur et mes beaux frères trouvent ici mes sincères reconnaissances pour leurs encouragements.

Et enfin pour mes plus précieux réconforts : mon cher mari et mes deux petites filles **DINA** et **DAYA**.

Liste des figures

- Figure 1 : Castes chez l'abeille domestique, *Apis mellifera* L.
- Figure 2 : Organes de reproduction de la reine.
- Figure 3 : Durée de développement des 3 castes d'abeilles.
- Figure 4 : Détermination des castes chez l'abeille.
- Figure 5 : Glandes hypopharyngiennes.
- Figure 6 : Prélèvement d'une écaille de cire.
- Figure 7 : Chaîne d'abeilles cirières.
- Figure 8 : Reine marquée et sa cour.
- Figure 9 : Coupe schématique d'une abeille avec situation de différentes glandes exocrines.
- Figure 10 : Communication par la danse en huit chez l'abeille.
- Figure 11 : Echange de nourriture entre 2 abeilles.
- Figure 12 : Formule développée de l'imidaclopride.
- Figure 13 : Imidaclopride et ses principaux métabolites.
- Figure 14 : Effets de l'imidaclopride sur l'activité du butinage.
- Figure 15 : Produit testé.
- Figure 16 : Cadre de couvain fermé avec des abeilles naissantes.
- Figure 17 : Cagette Pain.
- Figure 18 : Cagettes à la fin des expériences : A : Cire bien étirée. B : Cire non étirée.
- Figure 19 : A Lamelle de cire sous les sternites d'une abeille cirière.
B Prélèvement d'une lamelle de cire.
- Figure 20 : Taux de mortalité après l'administration par ingestion d'imidaclopride.
- Figure 21 : Moyenne des quantités de sirop ingéré en fonction des doses en imidaclopride.
- Figure 22 : Moyenne des quantités d'imidaclopride ingéré en fonction des doses en imida.
- Figure 23 : Moyenne de cire produite en fonction des doses en imidaclopride.
- Figure 24 : Moyenne de lamelles cirières produites en fonction des doses d'imidaclopride.
- Figure 25 : Extraction des glandes hypopharyngiennes.
- Figure 26 : Notation des glandes hypopharyngiennes.
- Figure 27 : Cadre d'élevage de reines.
- Figure 28 : Transfert d'une larve et une larve de moins de 48 heures.
- Figure 29 : Cadre d'élevage avec des cagettes rondes.
- Figure 30 : Dissection de la spermathèque.
- Figure 31 : Spermathèque d'une reine vierge.

Liste des tableaux

- Tableau 1 : Ages (jours) auxquels les tâches sont exécutées par les ouvrières.
- Tableau 2 : Développement de cinq paires de glandes chez l'ouvrière adulte.
- Tableau 3 : Effets sublétaux des insecticides sur le comportement des abeilles.
- Tableau 4 : DL50 en imidaclopride à 48 heures.
- Tableau 5 : Effets de l'imidaclopride sur le développement de la colonie.
- Tableau 6 : Synthèse des effets de l'imidaclopride rapportés par plusieurs auteurs.
- Tableau 7 : Mortalité en fonction de la dose.
- Tableau 8 : Quantité de sirop ingéré/abeille/jour en fonction de la dose.
- Tableau 9 : ANOVA Quantité de sirop ingéré.
- Tableau 10: Quantité d'imidaclopride/abeille/jour en fonction de la dose.
- Tableau 11: Poids de la cire produite en fonction de la dose.
- Tableau 12: Nombre de lamelles cirières/abeille en fonction de la dose.
- Tableau 13: Quantité de protéines/abeille en fonction de la dose.
- Tableau 14: Poids des reines et diamètres de leurs spermathèques (dose 34,3 ng/larve).
- Tableau 15: Analyse descriptive du poids des reines (g) et diamètre de leurs spermathèques (mm). (Dose D1 : 34,3 ng imidaclopride/larve et T1 : Témoin).
- Tableau 16: Poids des reines et diamètres de leurs spermathèques (dose 343 ng/larve).
- Tableau 17: Analyse descriptive du poids des reines (g) et diamètre de leurs spermathèques (mm). (Dose D2 est 343 ng imidaclopride/larve et T2 : Témoin).

Sommaire

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

Etude bibliographique

Chapitre I- La structure d'une colonie d'abeilles.....	3
---	----------

I-1- L'abeille un insecte sociale	3
I-2- Les différentes castes d'abeilles	3
I-2-1 Les castes des sexuées.....	5
I-2-2 La caste des ouvrières	8
I-3- Le polyethisme ou la division des tâches	10
I-3-1 Les abeilles nettoyeuses :	14
I-3-2 Les abeilles nourricières :	14
I-3-3 Les abeilles cirières :	18
I-3-4 Les butineuses :	20

Chapitre II- La communication sociale chez <i>Apis mellifera</i>.....	23
--	-----------

II-1- La communication chimique :	23
II-1-1 Les phéromones de cohésion sociale :	24
II-1-2 Les phéromones sexuelles :	26
II-1-3 Les phéromones de défense	26
II-1-4 Les phéromones impliquées dans le butinage	27
II-2 - La danse	29
II-2-1 La danse frétilante	29
II-2-2 La danse tremblante.....	29
II-3- Les interactions trophallactiques :	31

Chapitre III- Le risque d'exposition des abeilles à des produits phytosanitaires .	32
---	-----------

III-1 - Les pesticides	32
III-1-1 Les organochlorés et organophosphorés.....	32
III-1-2 Les carbamates et les pyréthrinoïdes de synthèse	33
III-1-3 Les nouvelles molécules insecticides	33
III-2 - Les produits de transgène	34
III-3 - Les différents effets des insecticides	34
III-3-1 Les effets sublétaux physiologiques	35
III-3-2 Les effets sublétaux comportementaux	36

Chapitre IV- L'imidaclopride	39
---	-----------

IV-1- La présentation de la molécule	39
IV-2- La métabolisation et métabolites de l'imidaclopride	40
IV-3- Les effets de l'imidaclopride chez les abeilles	42

Partie expérimentale

Introduction à la partie expérimentale	46
Essai I- Effets de l'imidaclopride sur la production de cire.....	47
I-1- Matériel et méthodes.....	47
I-1-1- Insecticide :	47
I-1-2 Matériel biologique :	49
I-2- Protocole expérimental :.....	50
I-3- Analyse statistique :	50
I-4- Résultats	53
I-4-1 Mortalité chronique :.....	53
I-4-2 Consommation de sirop :.....	54
I-4-3 Quantités de l'imidaclopride ingéré :.....	56
I-4-4 Quantités de cire produite:	58
I-4-5 Nombre de lamelles cirières :	59
I-5- Corrélation entre quantités d'imidaclopride ingéré et le poids de cire produite	61
I-6- Discussion	61
Essai II- Effets de l'imidaclopride sur le développement des glandes hypopharyngiennes	64
II-1- Matériel et méthodes.....	64
II-1-1 Matériel biologique :.....	64
II-1-2 Analyse de la quantité de protéines	65
II-2- Analyse statistique	65
II-3- Résultats.....	67
II-4- Discussion :	68
Essai III- Effet de l'imidaclopride sur le poids des reines et le diamètre de leurs spermathèques.....	71
III-1- Matériel et méthodes	71
III-1-1 Matériel biologique	71
III-2- Analyse statistique.....	72
III-3- Résultats.....	75
III-4- Discussion.....	79
Conclusion.....	81
Références bibliographiques.....	83

Introduction

L'abeille mellifère, *Apis mellifera* L., 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 pollinisateurs de nombreuses plantes cultivées et sauvages, elle joue un rôle clef du point de vue écologique et économique. En effet, la majorité des phanérogames ne pourraient accomplir leur cycle de développement sans l'intervention de pollinisateurs (Allen-Wardell et al., 1998). L'incidence de la pollinisation par les insectes est difficile à évaluer. Toutefois, elle représenterait 80% environ des végétaux (Haubruge, 2006). De ce fait, la contribution économique de ces insectes à l'agriculture mondiale est estimée à 117 milliards de dollars U.S. (Gostanza et al., 1997).

Les problèmes liés à l'apparition croissante de résistances multiples aux insecticides chez les insectes ravageurs entraînent la création de nouvelles molécules insecticides. C'est dans ce cadre que l'imidaclopride a été développé. Il rentre dans la formulation du Gaucho® qui est surtout utilisé dans l'enrobage des semences de maïs et de tournesol. Il représente la molécule active de plusieurs insecticides comme le Confidor, l'Admiral. L'imidaclopride agit à de très faibles doses. Sa toxicité pour les abeilles par contact ou par voie orale est très élevée (Suchaïl et al., 2000).

Ces insecticides comme le Confidor®, sont largement utilisés en Algérie (DSA, 2007), contre les ravageurs des cultures maraîchères, des arbres fruitiers et même des plantes d'ornementation. De ce fait, notre race d'abeille *Apis mellifera intermissa* Buttel-Reepen (1906), est exposée à l'imidaclopride. C'est une race très agressive, qui s'adapte bien aux conditions climatiques extrêmes. Elle semble bien résister au Varroa qui est un acarien. Ce dernier cause de énormes pertes aux colonies d'abeilles d'autres races (Peyvel, 1994). En outre, malgré l'introduction de races exotiques, cette race d'abeilles a toujours conservé à un certain degré son homogénéité dans plusieurs écosystèmes du nord de l'Algérie. Cette conservation de caractères fait que cette abeille reste parmi les meilleures productives au monde (Berkani, 2008).

La majorité des études de l'impact des produits phytopharmaceutiques sur l'abeille portent essentiellement sur les effets létaux aigus (administration d'une dose unique) et sous-

estiment l'exposition chronique (administration de faibles doses répétées durant un cycle de vie d'une ouvrière) et les effets sublétaux (Devillers et Dorée, 2000). Certains effets sublétaux comportementaux de quelques insecticides sur les abeilles sont connus. En effet, le parathion affecte le recrutement des butineuses (Schriker et Stephan, 1970) et la permethrine et la deltaméthrine perturbent les capacités d'orientation des butineuses (Vandame et al., 1995).

Depuis la mise sur le marché de l'imidaclopride par la société « Bayer », cette molécule est associée aux problèmes qui affectent les colonies d'abeilles à savoir les faibles rendements en miel, l'affaiblissement et même leur disparition massive. Ce phénomène est désigné sous l'appellation de C.C.D. (colony collapse disorder).

Les abeilles en butinant peuvent rentrer dans la ruche, chargées de pollen ou de nectar contaminés avec de faibles doses d'insecticides. Ainsi donc, même les abeilles de l'intérieur de la ruche, les larves et même la reine peuvent être contaminées. Les colonies s'affaiblissent puis disparaissent.

Dans ce sens, notre étude porte sur l'évaluation des effets sublétaux de l'imidaclopride contenu dans l'insecticide Confidor® Supra, sur la production de cire par les abeilles *Apis mellifera intermissa*, sur le développement de leurs glandes hypopharyngiennes et enfin sur le poids des reines et le diamètre des spermathèques.

Pour ce faire, nous avons divisé notre travail en deux parties :

- Dans la première partie, nous avons présenté une synthèse bibliographique relative à la vie et la constitution d'une colonie d'abeilles, la communication sociale chez l'abeille, les risques d'exposition des abeilles aux insecticides et enfin l'imidaclopride.
- Dans la deuxième partie qui est l'expérimentation, nous avons étudié l'impact de l'imidaclopride sur trois facteurs liés à *Apis mellifera intermissa* :
 - . La production de cire par les abeilles *Apis mellifera intermissa* ;
 - . Le développement des glandes hypopharyngiennes ;
 - . Le poids des reines des abeilles *Apis mellifera intermissa* et le diamètre de leurs spermathèques.

Pour chacune des expériences, nous avons présenté respectivement le matériel et méthodes utilisés, les résultats puis leurs discussions. Nous avons terminé notre étude par une conclusion générale.

I- La structure d'une colonie d'abeilles

Dans cette partie, nous exposerons, le mode de vie des abeilles ainsi que les différentes castes constituant leurs colonies.

I-1- L'abeille un insecte sociale

Les colonies d'abeilles vivent en sociétés très denses où chaque individu est fortement intégré sur le plan comportemental et dépendant pour sa survie, et sa reproduction. Ces sociétés ont souvent été désignées par le terme de super-organisme par analogie avec les organismes supérieurs, complexes et multicellulaires (Moritz *et al.*, 1997).

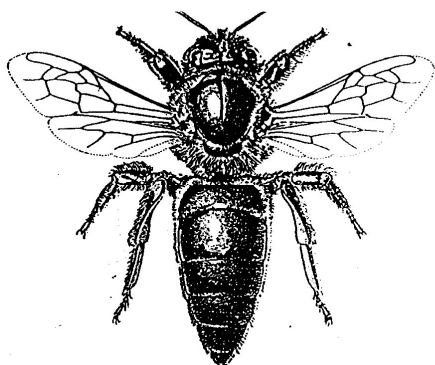
Comme toutes sociétés d'insectes, celle des abeilles domestiques repose sur un système de communication complexe entre les différents membres. Les abeilles émettent des messages sonores, tactiles, visuels (pour certaines races d'abeilles) et chimiques pour communiquer entre elles. La découverte par Butler (1960) et Pain (1961) de la phéromone royale a renforcé l'idée selon laquelle la communication chimique entre les différents membres de la colonie d'abeille est la plus importante parmi les autres modes de communication.

I-2- Les différentes castes d'abeilles

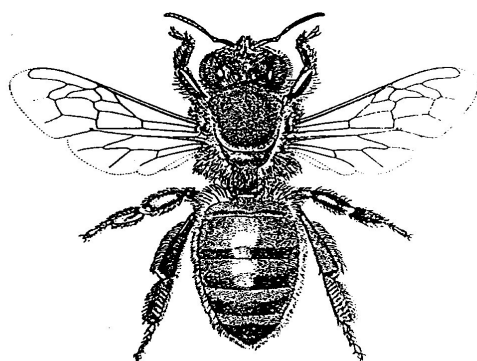
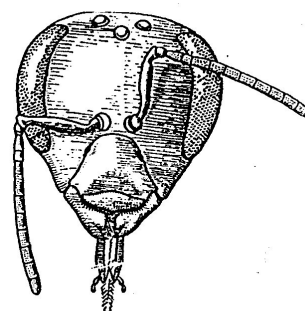
Chez l'abeille domestique *Apis mellifera* L. la structure sociale de la colonie repose sur une organisation en castes. On distingue deux castes: les sexués (les mâles et reines) et les non sexués (les ouvrières) (**Figure 1**).

Les abeilles sont des insectes sociaux avec un système de détermination du sexe haplo diploïde, dans lequel les œufs non fertiles pondus par la reine donnent naissance à des faux bourdons (les mâles) et des œufs fertiles d'où naissent soit des ouvrières ou des reines.

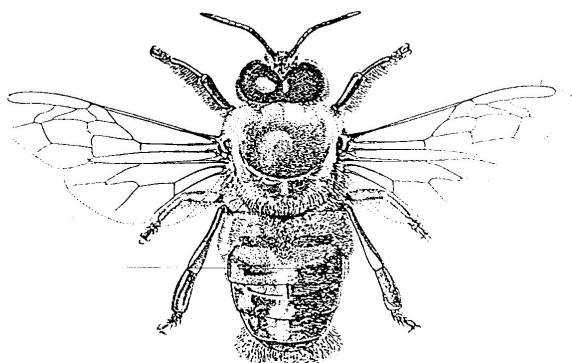
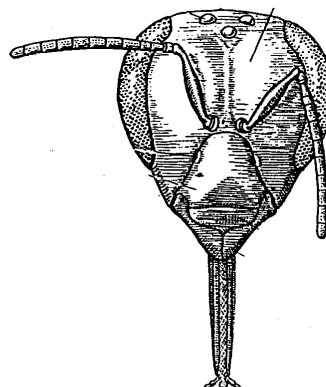
La différenciation entre les larves qui deviendront reines ou ouvrières est due à la quantité et la qualité de la nourriture. Les larves nourries uniquement avec de la gelée royale



Reine



Ouvrière



Faux bourdon

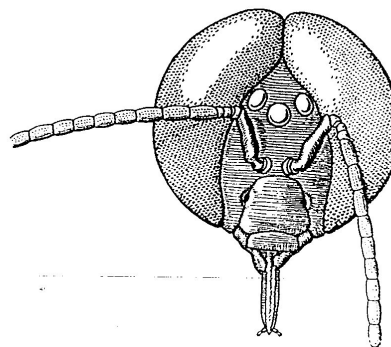


Figure 1 : Castes chez l'abeille domestique, *Apis mellifera* L. (Dade, 1977).

se développent en reines, tandis que celles nourries avec un mélange de sécrétion glandulaires, miel et pollen se transforment en ouvrières (Winston, 1987).

I-2-1 Les castes des sexués

Dans cette partie, nous présenterons les principales castes constituant une colonie d'abeilles.

I-2-1-1 La reine :

La reine est la seule femelle fertile de la colonie. Elle vit en moyenne de 1 à 2 ans (Page et Peng, 2001), cependant une durée maximale de 8 ans a été rapportée par une étude faite par Bozina (1961). La reine deviendra mûre sexuellement 6 jours après son émergence. Elle effectuera le vol nuptial au cours duquel elle est fécondée par environ 17 faux bords (la polyandrie). Le sperme est stocké dans une sphère appelée spermathèque, il sera utilisé pour fertiliser les œufs durant toute sa vie (Woyke, 1960). La reine commence à pondre 2 à 3 jours après son vol nuptial (Winston, 1987). Elle pond de 1500 à 2000 œufs par jour soit 200 000 œufs par an (Winston, 1991).

Le poids de la reine constitue une variable importante qui peut être modifiée par exemple au cours d'un maintien à l'étuve en présence des ouvrières (Kharcheva, 1957). Le poids des reines fécondées dépasse de 34 à 75 % celui des non fécondées, par ailleurs le poids des reines augmente durant le printemps et l'été puis décroît. Il faut rappeler aussi les recherches de Komarov et Alpatov (1934), qui remarqua chez les reines fécondées une augmentation de poids de 30 mg par rapport aux reines vierges ce qui s'explique sans doute par l'augmentation rapide du poids des ovaires après la fécondation (Chauvin, 1960).

L'appareil reproducteur de la reine présente une particularité anatomique c'est la spermathèque. Chez *Apis mellifera*, la spermathèque est un sac globulaire ayant un diamètre de 1,1 mm (**Figure 2**). Elle est constituée par une membrane chitineuse, avec un épithélium (Bishop, 1920 ; Ruttner, 1971). La spermathèque d'une reine vierge est remplie d'un liquide transparent. Cet organe est situé juste au dessus du vagin avec lequel il est connecté par un court canal. La glande spermathéciale est une glande tubulaire en forme d'Y. Elle est étroitement appliquée à la surface de la spermathèque. Celle-ci est, par ailleurs, entourée d'un fin réseau

de trachées. Ces trachées ainsi que les sécrétions de la glande en « Y » contribuent au maintien en vie des spermatozoïdes contenus dans cet organe (Louveaux, 1976).

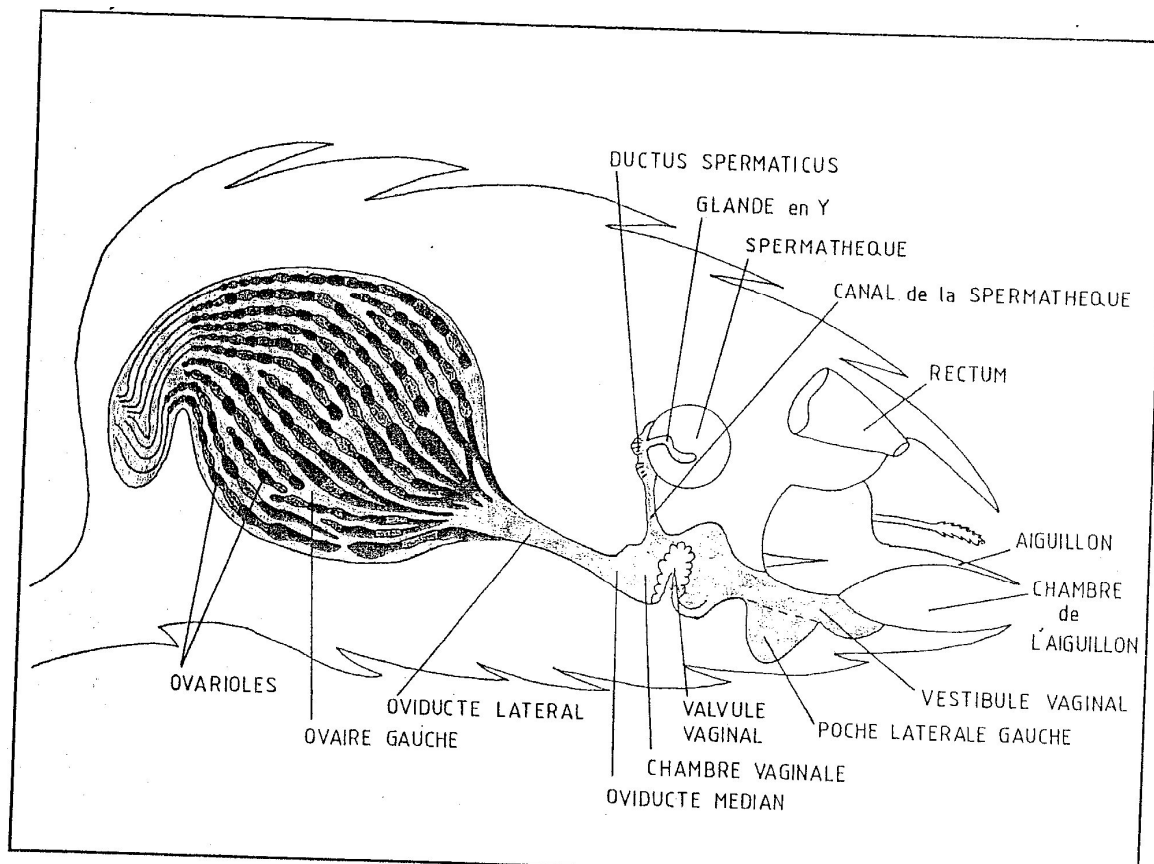


Figure 2 : Organes de reproduction de la reine.
(Snodgrass, 1956. In Louveaux, 1976).

Chez *Apis mellifera*, l'oviducte latéral de la reine peut contenir 200 millions de spermatozoïdes après l'accouplement (Winston, 1991). Cependant, seulement 4,7 millions seront stockés dans la spermathèque soit 2,5% du sperme reçu durant le vol nuptial (Oldroyd et al., 1996). Les reines exerceront un choix inexplicable au cours de la copulation et du stockage des spermatozoïdes (Baer, 2005).

Une étude faite par Kahya et al. (1962), a montré que le poids des reines de *Apis caucasica* est de 190-200 mg. Selon ces mêmes auteurs le poids à l'émergence des reines vierges est très significativement corrélé ($p < 0,01$) au poids trois jours après émergence ($r = 0,440$). La plus grande corrélation a été observée 1 mois après le début de l'oviposition. Une grande corrélation significative entre le poids des reines à l'émergence et le diamètre ($r = 0,619$), ainsi que le volume de la spermathèque ($r = 0,607$). Ceci est expliqué, non pas par le poids frais ou le poids sec des ovaires des reines de 40 jours, mais par le nombre et le stade de maturation des ovules.

I-2-1-2 Les faux bourdons :

Dans une colonie, ne se trouvent que quelques centaines de faux bourdons. Ils n'assurent aucune tâche mis à part leur rôle dans la reproduction. Ils se nourrissent seuls exclusivement du miel stocké dans les rayons. Ils ne sont présents dans la colonie que durant la période où les ressources alimentaires sont importantes. A la fin de l'été, ils sont tués ou chassés de la colonie. La durée de développement de l'œuf à l'adulte du faux bourdon est de 24 jours. Le faux bourdon pèse 267 mg juste après son émergence (Straus, 1911).

Les mâles meurent durant l'accouplement (Ruttner, 1954), car l'éversion de l'endophallus est irréversible et entraîne la paralysie du mâle (Koeniger et Koeniger, 1991). Après l'éjaculation le mâle se sépare de la reine mais en laissant ses organes génitaux (Koeniger et al., 1979).

Les mâles de l'abeille domestique *Apis mellifera* sont élevés dans des cellules significativement plus grandes que celles des ouvrières. Si une reine à cours de spermatozoïdes, dépose des ovules de mâles dans des cellules d'ouvrières, ceux-ci donnent de petits mâles qui ont presque la taille des ouvrières. Berge et al. (1997), ont montré que ces mâles de petite taille ont un désavantage reproductif lorsqu'ils sont en compétition avec des mâles de plus grande taille. Jarolimek et Otis (2001), ont trouvé une corrélation significative entre la taille

des mâles et le nombre de spermatozoïdes. Les mâles de petite taille produisent $7,5 \pm 0,5$ millions de spermatozoïdes alors que ceux de taille normale produisent $11,9 \pm 1,0$ millions, cette différence est significative (Schluns et *al.*, 2003).

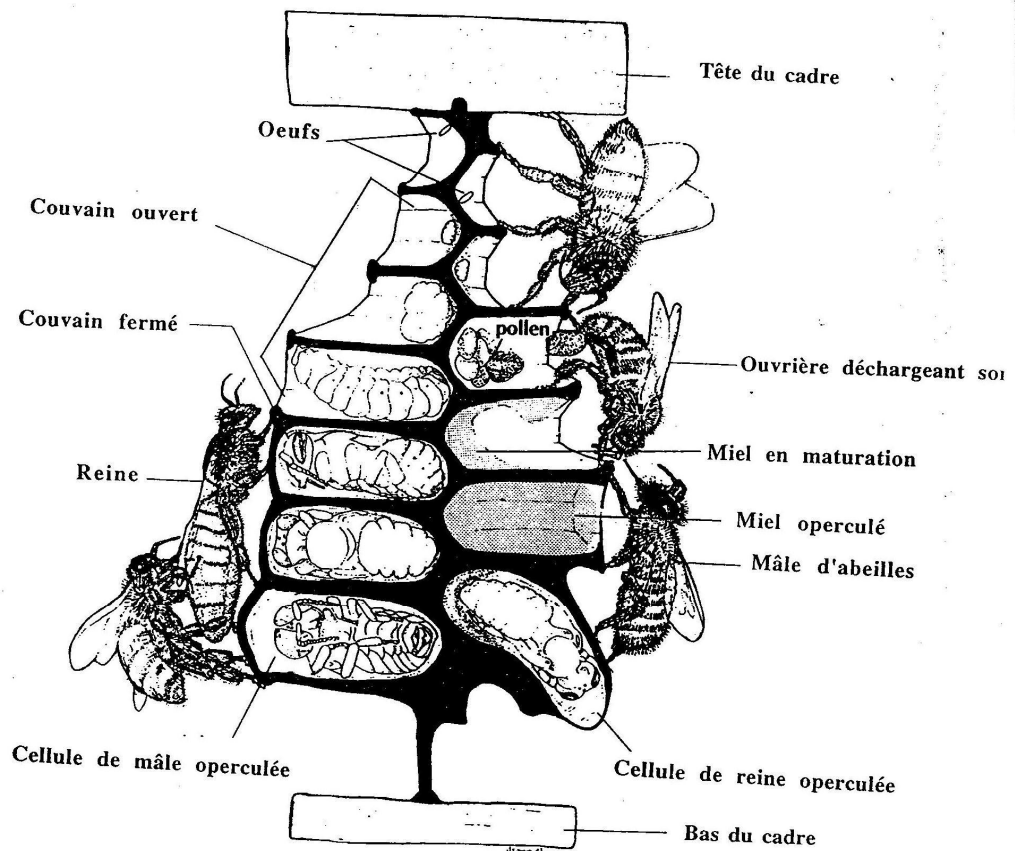
Les faux bourdons commencent à voler entre le 7^{ème} et le 10^{ème} jour, mais cela ne veut pas dire qu'ils soient mûrs sexuellement. Un grand nombre de faux bourdons âgés de 10 jours sont capables d'érection, mais la faculté d'érection sera à son maximum vers le 12^{ème} jour. Les faux bourdons vivent 54 jours en moyenne (Howell et Usinger, 1933). Ruttner (1968) annonce une longévité de plus de 70 jours. Pour Drescher (1968), l'espérance de vie des faux bourdons est de 23 jours le mois de Juillet, 3% seulement seront en vie après 40 jours. Au cours de l'encagement des faux bourdons, la majorité meurent au bout de 25 jours, alors qu'un tout petit nombre d'entre eux atteint 35 jours (Mackensen et Roberts, 1948). La quantité de sperme que donne un faux bourdon est de 1,25 μ l mais ne peut être extrait plus de 1 μ l.

I-2-2 La caste des ouvrières

Les ouvrières, c'est la caste la plus représentée de la colonie. En été une colonie peut contenir 30 000 à 60 000 ouvrières. Les ouvrières naissent des œufs fécondés. Elles pèsent en moyenne $116 \pm 0,61$ mg (Bower-Walker et Gunn, 2001). Cependant, ce poids peut varier selon les conditions de nutrition et environnementales (Crailsheim, 1988). La durée de développement de l'œuf à l'adulte pour l'ouvrière est de 21 jours (**Figure 3**). Elles vivent de 3 à 8 semaines en été (Roger et Pain, 1966) et de 6 à 8 mois en hiver (Anderson, 1931).

Il a été démontré que la teneur en lipide des nourrissements des larves est constitué principalement d'acides gras libres dont la composition relative, quantitative et qualitative durant les 3 premiers jours est la même pour les larves de reines et d'ouvrières. Le quatrième et le cinquième jours de vie, les larves d'ouvrières reçoivent un nourrissement différent en ce qui concerne tant la teneur en lipides que la composition des acides, particulièrement pauvre en acides hydroxyliques. (Lercker et *al.*, 1984).

Les ouvrières n'ont pas toutes le même niveau d'apparement entre elles. En effet, la reine est fécondée par plusieurs mâles, les ouvrières ont donc la même mère mais peuvent avoir des pères différents (Estoup et *al.*, 1994). Les ouvrières issues de la même lignée paternelle, sont désignées par le terme de fratrie.



	<i>Oeuf</i>	<i>Larve</i>	<i>Pupe</i>	<i>Total</i>	<i>Vie adulte</i>
Reine (fertile)	3 jrs	6,5 jrs	7,5 jrs	16 jrs	2 à 5 ans
Ouvrière (fertile)	3 jrs	6 jrs	12 jrs	21 jrs	48 jrs
Mâle (non fertile)	3 jrs	6,5 jrs	14,5 jrs	24 jrs	64 jrs

Figure 3: Durée de développement des 3 castes d'abeilles (Sammataro et Avitabile, 1986).

Les reines exercent un pouvoir attractif sur les abeilles et inhibiteur sur la construction de cellules royales, grâce à une phéromone sécrétée par les glandes mandibulaires (Pain, 1959). Chez les abeilles *Apis mellifera*, la reproduction des ouvrières est contrôlée par des phéromones produites par la reine et le couvain. Ce sont les seuls organismes pour lesquels l'hormone primaire de la reine contrôlant la reproduction des ouvrières est identifiée (Hoover et al., 2003).

Les ouvrières peuvent développer leurs ovaires et pondre lorsqu'elles perdent leur reine et n'ont pas de couvain ouvert pondu par la reine. Cependant, lorsque les ouvrières activent leurs ovaires et pondent en présence de la reine, leurs œufs sont éliminés par d'autres ouvrières appelées ouvrières policières (Ratnieks, 1988) ou se développent et deviennent des faux bourdons (**Figure 4**).

Les ouvrières n'assurent donc pas de rôle dans la reproduction. En revanche, elles assurent les fonctions de entretien, d'approvisionnement en nourriture, de thermorégulation et de défense de la colonie.

I-3- Le polyethisme ou la division des tâches

Le premier chercheur qui a étudié la division du travail dans la ruche est Rösch (1925-1927). La division des tâches au sein des ouvrières est basée sur la physiologie et le tempérament des castes, la corrélation du comportement avec la taille et l'âge est moins prononcée (Seeley, 1995).

La division du travail est contrôlée par différents facteurs internes liés à l'animal (caste, âge, physiologie, seuil de réponse déterminisme génétique, í) ou externes (environnement, interactions sociales, í).

Chez l'abeille *Apis mellifera*, la division des tâches entre ouvrières est basée en premier lieu sur l'âge c'est le polyethisme de l'âge (Lindauer, 1971). En effet, les plus jeunes effectuent des travaux à l'intérieur de la ruche comme nourricière, emmagasinière, puis à la périphérie de la ruche donc gardienne et enfin les plus âgées deviennent des butineuses.

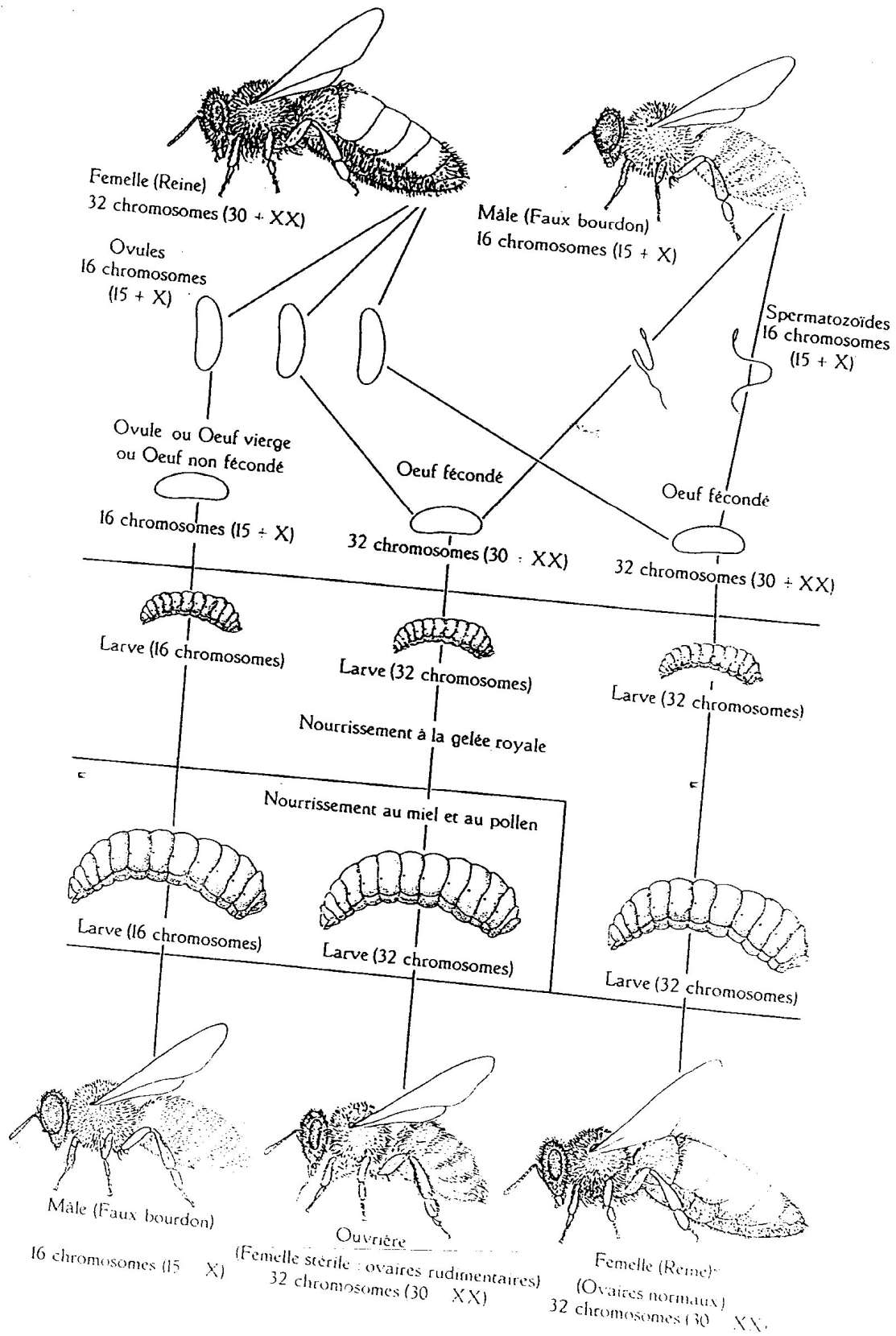


Figure 4 : Détermination des castes chez l'abeille (Dessart, 1975).

Il existe aussi une variation génétique entre ouvrières qui influence la division des tâches. Ceci est dû au multiples accouplement de la reine, une colonie d'abeilles est constituée par différentes sub-familles (Page et Robinson, 1991). Les génotypes qui présentent une vitesse de développement comportemental relativement rapide dans des conditions typiques, ont une tendance plus marquée à butiner précocement dès que les butineuses d'âge normal manquent. L'hormone juvénile joue également un rôle important dans la régulation du polyéthisme lié à l'âge. L'un de ses rôles consiste à coordonner les changements de comportement avec les changements de l'activité des glandes exocrines associées au polyéthisme lié à l'âge. En effet, les petites quantités ou les taux de biosynthèses de l'hormone juvénile sont associés au bon développement des glandes hypopharyngiennes (Rutz et *al.*, 1974). Un traitement avec l'hormone juvénile provoque une dégénérescence prématurée des glandes hypopharyngiennes.

En outre, les butineuses d'une colonie d'abeilles inhibent le développement comportemental des ouvrières plus jeunes, empêchant ainsi tout butinage précoce. L'oléate d'éthyle qui est un acide gras pourrait faire partie de l'inhibiteur émis par les butineuses (Léoncini et *al.*, 2001).

Il existe une flexibilité individuelle importante quant aux âges auxquels sont effectuées les différentes tâches (Rösch, 1925). A un âge donné, une même ouvrière peut effectuer plusieurs tâches (Lindauer, 1952). De plus, des retours à des tâches antérieures (Rösch, 1930), des phénomènes de fixation comportementale (Winston et Punnett, 1982) ou d'omission de certaines tâches ont également été décrits (Nelson, 1927). Le polyéthisme d'âge est donc, plutôt un schéma général de l'organisation de la division du travail chez l'abeille.

Le tableau 1 regroupe les données de plusieurs auteurs sur les âges auxquels les tâches sont effectuées par les ouvrières d'une colonie typique (Michener, 1974). Il en ressort des différences frappantes selon les études. Ainsi Lindauer (1952), trouve des limites d'âges pour certaines activités supérieures à celles obtenues par Rösch (1925-1927). Pour ce dernier, les ouvrières s'occupent des larves de moins de 4 jours entre le 3^{ème} et le 11^{ème} jour alors que pour Lindauer (1952) cet intervalle se situe entre 2 et 28 jours. De plus, Rösch (1925-1927) et Perepelova (1928), démontrent que les plus vieilles larves sont nourries par des ouvrières plus jeunes que celles qui soignent le jeune couvain. Pourtant, Lindauer ne confirme pas cette conclusion.

Tableau 1: Ages (jours) auxquels les tâches sont exécutées par les ouvrières.(Michener, 1974).

Activité	Âges (jours)	Moyenne (des âges jours)	Références
Nourrissage des Larves de moins de 4 jours.	3-11	4,6	<i>Rosch, 1925</i>
	3-12	5,2	<i>Perepelova, 1928</i>
	2-28	11,5	<i>Lindauer, 1952</i>
Nourrissage des Larves de plus de 4 jours.	6-13	8,6	<i>Rosch, 1925</i>
	6-16	9,2	<i>Perepelova, 1928</i>
	2-26	12,8	<i>Lindauer, 1952</i>
Réception du nectar	8-14	11,2	<i>Rosch, 1925, 1927</i>
Enlever les débris de la Ruche	10-23	14,7	<i>Rosch, 1925, 1927</i>
	2-20	13,9	<i>Perpelova, 1928</i>
Egaliser les bords des cellules	2-20	8,7	<i>Perpelova, 1928</i>
Construction des rayons	2-52	15,8	<i>Rosch, 1925, 1927</i>
Premier voyage de butinage	10-34	19,5	<i>Ribbands, 1952</i>
	10-32	20,1	<i>Ribbands, 1952</i>
	9-35	19,2	<i>Ribbands, 1952</i>
	20-41	30,2	<i>Lindauer, 1952</i>
	5-39	18,3	<i>Sakagami, 1953</i>

L'état physiologique des ouvrières est lié à l'accomplissement des travaux. En effet, le développement et la régression de certaines glandes au cours du temps, s'accompagnent d'une modification du comportement de l'abeille. King (1933), décrit l'évolution de 5 paires de glandes en fonction de l'âge des ouvrières : les glandes mandibulaires, les glandes hypopharyngiennes, les glandes protocérébrales, les glandes thoraciques et les glandes cirières (**Tableau 2**).

I-3-1 Les abeilles nettoyeuses :

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 puissent y pondre (Visscher, 1983). 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.

I-3-2 Les abeilles nourricières :

Les nourrices apportent les soins nécessaires au couvain surtout l'alimentation. Elles accomplissent cette tâche à un âge situé entre 3 et 18 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 formé autour de la reine. Elles la lèchent en s'imprégnant de ses phéromones qu'elles transmettent aux autres abeilles.

Tableau 2 : Développement de cinq paires de glandes chez l'ouvrière adulte (King 1933).

	Age moyen de développement maximum (jours)	Intervalle de développement (jours)	Fonction
Glandes mandibulaires	12	4-14	Production de l'acide -10- hydroxy-2-décénoïque (10-HDA), de l'acide 10-Hydroxydécanoïque (10-HDAA) et de l'acide octanoïque (<i>Butenandt et Rembold, 1957</i>). Substance d'alarme : 2-Heptanone (<i>Sheaver et Boch, 1965</i>).
Glandes hypopharyngiennes	12	4-18	Jeunes ouvrières : nourriture larvaire (protéines, lipides et vitamines) (<i>Patel et al., 1960</i>). Ouvrières âgées : invertase (<i>Maurizio, 1962 ; Simpson et al., 1968</i>).
Glandes cirières	13	9-19	Production de cire (<i>Dreyling, 1903 ; Rösch, 1927</i>).
Glandes labiales céphaliques	27	12-27	Sécrétion huileuse (<i>Arnold et Delege-Darchen, 1978</i>). Changement de la composition en fonction de l'âge (<i>Katzav-Gozansky, 1999</i>).
Glandes labiales thoraciques	19	10-19	Sécrétion aqueuse qui dissout les sucres (<i>Simpson, 1960</i>).

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 (Crailsheim, 1992). Les glandes hypopharyngiennes sont situées dans la tête des abeilles ouvrières (**Figure 5**).

Les cellules de ces glandes commencent à se différencier chez la nymphe. Elles ne se développent que chez les jeunes ouvrières qui une fois émergées se nourrissent de pain d'abeille et de miel, puis elles commencent à sécréter la gelée royale (Plainter et *al.*, 1966).



Figure 5 : Glandes hypopharyngiennes.

Les glandes hypopharyngiennes sont constituées par un tube où sont attachées plusieurs acini (Ribbands, 1953 ; Snodgrass, 1956). L'âge des abeilles exerce une influence marquée sur l'activité des glandes hypopharyngiennes, celle-ci est corrélée avec la croissance et la résorption des glandes. Seules les larves sont aptes à activer les glandes hypopharyngiennes, alors que les œufs et les nymphes ne le sont pas. Ces glandes restent inactives pendant 3 jours après le début du nourrissage des larves (Brouwers, 1982). Elles conservent leur activité pendant 3 jours après le retrait des larves. Ceci est en accord avec l'hypothèse que c'est le comportement de nourrissage qui active les glandes, cependant, Huang et *al.* (1989), soupçonnent l'existence d'une phéromone stimulante produite par les larves.

Lorsqu'elles sont nourrices, les glandes hypopharyngiennes des ouvrières sont pleinement développées et sécrètent la majeure partie protéique de la nourriture larvaire.

Chez les ouvrières âgées de 4 jours la quantité de protéines de nourriture larvaire synthétisée représente 90% de la production totale. Lorsque les abeilles deviennent nourrices et principalement entre les 10^{ème} et 14^{ème} jours, la synthèse protéique est à son maximum. En outre après le 14^{ème} jour, l'activité de synthèse des glandes hypopharyngiennes décline, mais ne tombe jamais au niveau zéro (Kaatz, 1987).

Elles produisent des enzymes digestives comme l'alpha-glucosidase, l'invertase (Brouwers, 1982). Ce dernier rapporte qu'il n'existe pas de « corrélation apparente » entre la taille des glandes et leur activité. Mais Huang et *al.* (1989), ont trouvé une relation significative entre ces deux variables.

Une larve peut être contrôlée jusqu'à 7000 fois pour un maximum de 1100 « repas ». Sur la base de signaux chimiques et mécaniques, les nourrices apprécient l'âge et la caste des larves pour les alimenter sélectivement, utilisant des proportions différentes de leurs sécrétions, ainsi que du pollen et du miel qu'elles ingèrent.

L'hormone produite par le couvain inhibe le développement des ovaires chez les ouvrières (Mohammedi et *al.*, 1998). Deux composés de cette hormone à savoir le palmitate d'éthyle et le linoléate de méthyle provoquent l'augmentation de l'activité des glandes hypopharyngiennes (Mohammedi et *al.*, 1996).

I-3-3 Les abeilles cirières :

Les études histologiques de la sécrétion de la cire montrent que cette production, commence lorsque les abeilles sont âgées de moins d'une semaine, le pic est atteint à deux semaines d'âge puis décline (Rösch, 1927).

La cire est un complexe mélange (Tulloch, 1980), produit par des tissus au niveau de l'abdomen des ouvrières (Dumas et Edwards, 1843 ; Piek, 1961). Les travaux de Piek (1961-1964) montrent que cet acide acétique est probablement pris des oenocytes et que l'acétate est utilisé pour la synthèse des hydrocarbures. Selon Hepburn et *al.* (1990), qui ont étudié les modifications ultrastructurales des organites des glandes cirières, il n'existe pas de réticulum endoplasmique lisse, organite essentiel à la synthèse des lipides, dans l'épiderme, ni dans les adipocytes des glandes cirières chez les ouvrières adultes. Néanmoins, les oenocytes sont extrêmement riches en réticulum endoplasmique lisse et le développement dans le temps de cet organite suit étroitement celui de la sécrétion cirière. Il semble aussi que les oenocytes soient le siège primaire de la synthèse des hydrocarbures et des acides gras de la cire et que ces précurseurs de la cire soient transportés par des lipophorines à travers l'épiderme jusqu'à la surface de la cuticule des miroirs à cire.

Les glandes cirières sont quatre paires de plaques situées sous les sternites abdominaux, qui produisent la cire. Elles atteignent leur capacité maximale lorsque l'ouvrière a entre 5 et 20 jours. La cire est émise sous forme de petites écailles ou lamelles, auxquelles l'abeille ajoute de la salive et qu'elle malaxe avec ses mandibules (**Figure 6**). Ces lamelles ne pesant que 0.8 mg il en faudrait 1 250 000 pour faire 1 kg de cire. La température idéale pour la sécrétion de la cire est entre 33 et 36°C.

Darchen (1959), montre que les chaînes d'abeilles jouent un rôle important dans la régulation concernant le parallélisme des rayons. En particulier, elles peuvent faire subir une torsion de 90° à une lamelle de cire gaufrée fixée en haut d'une ruche dans un plan orthogonal aux plans des rayons voisins (**Figure 7**).

Il existe deux tailles de cellules selon qu'elles sont élevées les ouvrières (alvéoles les plus petites) ou les mâles. Les quelques cellules de reines placées généralement à la périphérie des rayons, représentent une construction un peu à part dans l'architecture de la colonie.

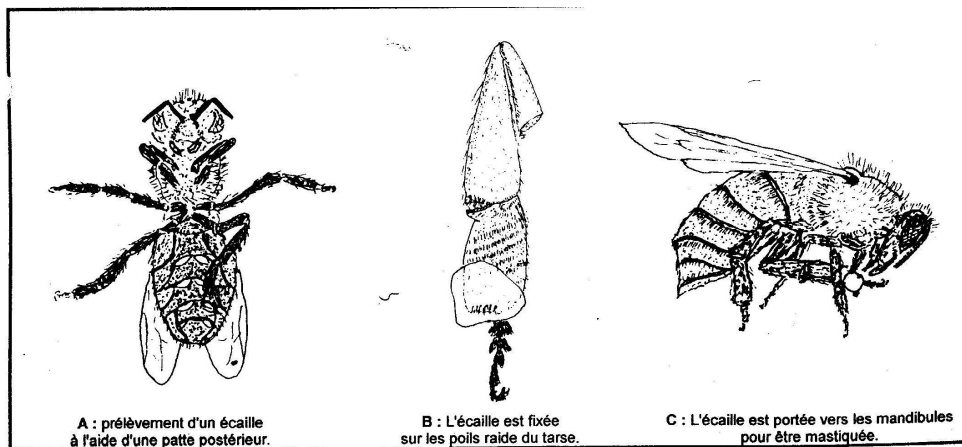


Figure 6 : Prélèvement d'une écaille de cire (Casteel, 1912).



Figure 7 : Chaîne d'abeilles cirières.

La construction de rayons paraît sous l'influence d'un déterminisme complexe, où la pesanteur y contribue pour une part (Chauvin, 1958).

Il existerait, selon Chauvin (1968), dans l'extrait alcoolique de pollen et dans les eaux d'extraction de la cire des substances qui excitent l'écoulement de la cire parmi les abeilles en cagettes.

Darchen (1950), a signalé la grande influence de la reine sur les constructions cirières et en particulier des cellules d'ouvrières et elle inhiberait par l'écotohormone la construction des cellules de mâles. Les cellules de mâles n'apparaissent que lorsque la population s'est beaucoup accrue.

I-3-4 Les butineuses :

Le butinage peut être défini comme étant l'ensemble des activités extérieures de l'abeille : récolte du nectar, du pollen, de l'eau et de la propolis. Le déterminisme de la spécialisation des butineuses est essentiellement génétique (Mackensen et Nye, 1969 ; Robinson et Page, 1989).

Chez l'abeille *Apis mellifera*, le butinage est basé sur le processus du conditionnement associatif dans lequel les abeilles associent l'odeur et la couleur des fleurs. Il repose sur la mise en jeu des capacités d'apprentissage des signaux principalement chimiques (Menzel et Col., 1993). Les performances d'apprentissage sont maximales vers le 14 à 15^{ème} jour d'âge (Pham-Delegue et al., 1990a).

Le choix de la source d'eau utilisée, est conditionné par la température de celle-ci. Il semblerait que les abeilles préfèrent l'eau chaude à l'eau froide. Entre 10° et 43° la vitesse d'absorption est proportionnelle à la température. Le nombre de voyages possibles serait de 50 par jour. Chaque voyage demande 5 minutes en moyenne (Gendot, 1907). Cette eau est indispensable à la thermorégulation de la colonie (Lindauer, 1954), la température au centre de la ruche est maintenue à 36°C.

Les butineuses assurent l'approvisionnement de la colonie en nectar et miellat, destinés à la consommation immédiate ou au stockage sous forme de miel, et du pollen aliment riche en protéines destiné essentiellement à la nourriture des larves et des nourrices. Au cours du processus de la récolte, le thorax et l'abdomen de la butineuse, entrent en contact

avec les étamines, et sont soupoudrés de pollen. L'abeille véhicule alors de manière passive quelques grains de pollen adhérant par électricité statique à sa cuticule poilue (Corbet et *al.*, 1982).

Lors d'un cycle de butinage, les abeilles restent majoritairement fidèles à une variété florale. Ainsi en passant de fleur en fleur, les butineuses contribuent à la fécondation croisée des plantes entomophiles.

Les abeilles possèdent sur leur troisième paire de pattes, des structures adaptées au transport du pollen sous forme de pelotes (les corbeilles à pollen).

Concernant la distance de butinage, Frisch (1967), rapporte des distances maximales de butinage de 12 km. Beekman et Ratnieks (2000), rapportent des observations durant lesquelles 50% des butineuses allaient à plus de 6 km et 10% à plus de 9 km. L'aire de butinage d'une colonie est considérable. Une distance de prospection moyenne de 12 km correspond à une aire de plus de 450 km².

Le comportement de butinage est développé par les abeilles les plus âgées. La transition du travail à l'intérieur de la ruche au butinage est accompagnée par des changements de l'expression des centaines de gènes (Denisson et *al.*, 2008). Parker (1926), étudiant la division du travail chez les butineuses, constate que 25% seulement des butineuses ne récoltent que du pollen, que 17% récoltent à la fois du pollen et du nectar et que 58% ne récoltent que du nectar. Il a établi également que les butineuses partant récolter du nectar n'emportent pas de réserves de miel, alors que celles qui partent récolter du pollen emportent une provision de miel destiné à humecter les pelotes de pollen pour permettre leurs cohésions. Le miel inhibe notamment et rapidement les capacités germinatives du pollen. Ce dernier ramené à la ruche est stocké par les abeilles dans des alvéoles. Tassé par les ouvrières, isolé de l'air par une couche de miel protectrice, y subira une fermentation lactique analogue à un ensilage avant d'être ultérieurement consommé par les jeunes ouvrières.

Il a été par ailleurs, constaté que les ouvrières modifient leurs comportements de butinage avec l'âge mais aussi avec leur état de santé. Les plus jeunes et en bonne santé butinent surtout dans des conditions sûres alors que les plus vieilles ou malades acceptent un butinage plus risqué comme les conditions météorologiques difficiles (Woyciechowski et *al.*, 1998).

De nombreux facteurs influencent la collecte de pollen par les abeilles, notamment la présence du couvain ainsi que les quantités de pollen mis en réserves (Hrassing et Craillsheim, 1998). Une colonie d'abeilles régule de façon précise sa récolte de pollen. Pour ce faire, les butineuses de pollen doivent acquérir chacune des informations concernant les besoins nutritionnels de la colonie.

Camazine (1993), a montré qu'il n'était pas nécessaire que les butineuses de pollen aient un contact direct avec les provisions de pollen pour connaître les besoins de la colonie. Au contraire, l'information semble être obtenue indirectement à partir des autres individus de la colonie. Les nourrices constituent une source potentielle d'information, puisqu'elles sont les premières transformatrices du pollen en le consommant, en le convertissant rapidement en gelée royale (sécrétion protéinique de la glande hypopharyngienne) et en le distribuant aux adultes et aux larves de toute la colonie.

Lorsque la réserve en pollen est bonne les nourrices donnent aux butineuses une grande partie de la gelée nouvellement synthétisée, ces dernières ne poursuivent plus leur récolte de pollen, soit elles se mettent à récolter du nectar, soit elles cessent toute activité de butinage (Camazine et al., 1997).

Les abeilles en manque de nourriture commencent à butiner plutôt que celles ayant été bien nourries (Schulz et al., 1998). La transition des abeilles d'antérieure au butinage dépend de l'état nutritionnel des abeilles, il s'accompagne d'une réduction de la réserve des lipides qui n'est pas rétablie si ces dernières redeviennent nourrices (Toth et al., 2004).

L'hormone juvénile, influence le butinage. En effet, cette hormone augmente chez les abeilles avec leur âge, et elle est en grande quantité lorsque les abeilles deviennent butineuses (Rutz et al., 1976 ; Fluri et al., 1982), et inhibent le butinage précoce des jeunes abeilles (Robinson et al., 1998). La structure en âge de la colonie influence la division des tâches donc dans les colonies n'ayant pas d'abeilles butineuses, les plus jeunes peuvent sortir plus tôt (Huang et al., 1996).

Le pollen étant le seul aliment azoté de la ruche, la qualité et la quantité de pollen récolté conditionnent tous les phénomènes de développement de la colonie d'abeilles. Dans la mesure où l'abeille constitue un animal domestique auquel on demande un certain rendement, il n'est pas indifférent pour son élevage de connaître ses besoins alimentaires (Louveaux, 1958).

II- La communication sociale chez *Apis mellifera*

Dans ce chapitre, nous définirons la communication sociale puis nous aborderons les différents types de communication reconnus chez l'abeille *Apis mellifera*.

La communication est l'émission par un individu d'un stimulus qui provoque une réaction chez un autre individu, la réaction étant bénéfique pour celui qui émet le stimulus, ou pour celui qui le reçoit. La communication peut ainsi avoir lieu entre des individus d'espèces différentes. Chez l'abeille, le terme de communication sociale fait référence aux échanges de signaux entre individus d'une même colonie (Wilson, 1971).

Classiquement deux modes de communication sont distingués, l'un reposant sur les signaux chimiques (les phéromones), l'autre sur les signaux vibratoires (les danses, les émissions sonores). Un troisième mode de communication entre individus a lieu lors des échanges de nourritures ou interactions trophallactiques.

II-1- La communication chimique :

La communication chimique chez les abeilles repose, essentiellement sur les signaux phéromonaux. Les phéromones sont des substances exocrines émises par un individu induisant une réaction comportementale (phéromones incitatrices ou primer) ou modifiant la physiologie d'un congénère (phéromones modificatrices ou releaser) (Winston, 1987).

La sensibilité d'une ouvrière aux phéromones est variable selon son état physiologique et son âge. Ainsi, les ouvrières de quelques jours ont une faible réaction comportementale ou neurophysiologiques aux phéromones d'alarme et aux odeurs produites par la reine, mais de fortes réactions sont visibles chez les ouvrières plus âgées (Winston, 1987).

Du fait de la diversité des activités sociales chez l'abeille, les signaux phéromonaux sont nombreux. Ils peuvent être classés selon les glandes qui les sécrètent, leur composition

chimique ou les individus qui les produisent (la reine, les mâles, les ouvrières adultes et le couvain). Ainsi la reine assure un contrôle très puissant sur les ouvrières, et ses signaux jouent souvent un rôle inhibiteur (du développement ovarien de l'essaimage, í). Au contraire, les phéromones produites par les ouvrières sont surtout incitatrices et agissent lors de l'orientation ou de la défense.

II-1-1 Les phéromones de cohésion sociale :

Ces phéromones sont indispensables pour la cohésion de la colonie. Elles sont synthétisées par la reine, les ouvrières ou le couvain.

II-1-1-1 les phéromones de cour :

Les jeunes ouvrières présentent une sensibilité particulière aux phéromones de cour (Pham-delègue et *al.*, 1982). Elles forment autour de la reine une structure caractéristique, la cour (Allen, 1960). Elles restent plusieurs minutes en contact antennaire avec la reine qu'elles lèchent et nourrissent. Les phéromones royales interviennent dans l'organisation et le maintien de cette cour (**Figure 8**).



Figure 8 : Reine marquée et sa cour .

II-1-1-2 L'orientation vers la colonie :

Les phéromones de Nasanov et les phéromones tarsales, qui servent dans le marquage attractif des fleurs, sont aussi utilisées à l'entrée de la ruche pour guider les butineuses vers le nid (Butler et *al.*, 1969 ; Williams et *al.*, 1981). Les phéromones de Nasanov jouent un rôle pendant l'essaimage lors de l'orientation vers le nouveau site (Free, 1987 ; Schmidt, 1999). Elles agissent en synergie avec les phéromones produites par la reine.

II-1-1-3 L'inhibition de l'essaimage :

La construction de cellules royales est inhibée par les phéromones de la reine. Cependant, la production de phéromones ne varie pas, que ce soit avant ou après l'essaimage (Seeley, 1987). En fait, c'est la distribution des sécrétions qui changent en fonction du nombre d'abeilles dans la colonie. L'encombrement diminue la fréquence de contact entre les ouvrières et la reine (Naumann et *al.*, 1993).

II-1-1-4 Les Soins au couvain :

La reconnaissance des différents types de couvain est indispensable pour permettre un soin et un nourrissage adapté. Les phéromones du couvain sont constituées de dix esters méthyliques et éthyliques. La quantité et la qualité de ces esters constituent un signal chimique caractéristique de l'âge, de la caste et du sexe des larves. Ils stimulent le développement des glandes hypopharyngiennes des nourrices, qui produisent une grande partie des protéines contenues dans l'alimentation larvaire. Les phéromones du couvain sont aussi impliquées dans la stimulation de l'operculation des cellules par les ouvrières (Le conte et *al.*, 1990 et 1995). Enfin, le couvain a un effet sur le développement des ouvrières adultes et stimule de façon importante les activités de récolte de la colonie, en particulier celle du pollen (Free, 1987).

II-1-2 Les phéromones sexuelles :

Les phéromones sexuelles sont synthétisées par les différentes glandes de la reine et accomplissent différents rôles au sein de la colonie, résumés ci-dessous.

II-1-2-1 L'inhibition du développement ovarien des ouvrières :

Les phéromones du couvain et des glandes mandibulaires et tergaux de la reine inhibent le développement ovarien des ouvrières (Pettis et *al.*, 1997; Wossler et *al.*, 1999a). D'autre part, les phéromones sécrétées par la glande de Duffor de la reine lui permettent de marquer ses œufs (Ratnieks, 1995). Ainsi, ces derniers sont reconnus comme ceux de la reine et non ceux d'une autre abeille. Ils ne sont donc pas mangés par les ouvrières lors de leur activité de « policing ».

II-1-2-2 Les phéromones d'attraction sexuelle :

Le vol nuptial de la reine est une des étapes les plus dangereuses de son cycle de vie. La fécondation a lieu en vol à plusieurs mètres du sol. Les mâles doivent donc rapidement localiser la reine. Ainsi, ils sont attirés par les sécrétions des glandes mandibulaires à une distance allant jusqu'à 400 mètres (Loper et *al.*, 1993).

II-1-3 Les phéromones de défense

Ce type de phéromone est produit soit par la reine, soit par les ouvrières. Elles interviennent dans la défense de la colonie.

II-1-3-1 Le recrutement pour la défense

Les ouvrières utilisent de nombreuses phéromones utilisées pour l'alarme et la défense de la colonie (Manchamps et Grandperrin, 1982 ; Allen et *al.*, 1987). Deux substances agissent en synergie pour déclencher les phéromones de défense. L'une est sécrétée par les glandes mandibulaires (2-heptanone) qui apparaît dès l'émergence de l'abeille et atteint un maximum de concentration chez les butineuses (Lensky et Cassier, 1995). Par ailleurs, l'acétate d'isoamyl est produit par les glandes de Koschewnikov (Boch et *al.*, 1962). Cette phéromone apparaît chez l'ouvrière dès l'âge de trois jours et atteint un maximum de concentration au stade de gardienne ou au début de butinage.

Lors de la perturbation de la colonie la gardienne effectue une course rapide vers l'intérieur de la ruche, tout en battant des ailes, son abdomen redressé et la chambre du dard ouverte libérant les phéromones d'alarme (Grandperrin et Cassier, 1983 ; Moore *et al.*, 1987 ; Breed *et al.*, 1990). Ce comportement provoque le recrutement des ouvrières qui vont focaliser leur attaque sur le prédateur (Free, 1977 ; Millor *et al.*, 1999).

II-1-3-2 Les phéromones de stress de la reine

Ces phéromones de stress sont sécrétées par les glandes de Koschewnikov qui sont associées à l'appareil vulnérant de la reine. Elles stimulent chez les ouvrières un comportement de défense, l'emballage (ou balling) et l'attaque (Lensky *et al.*, 1991).

II-1-4 Les phéromones impliquées dans le butinage

Ces phéromones sont synthétisées exclusivement par la caste des ouvrières. Elles interviennent dans le marquage attractif et répulsif des fleurs butinées.

II-1-4-1 Le marquage attractif

Un marquage attractif existe chez les abeilles car 24 heures après une première visite, certaines fleurs déjà butinées sont plus fréquemment visitées que les autres (Stout et Groulson, 2001). La phéromone de Nasanov est sécrétée par une glande située au niveau de la membrane intersegmentaire, entre le sixième et le septième segment abdominal des ouvrières, et dont les mâles et la reine sont dépourvus (Ribbands, 1955). Cette phéromone atteint le maximum de concentration chez les abeilles butineuses âgées de 28 jours. La phéromone de Nasarov et les phéromones tarsales (Williams *et al.*, 1981) permettent aux butineuses de s'orienter vers une source de nourriture de bonne profitabilité et stimule leur atterrissage sur la fleur (Free, 1987). Ces phéromones sont aussi utilisées lors de la collecte de l'eau en été (Free et Williams, 1970) (**Figure 9**).

II-1-4-2 Le marquage répulsif

Les abeilles sont capables de reconnaître et d'éviter les fleurs récemment visitées. Ce marquage leur évite de revenir sur une fleur peu profitable et limite les coûts en énergie et en temps associés à la visite de cette fleur (Nunez, 1967 ; Corbet *et al.*, 1984 ; Free et Williams, 1983 ; Williams, 1998).

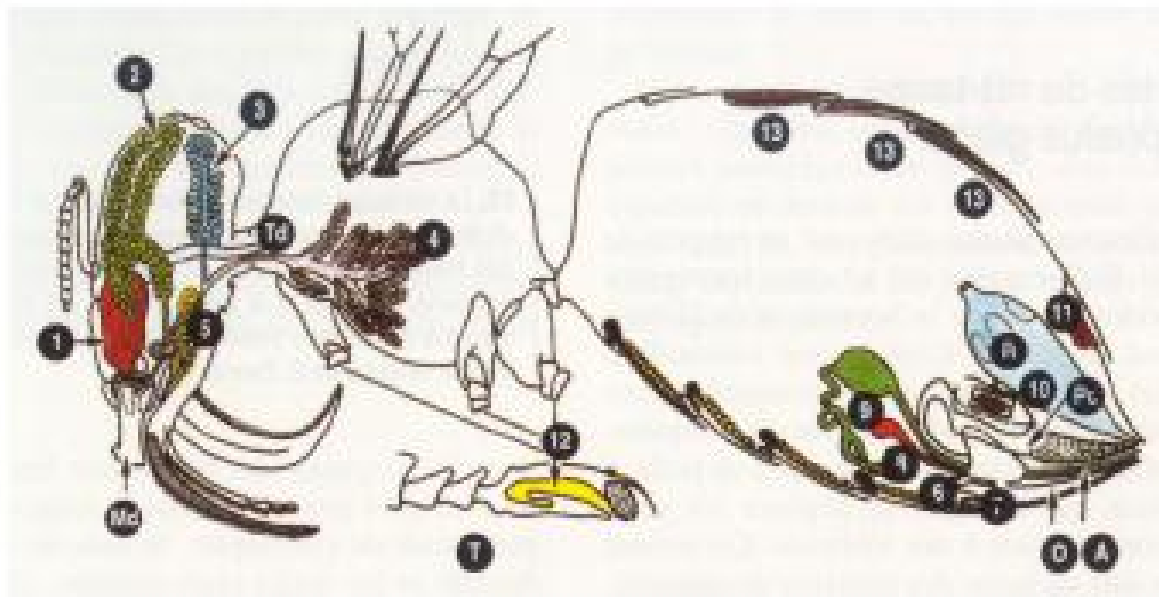


Figure 9 : Coupe schématique d'une abeille avec situation de différentes glandes exocrines. **1** glande mandibulaire (phéromone de cour, ph. Sexuelle, ph. D'alarme, ph. D'orientation). **2** gl. Hypopharyngienne (aliment des larves). **3-4** gl. Labiale (production d'enzymes digestives). **5** gl. Pharyngienne. **6** gl. Cirière (production de cire). **7-8** gl. à poison (sécrétion du venin). **9** gl. de Dufour (phéromone de marquage des ò ufs). **10** gl. de Koschewnikov (phéromone de cour, ph. Sexuelle, ph. de stress, ph. d'alarme). **11** gl. de Nasanov (phéromone de marquage, ph. d'orientation). **12** gl. torsale (phéromone de cour, ph. d'orientation). **13** gl. tergaes (phéromone de cour, ph. sexuelle). **T** tarse. **Md** mandibules. **Td** tube digestif. **R** ampoule rectale. **A** aiguillon. **O** oviducte (**Brossat, 1996 ; Michener, 1974**).

II-2 - La danse

La danse constitue l'un des moyens de communication chez les abeilles. Deux types de danses sont distingués : la danse frétillante et la danse tremblante.

II-2-1 La danse frétillante

Il s'agit sans doute de l'un des modes de communication le plus célèbre chez les animaux.

Chez l'abeille, c'est Karl Von Frisch (1967), qui a pu décoder les paramètres de cette danse. La présence d'une source de nourriture (nectar, pollen, eau) proche de la ruche est indiquée par la danse en rond ou (round dance). La butineuse ne donne pas d'informations sur la position de la ressource (Frisch, 1967a). Lorsque, la source de nourriture est éloignée de plus de 50 mètres environ, la danse en rond se transforme graduellement en danse en huit ou danse frétillante, qui indique aux suiveuses la distance et la direction de la source de nourriture.

II-2-2 La danse tremblante

Un autre type de danse (la danse tremblante) a été signalé par Lindauer (1948) et Frisch (1967a). Ils suspectaient qu'elle jouait un rôle dans la communication. Certaines butineuses effectuent des mouvements vibratoires, des mouvements de rotation et de translation (Seeley, 1992) (**Figure 10**).

Cette danse semble avoir deux effets : un effet activateur sur les déchargeuses, et un effet inhibiteur sur les butineuses et les danseuses. En effet, lorsque les butineuses reviennent chargées de nectar de bonne qualité et ne trouvent pas de déchargeuses, elles commencent une danse tremblante pour stimuler les ouvrières à décharger le nectar (Seeley, 1996).

Parallèlement, à l'effet excitateur sur le recrutement des déchargeuses, la danse tremblante paraît agir comme un rétro contrôle négatif qui inhibe la danse frétillante. Cette inhibition aurait pour but de diminuer le nombre de butineuses incitées à collecter du nectar (Kirchner, 1993b). Ainsi, en cas de saturation de la capacité de déchargement de la colonie, l'ouvrière limite la fréquence ou la durée des danses de recrutement.

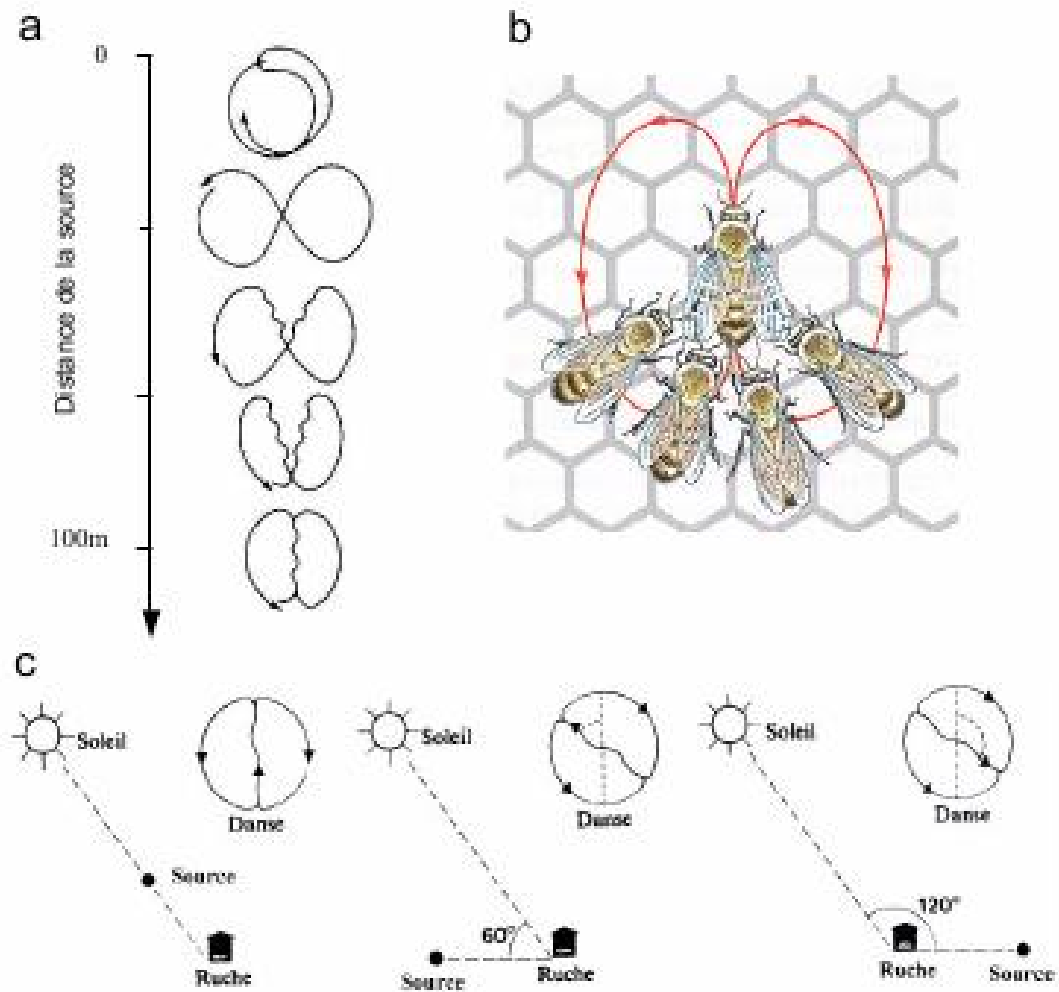


Figure 10: La communication par la danse en huit chez l'abeille.

[a] Quand la source de nectar est proche de la colonie, la danse est non directionnelle (danse en rond).

[b] Une danseuse et quatre suiveuses à l'intérieur de la ruche.

[c] Le codage de la direction.

(Frish, 1967a ; Gould et *al.*, 1988; Louveaux, 1985).

II-3- Les interactions trophallactiques :

La trophallaxie est un échange direct de nourriture entre ouvrières (**Figure 11**), ou entre une ouvrière et la reine (Park, 1923 ; Rösch, 1925). L'abeille « receveuse » sollicite par contacts antennaires et en explorant les pièces buccales de l'abeille « donneuse » au moyen du proboscis.

La trophallaxie est une sorte de communication sociale non dansée. L'échange de nectar incite les butineuses inactives à reprendre leur activité de butinage (Frisch, 1923), et par ce phénomène, elles peuvent évaluer elles mêmes la concentration en sucre du nectar. En outre, les ouvrières ont une mémoire olfactive très développées et les odeurs jouent un rôle essentiel dans leur orientation vers les fleurs (Wenner et Wells, 1990 ; Menzel et *al.*, 1993).



Figure 11 : Echange de nourriture entre 2 abeilles.

III- Le risque d'exposition des abeilles à des produits phytosanitaires

En butinant, les abeilles peuvent s'éloigner à plus de 12km de la ruche, ce qui représente une aire de butinage considérable de plus de 450km². Ainsi, dans une zone d'agriculture intensive, les abeilles sont susceptibles d'être exposées à un grand nombre de molécules toxiques. Dans ce chapitre, nous exposerons les principaux pesticides et molécules néfastes pour l'abeille *Apis mellifera*.

III-1 - Les pesticides

Les composés chimiques provoquant des intoxication dans le cheptel apicole changent de nature selon l'évolution des pratiques phytosanitaires dans le monde agricole.

Le premier empoisonnement de ruche par les insecticides aurait été constaté à la fin du XIX^{ème} siècle aux Etats-Unis (Johansen, 1977). Les matières actives alors utilisées étaient souvent d'origine minérale et peu sélectives, telle que l'arsenic. Il a ainsi été démontré que le pollen contaminé à l'arsenic induisait le dépeuplement des colonies (Eckert, 1935).

III-1-1 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 (Kevain, 1975-1977 ; Johanssen, 1977 ; Siebert, 1980).

III-1-2 Les carbamates et les pyréthrinoïdes de synthèse

Les carbamates correspondent à la troisième famille d'insecticides synthétiques qui furent développés vers les années 60.

Pour l'année 1967, Louveaux (1985) a rapporté que sont estimés à 500 000 le nombre de colonies d'abeilles détruites aux Etats-Unis par les traitements phytosanitaires et principalement par le carbaryl.

Les recherches faites sur les extraits de fleurs de pyrèthre (pyréthrines naturelles), qui sont instables à la lumière, ont conduit au développement de pyréthrinoïdes de synthèse photostables. Les pyréthrinoïdes seraient en partie impliqués dans de nombreux cas d'affaiblissements de ruches (Fléché, 1994). Les pyréthrinoïdes sont peu rémanents et ont un puissant effet paralysant (effet knock down). De plus, la synergie reconnue de certains insecticides pyréthrinoïdes et de fongicides imidazoles et triazoles (Colin et Belzunces, 1992) a provoqué la destruction de nombreuses ruches françaises à la suite de l'emploi simultané de ces composés (Doussau, 1989).

III-1-3 Les nouvelles molécules insecticides

L'utilisation intensive des insecticides dans l'agriculture mondiale a engendré des phénomènes de résistance envers ces familles d'insecticides chez les insectes ravageurs (Hervé, 1982). Il a été donc nécessaire de développer de nouvelles molécules insecticides ayant un mode d'action pharmacologique différent des anciennes molécules. A partir des années 80, sont synthétisées de nouvelles molécules ayant une action au stade larvaire, tels que les analogues de l'hormone juvénile (méthoprène), les inhibiteurs de mûes (diflubenzuron) ou une action sur les récepteurs nicotiques de l'acétylcholine, tels que les néonicotinoïdes (dont l'imidaclopride est le premier représentant). Ces insecticides agissent à de très faibles doses et peuvent produire des effets sublétaux plus marqués que ceux de l'ancienne génération (Stark et *al.*, 1998).

III-2 - Les produits de transgène

La lutte contre les ravageurs des cultures passe aussi par l'utilisation de plantes génétiquement modifiées. Le développement de plantes transgéniques résistantes aux insectes repose sur la copie (nature copy) de résistance existante (Boulter, 1993). En effet, de nombreux gènes codant pour des protéines insecticides existent dans la nature et peuvent être exprimés dans des plantes transgéniques.

Ces types de gènes les plus répandus sont ceux codant pour les endotoxines de *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) qui est un véritable réservoir d'insecticides (Wolt et al., 2003).

Des gènes dérivés des plantes, notamment ceux qui codent pour les protéines et possédant des propriétés anti-nutritionnelles, les inhibiteurs de protéases (Hilder et al., 1987). Des essais au laboratoire ont montré que des inhibiteurs de protéases altéraient la survie, la physiologie digestive et les capacités d'apprentissage des abeilles (Girard et al., 1998, Pham-délégue et al., 2000).

III-3 - Les différents effets des insecticides

Pendant longtemps, l'estimation des effets des produits chimiques sur les arthropodes au laboratoire était la détermination de la dose létale 50 (DL_{50}), la dose qui tue 50% des effectifs. Elle est déterminée au laboratoire donc en conditions expérimentales contrôlées sans tenir compte des effets sublétaux (Croft, 1990).

Les tests de toxicité sont classés selon deux grands critères :

Le premier est relatif à la durée d'exposition. Celle-ci peut être aiguë (administration ponctuelle d'une dose unique), chronique (administration de faibles doses, répétée durant un cycle de vie d'une ouvrière) ou sub-chronique (administration de faibles doses répétée sur moins d'un cycle de vie) ;

Le deuxième critère est relatif aux effets biologiques mesurés : Létaux (induisant la mort de l'individu exposé) ou sublétaux (tout effet biologique mesurable qui n'aboutit pas la mort de l'individu exposé) (Monarty, 1969).

La majorité des études d'impact des produits phytopharmaceutiques sur l'abeille, portent essentiellement sur les effets létaux aigus et sous-estiment l'exposition chronique et les effets sublétaux (Devillers et Doré, 2000 ; Decourtye, 2002). Or les abeilles peuvent être exposées de manière répétée à de faibles quantités de toxiques sur les cultures ou à la ruche. De nombreux travaux ont rapporté des cas d'accumulation dans la ruche de molécules insecticides, par l'intermédiaire d'une contamination du pollen ou du nectar (Decourtye, 2002).

Chez l'abeille, l'étude toxicologique d'une substance active à doses sublétales permet d'évaluer la toxicité et les effets sur le comportement, la physiologie et la biochimie de ces insectes.

III-3-1 Les effets sublétaux physiologiques

Les insecticides ou les entomotoxines issus de transgènes peuvent affecter le métabolisme glucidique, lipidique ou enzymatique des ouvrières (Bounias et *al.*, 1985 ; Bendahou et *al.*, 1999), l'intensité de la ponte de la reine (Lensing, 1987), ou le développement des larves (Stoner et *al.*, 1982 ; Staner et Wilson, 1982 ; Oomen et *al.*, 1992).

Après l'injection au laboratoire du fénitrothion (organophosphoré) et de la cyperméthrine (pyréthriné) à de jeunes abeilles, il y a une diminution des activités au niveau du Na^+/K^+ ATPase et de l'acétylcholinérase (Aché) (Bendahou et *al.*, 1999).

L'intoxication orale, avec du diflubenzuron de jeunes abeilles ouvrières, réduit la surface du couvain (Chandel et *al.*, 1992), quant au Fenoxycarbe, il se traduit par des malformations des larves (Deruijter, 1987).

Les régulateurs de croissance des insectes peuvent avoir des effets physiologiques sur des abeilles adultes, notamment sur les organes de sécrétion. De jeunes abeilles (*Apis mellifera* et *Apis cerana*) qui émergent et traitées avec du diflubenzuron présentent des glandes hypopharyngiennes non développées (Gupta, 1995).

Chez l'abeille mellifère, l'exposition prolongée à des toxiques à travers les aliments emmagasinés est déterminée par l'étude du transfert des insecticides des récoltes dans la ruche (Villa et *al.*, 2000).

III-3-2 Les effets sublétaux comportementaux

De nombreux travaux ont décrit des modifications du comportement des ouvrières au sein de la colonie et tout particulièrement un bouleversement des tâches effectuées, tels que le nourrissage ou l'operculation des larves (Barker et Waller, 1978 ; Stoner et *al.*, 1982 ; Cox et Wilson, 1987), l'élevage des reines (Naunamaker et *al.*, 1984) ainsi que le nettoyage ou la défense de la colonie (Nation et *al.*, 1986).

Des effets sur le comportement de butinage ont été mis en évidence que ce soit lors d'études sur plantes entières (Free et *al.*, 1967 ; Fell et *al.*, 1983 ; Fries et Wibran, 1987) ou sur des sources artificielles (Cox et Wilson, 1984 ; Colin et *al.*, 2000 ; Schmuck et *al.*, 2001).

Il a été constaté notamment, un effet répulsif qui correspond à un arrêt ou à une importante diminution de l'activité de butinage (Bocquet et *al.*, 1980 ; Pike et *al.*, 1982 ; Faucon et *al.*, 1985). L'activité de vol à l'entrée de la ruche (Shires et *al.*, 1984 ; Struye et *al.*, 1994), la communication par les danses (Schnicker et Stephen, 1970 ; Stephen et Schnicker, 1970), l'orientation du vol de retour à la ruche (Cox et Wilson, 1984 ; Vandame et *al.*, 1995) ainsi que l'apprentissage (Mamood et Waller, 1990 ; Abramson et *al.*, 1999 ; Guez et *al.*, 2001) peuvent aussi être modifiés.

Les effets des insecticides sur la mobilité des arthropodes bénéfiques sont caractérisés par l'effet de Knock down (paralyse) (Cox et *al.*, 1987 ; Suchail et *al.*, 2001) et par des mouvements non coordonnés (Bruner et *al.*, 2001 ; Alix et *al.*, 2001). Les insectes traités tremblent, tournent et se lèchent (Suchail, 2001).

L'abeille mellifère utilise des repères visuels pour voler et communiquer à ses consœurs la direction et les distances de la source de la nourriture (Frish, 1967). Des abeilles butineuses traitées par voie topique, à des doses sublétales avec de la delta-méthrine, ne peuvent pas retourner dans leurs ruches (Vandame et *al.*, 1995).

Des abeilles traitées avec des doses de 0,08 à 0,16 ppm de deltaméthrine par voie topique consomment plus de sirop, alors qu'avec les mêmes doses de ce même insecticide mais par voie orale provoque une diminution de la consommation de sirop (Tasei et *al.*, 1994).

Les effets des insecticides sur les processus d'apprentissage chez les abeilles ont été largement étudiés (**Tableau 3**).

Tableau 3 : Effets sublétaux des insecticides sur le comportement des abeilles.

(Halitiana, 2003).

Effets sub-létaux	Matières actives	Doses	Références	
Effets sur la capacité d'orientation				
Changement de repère	Deltaméthrine	2,5 ng/ab	Vandame <i>et al.</i> , 1994	
Les abeilles recrutées ont des informations erronées lors de l'interprétation de la danse des abeilles traitées	Parathion	0,015 µg/ab	Stephen & Schriker, 1970	
Pas de changement de comportement de butinage évident		0,03 µg/ab	Schricker & Stephen, 1970	
Effet sur la mémoire du temps entraînant un avancement du temps de visites de la source de nourriture		Très faible (inf. à 0,03 gammas)		Schricker, 1974 b
Fausse interprétation des informations acquises lors la danse frétilante				Schricker, 1974 a
Rétablissement de la danse après quelques heures				
Diminution de la durée de récolte de nourriture, augmentation du temps de toilettage, de la durée de la danse frétilante et des rotations	Permethrine	0,009 µg/ab	Cox & Wilson, 1984	
Perte de la capacité de vol et de la plupart des activités, comme la cessation de collecte de pollen.	Orthene® : acephate Sevin® : carbaryl		Johansen, 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'effets sur la capacité d'apprentissage si conditionnement discriminatif	Dicofol	10µl/ 16 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	0,015 mg/20 ab	Mamood & Waller, 1990	
Effets sur la capacité à mémoriser par association mais pas d'effets sur la capacité à utiliser la mémoire olfactive, si exposition entre le conditionnement et le test				
Rétablissement de la capacité d'apprentissage 4 jours après traitement				
Inhibition de l'acquisition, et extinction très accélérée	Endosulfan		Abramson <i>et al.</i> , 1999	
Faible réduction de l'acquisition, mais extinction accélérée	Décis® : Deltamethrine			
Diminution des performances d'apprentissage olfactif, diminution de la sensibilité antennaire	Endosulfan	0,13 ; 0,25 ; 1,30 ng/ab	Decourtye <i>et al.</i> , 2000	
Diminution de la discrimination olfactive au niveau de sources de butinage	Imidaclopride	0,05 ; 0,1 ; 0,50 ng/ab		
Effets sur les réponses au conditionnement olfactif (classement d'effets par ordre croissant : fluvalinate : peu d'effet par rapport à flucythrinate)	Fluvalinate> Cypermethrine, Permethrine, fenvalerate> Cyfluthrine>	CL50	Taylor <i>et al.</i> , 1987	

L'apprentissage chez les abeilles est un processus très important lors du butinage. Lorsqu'une abeille se pose sur une fleur, elle doit mémoriser l'odeur, la couleur et la forme pour les associer à la nourriture (Menzel, 1996), ceci lui permettra de la reconnaître durant les autres voyages (Menzel, 1993).

Les importantes pertes des pollinisateurs sont attribués aux insecticides (O'Toolec, 1996), les abeilles mellifères peuvent être utilisées comme des bioindicateurs donc détecter les pollutions de l'environnement (Kevan, 1999).

Chez l'abeille mellifère, les pesticides affectent l'organisation sociale par la réduction du butinage, du couvain, de la fertilité de la reine ce qui induira la disparition de toute la colonie.

IV- L'imidaclopride

Pour lutter contre les ravages des insectes sur les cultures, l'industrie chimique a mis au point de nombreux insecticides. Ils agissent à de très faibles doses et ont souvent été conçus pour avoir une plus grande affinité pour le système nerveux des insectes que pour celui des mammifères. Ces insecticides ont la propriété de diffuser durant la croissance, via la sève dans toute la plante. Les pesticides ayant cette propriété de diffusion sont appelés systémiques. L'imidaclopride est l'une des molécules incriminées dans la disparition de nombreuses populations d'*Apis mellifera*. En effet, les analyses des pollens de tournesol et de maïs issus de graines traitées avec le Gaucho ont révélé des concentrations moyennes d'imidaclopride de l'ordre de 3 µg/kg (Bonmatin *et al.*, 2003 ; Bonmatin *et al.*, 2005).

IV-1- La présentation de la molécule

L'imidaclopride ou 1-[(6-chlore-3-pyridinyl)méthyl]-4,5-Dihydro-N-nitro,1H-Imidazol-2-amine a un poids moléculaire de 255,66. Sa formule développée est représentée dans la figure 12.

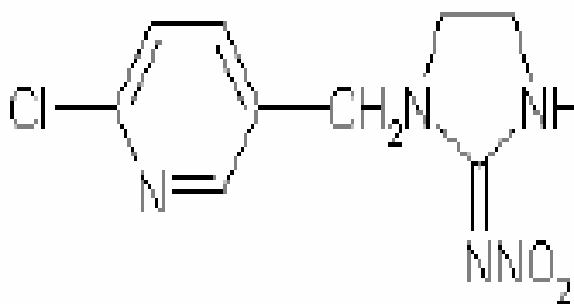


Figure 12 : Formule développée de l'imidaclopride.

L'imidaclopride rentre dans la composition de nombreux insecticides comme le Gaucho®, l'Admire®, l'Intercept®, le Premise®, le Merit®, l'Advantage® et le Confidor.

Il est utilisé pour l'enrobage des semences ou pour la pulvérisation des cultures. Il a pour cible les insectes ravageurs incluant les sauterelles, pucerons, mouches, termites, coccinelles, les insectes de l'herbe et du sol (Moriya et *al.*, 1992). Il est commercialisé en France depuis 1994 et est largement répandu dans le monde entier, notamment pour les cultures de riz, de céréales, du maïs, du tournesol, des pommes de terre, des légumes, des arbres fruitiers et même pour les plantes d'ornementation.

L'imidaclopride est un néonicotinoïde agissant sur le système nerveux central par le biais des récepteurs post-synaptiques. Il cible les récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine (nAChR) provoquant une accumulation de ce neuromédiateur (Bai et *al.*, 1991 ; Yamamoto et *al.*, 1995). Ceci conduit à des tremblements musculaires, à une incoordination motrice, à la paralysie puis à la mort de l'insecte à brève échéance (Buckingham et *al.*, 1997). Les tests de toxicité aigues ont permis de classer l'imidaclopride comme très toxique pour les abeilles (Dresher, 1990).

IV-2- La métabolisation et métabolites de l'imidaclopride

A l'instar de toutes les molécules toxiques pour un organisme donné, l'imidaclopride est métabolisé par l'organisme où il est introduit. Bien qu'il soit difficile de connaître l'ensemble des métabolites qui en découlent, quelques-uns des principaux métabolites de l'imidaclopride sont connus et représentés sur la figure 13.

Les différents métabolites de l'imidaclopride sont : le 5-hydroxy-imidaclopride (5.OH), le 4,5-dihydroxy-imidaclopride (4,5-OH), l'oxéfine, l'acide G-chloronicotinique 6-ACN) et les dérivés guanidine et urée (Suchail et *al.*, 2003).

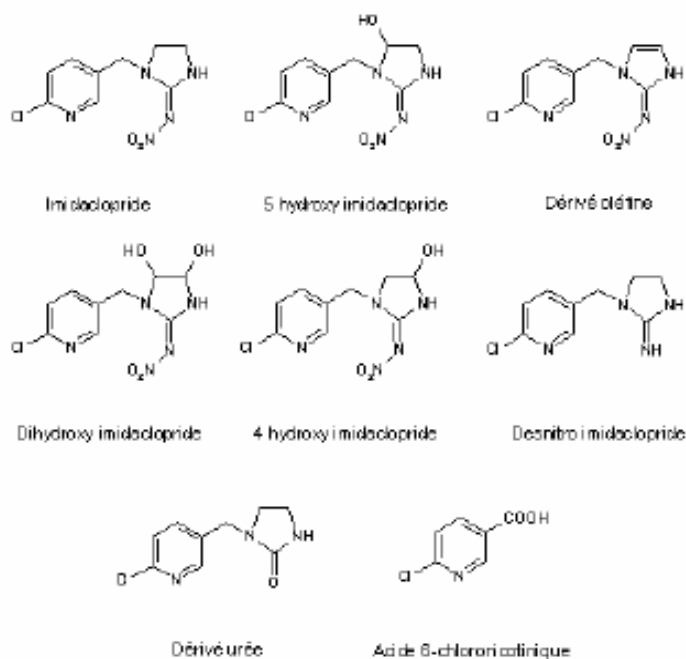


Figure 13 : Imidaclopride et ses principaux métabolites

Selon les travaux de Suchail et *al.* (2003), il apparaît comme le montre le tableau 4 que seuls deux métabolites de l'imidaclopride sont toxiques après une intoxication aigüe : le 5-hydroxy-imidaclopride (5.OH) et l'oléfine. Le 5-OH est moins toxique que l'imidaclopride alors que l'oléfine possède une toxicité comparable à celle du produit parent. Les autres métabolites ne sont toxiques qu'au-dessus de 10000 μ g/kg d'abeilles.

Tableau 4 : DL50 en imidaclopride à 48h (μ g/kg d'abeilles, moyenne \pm erreur standard)

(Suchail et *al.*, 2003).

Imidaclopride	5-OH	Oléfine	4,5-OH	Guanidine	6-ACN	Urée
570 \pm 280	2580 \pm 70	280 \pm 190	>10000	>10000	>10000	>10000

IV-3- Les effets de l'imidaclopride chez les abeilles

L'imidaclopride est très toxique pour les abeilles. La DL_{50} (orale) est observée diffère d'une étude à une autre. En effet, elle est de 49 et 102 ng/abeille pour Nauen et *al.* (2001), 3,7 et 40,9 ng/abeille pour Schmuck et *al.* (2001), 5 ng/abeille pour Suchail et *al.* (2001) ou 40 à 60 ng/abeille pour Suchail et *al.* (2001). La DL_{50} (par contact) est de 24 ng/abeille à 24 et 48h (Suchail et *al.*, 2001).

La toxicité peut être également évaluée chez l'abeille au niveau subléta, c'est-à-dire s'agissant des doses qui induisent des effets délétères sans provoquer la mort directe. Ces effets sublétaux qui peuvent entraîner des modifications au niveau comportemental physiologique ou biochimique ne sont pas à négliger car ils peuvent avoir des conséquences graves à l'échelle des colonies d'abeilles. Des troubles de l'orientation spatiale des ouvrières ont été aussi constatés avec pour conséquence l'impossibilité de transmettre la localisation d'une source de nourriture à leurs congénères (Vandame et *al.*, 1995). Ainsi que la diminution du butinage (**figure 14**).

L'imidaclopride administré à une dose de 24 $\mu\text{g}/\text{kg}$ d'abeilles induit une baisse de butinage et affecte négativement l'apprentissage olfactif du réflexe de l'extension du proboscis (R.E.P.). L'étude de la capacité d'apprentissage olfactive chez les abeilles ainsi que la mémoire, qui sont très importants pour leur comportement lors du butinage, repose sur l'utilisation de la procédure de l'extension du proboscis, (Bittermane et *al.*, 1983 ; Brands et *al.*, 1988 ; Getz et Smith, 1991 ; Menzel et *al.*, 1993 ; Sandoz et *al.*, 1995).

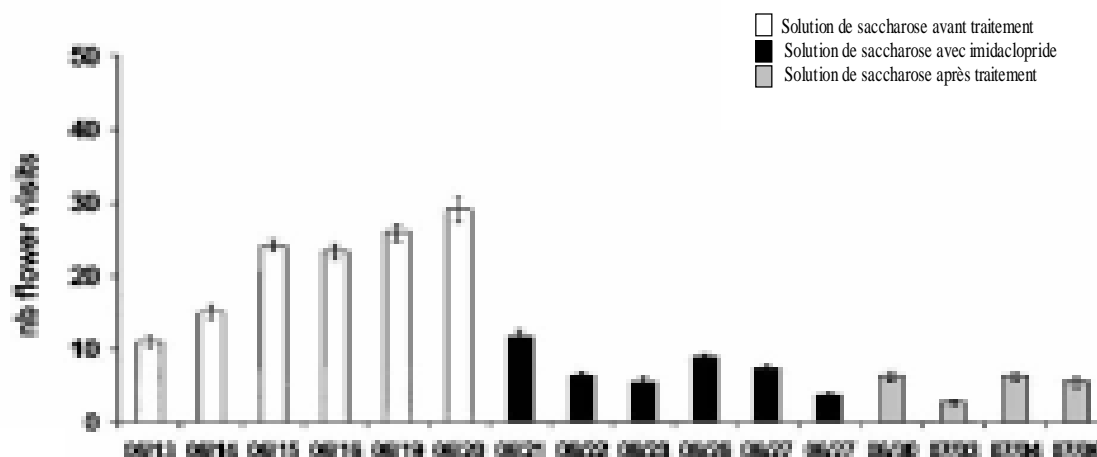


Figure 14 : Effets de l'imidaclopride sur l'activité de butinage.

Decourtey (2003).

Il a été noté aussi des altérations morphologiques et physiologiques, comme la malformation des ailes ou la diminution de la croissance qui sont toutes aussi importantes (Atkins et Kellum, 1986). Enfin, des désordres biochimiques comme, le déclenchement d'une hypoglycémie peuvent aussi avoir des conséquences néfastes pour la colonie d'abeilles (Bendahou et *al.*, 1999).

Les pesticides en général ont des effets sur le comportement des abeilles, qui peuvent affecter le développement de la colonie (Waller et *al.*, 1984 ; Bendahou et *al.*, 1999 ; Decourtye et *al.*, 2004a). En effet, l'administration de l'imidaclopride à une dose 24 µg/kg d'abeilles n'entraîne pas de mortalité, en revanche il réduit la surface du couvain operculé qui est irrégulier ainsi que les quantités de pollen et de miel mis en réserve. (**Tableau 5**).

Tableau 5 : Effets de l'imidaclopride sur le développement de la colonie.

(Decourtye et *al.*, 2003).

Parameters	Imidacloprid		
	Before treatment (21/06/00) ^a	Treatment (28/06/00)	Afer treatment (07/07/00)
Comb area containing capped			
Brood			
(cm ²)	850.5 ^b	966.8	534.0
Eggs	+ ^c	+	+
Larvae	+	+	+
Uncapped honey	+	+	0
Capped honey	+	+	+
Pollen	+	+	0
Remarks			Irregular brood

^aDate de la visite de contrôle de la colonie

^bSurface de couvain calculée par la méthode de (*Fresnaye and Lensky, 1961*)

^cSymbole qui indique la présence du paramètre considéré.

D'autres effets de l'imidaclopride ont été observés, lors de l'exposition orale chronique des abeilles à 4 µg/kg d'abeilles pendant 11 jours, notamment la réduction du recrutement pour le butinage ainsi qu'une diminution de la reconnaissance des congénères (Pharm-Delègue et *al.*, 1999). La communication sociale (dances) est perturbée avec une exposition à 12 µg/kg d'abeilles (Gromisz et *al.*, 1996) (**Tableau 6**).

Tableau 6 : Synthèse des effets de l'imidaclopride rapportés par plusieurs auteurs.

DL50 orale (ng/ab)	Exposition orale chronique (g/kg)	Effets	Application sur plante	Résidus (g/kg) Pollen/nectar	Risques	Auteurs et année
3,7 - 41	2-20 (39j)	Pas d'effet sur le développement des colonies en tunnel				1 ; Schmuck, R. Schoning, R. Stork, A. Schramel, O. 2001
5						2 ; Suchail, S. Guez, D. Belzunces, L.P. 2000
57	0,1 (10 j) 1 (7j) 10 (7j)	50% de mortalité des ouvrières			Comportement similaire des ruches sur champ témoin et champ traité	3 ; Suchail, S. Guez, D. Belzunces, L.P., 2001
	4(11 j) 6 8 (11j) 50	réduction réaction d'extension conditionnée du proboscis (ECP) Réduction durée visite sirop mortalité significative recrutement réduit et diminution de la reconnaissance des congénères	Tournesol 0,7 mg/graine			4 ; Pham-Delegue, M.H., Cluzeau S. 1999
30	1,5 (oléfine) 3 2,8 (11j) 22-45 (11j) 24 6	arrêt butinage (effet : 55%) arrêt butinage (effet: 10%) mortalité pas de mortalité pas d'effet sur réaction ECP (abeille hiver) pas d'effet sur réaction ECP (abeille printemps)		3 (pollen) 2 (nectar)		5 ; Thybaud E., 2000
	3 6 12 20	reduction 30% prise sirop reduction 20% prise sirop reduction reaction ECP trouble dans communication sociale (dances)	Tournesol non traité, après culture traitée	< 1,5 (pollen) < 0,1 (nectar)	Sur culture non traitée, on considère qu'il n'y a pas d'exposition des abeilles malgré persistance de la substance dans le sol	6 ; Gromisz, M. Gromisz, Z. 1996

Introduction à la partie expérimentale

Ce travail est réalisé dans le cadre du projet de recherche en écotoxicologie intitulé les effets de l'imidaclopride sur les abeilles. Ce projet est dirigé par Monsieur Mohammedi Arezki, Maître de conférences à l'université Mohamed Bouguera de Boumerdes.

Dans cette partie expérimentale, nous avons réalisé trois essais différents relatifs à l'impact de l'imidaclopride sur trois critères physiologiques de l'abeille domestique *Apis mellifera intermissa*.

Le premier essai a concerné l'effet de l'imidaclopride sur la production de cire par les ouvrières des abeilles *Apis mellifera intermissa*. Le second a traité le développement des glandes hypopharyngiennes en présence de cet insecticide. Dans la dernière expérience, nous avons testé cette molécule sur le poids des reines et le diamètre de leurs spermathèques.

Comme les trois essais sont distincts, nous avons présenté pour chacun respectivement, le matériel et méthodes utilisés, les résultats obtenus puis la discussion.

Essai I- Effets de l'imidaclopride sur la production de cire

L'objectif de cette première partie est de tester l'effet des doses sublétales de l'imidaclopride sur la production de cire par les abeilles *Apis mellifera intermissa* en conditions contrôlées (au laboratoire).

I-1- Matériel et méthodes

I-1-1- Insecticide :

L'insecticide testé est le « Confidor[®] Supra » renfermant 70% de matière active qui est l'imidaclopride, il est produit par la firme allemande Bayer (**Figure 15**). Il est très utilisé pour les cultures maraîchères et les plantes ornementales.

Nous avons au préalable déterminé la DL₅₀ orale dose létale tuant 50% des effectifs en 48 heures qui n'est pas connue pour la race d'abeilles *Apis mellifera intermissa*. Pour ce faire, nous avons déterminé la concentration par calcul à partir de données bibliographiques.

La concentration du sirop en « Confidor[®] Supra 700 » est de 4.95 mg/l de sirop, ce qui correspond à 3,43 mg d'imidaclopride dans un litre de sirop. La DL₅₀ à 48h pour *Apis mellifera intermissa* est donc de 3,43ng/abeille.

Les concentrations en cet insecticide testées sont au nombre de trois. La plus élevée étant celle qui correspond à la DL₅₀ déterminée 48h après l'ingestion divisée par 20. D'après les résultats d'une étude antérieure (Decourtey et *al.*, 2003) cette dose est dans l'intervalle des doses sublétales.



Figure 15 : Produit testé.



Figure 16 : Cadre de couvain fermé avec des abeilles naissantes.
(Originale (2009)).

Les différentes doses en imidaclopride que nous avons testées sur les abeilles *Apis mellifera intermissa* sont :

- 0,049 mg confidor/litre sirop correspond à 0,0343 mg d'imidaclopride/l (D1).
- 0,12 mg confidor/litre sirop correspond à 0,084 mg d'imidaclopride/l (D2).
- 0,25 mg confidor/litre sirop correspond à 0,175 mg d'imidaclopride/l (D3).

I-1-2 Matériel biologique :

Les expériences sont réalisées avec des abeilles ouvrières de la race *Apis mellifera intermissa* du rucher de la faculté des sciences biologiques et des sciences agronomiques de l'université de Tizi Ouzou (UMMTO). L'abeille appartient à l'embranchement des arthropodes, à la classe des insectes, à l'ordre des hyménoptères, à la famille des apidae, au genre *apis* et l'espèce *apis mellifera*.

Avant le début des expériences, les ruches sont traitées contre le varroa avec du Bayvarol en respectant la durée, la dose ainsi que la période du traitement. Un cadre de couvain fermé (**Figure 16**) est choisi au hasard, puis maintenu à l'étuve à 32°C.

Les abeilles naissantes sont mises en cagette à raison de 100 abeilles/cagette. Les cagettes utilisées sont de type Pain auxquelles nous avons collé à leurs plafond avec de la paraffine un rectangle de cire de dimension 7 cm x 4 cm qui pèse 2 g (**Figure 17**).

Les deux premiers jours, les abeilles sont nourries avec une solution sucrée de saccharose 50% (volume/volume). Elles sont par la suite nourries avec du sirop contaminé ou non (témoins) avec l'insecticide pendant 13 jours consécutifs. Les nourrisseurs (tubes *Falcon*) sont renouvelés quotidiennement. Les cagettes sont maintenues à l'étuve (32°C ± 2°C, 60% d'humidité relative et à l'obscurité), jusqu'au 15^{ème} jour d'âge où le pic de la production cirière a lieu.

I-2- Protocole expérimental :

L'insecticide est mélangé à un litre de sirop contenu dans un *erlen meyer* afin de bien homogénéiser la solution, nous avons utilisé un agitateur. Les solutions sont stockées à 4°C.

Chaque jour la solution de saccharose des cagettes est renouvelée. La mortalité ainsi que la consommation du sirop sont relevées. Les abeilles mortes sont prélevées. Le nombre de cagettes témoins est de 12, et pour chaque dose nous avons 4 cagettes répétées 3 fois soit 12 cagettes expérimentales /dose utilisée.

Au 15^{ème} jour d'âge les cagettes sont mises au congélateur pendant 10 minutes afin de tuer rapidement les abeilles. Les rectangles de cire sont alors récupérés, trempés dans de l'eau afin d'éliminer d'éventuelles réserves de sirop et de pollen, séchés à l'air libre puis repesés (**Figure 18 A et B**).

De chaque cagette, ont été prélevées au hasard dix abeilles. Chaque abeille est maintenue entre deux épingle dans une boîte de Petri contenant de la cire, la face abdominale en haut. A l'aide d'une pince nous avons prélevé et compté le nombre d'écaillés de cire sous une loupe binoculaire (**Figure 19 A et B**).

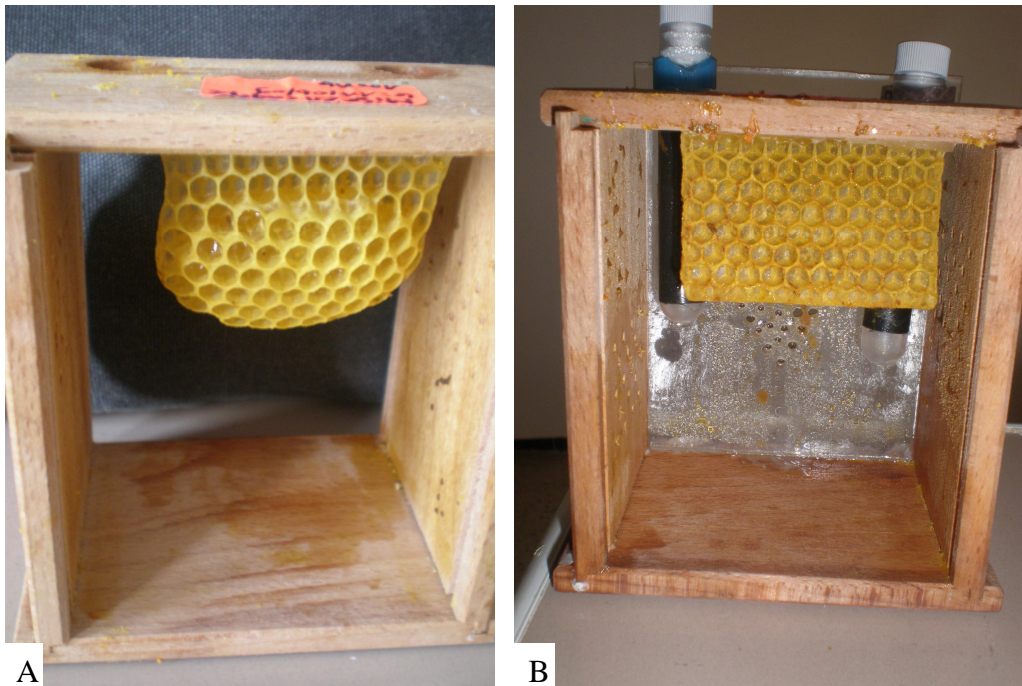
I-3- Analyse statistique :

Pour chaque dose, les mortalités cumulées, les quantités de sirop absorbées, les quantités d'imidaclopride ingérées, ainsi que le poids de cire sont analysés par le logiciel SPSS Statistics version 17.0. Nous avons effectué des tests de la variance (ANOVA). Les différences sont considérées significatives pour $p < 0,05$ et hautement significatives pour $p < 0,01$. Il a été aussi utile de vérifier par le test de corrélation, les relations entre les quantités d'imidaclopride ingérées et la production de cire.

Les valeurs de la mortalité sont des valeurs quantitatives, afin d'effectuer le test du Khi-deux, nous les avons transformées en variables qualitatives à l'aide du tableau croisé.



Figure 17 : Cagette Pain. (Originale(2009)).



A

B

Figure 18 : Cagettes à la fin des expériences . (Originales (2009)).

A : Cire bien étirée.

B : Cire non étirée.

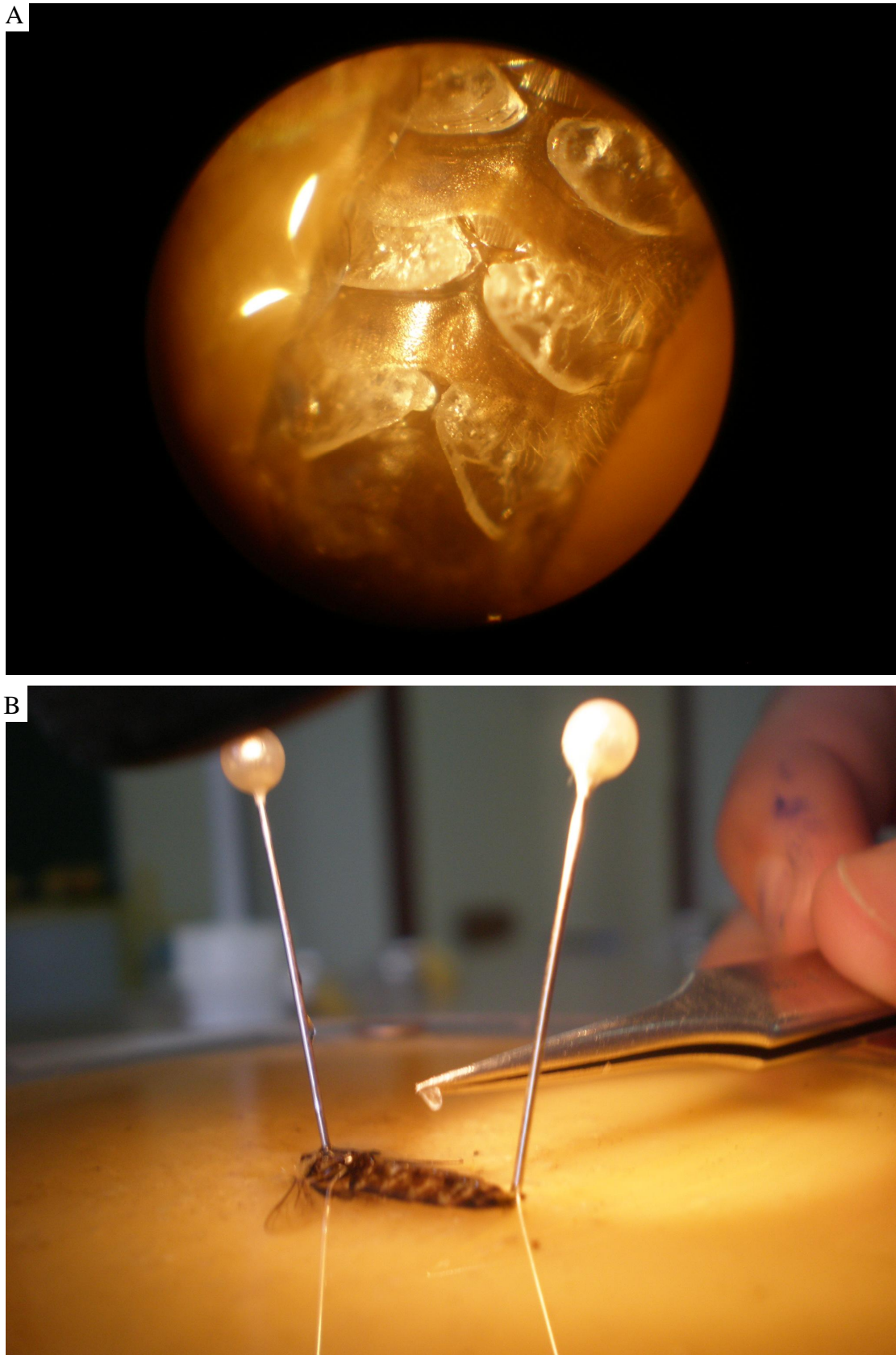


Figure 19 : A Lamelles de cire sous les sternites d'une abeille cirière.
B Prélèvement d'une lamelle de cire. (Originales (2009)).

I-4- Résultats

Les résultats obtenus pour chacun des facteurs étudiés à savoir la mortalité chronique, la consommation du sirop, les quantités d'imidaclopride ingéré, les quantités de cire produite et le nombre de lamelles cirières sont soumis à une analyse statistique effectuée avec le logiciel SPSS Statistics V 17.0.

I-4-1 Mortalité chronique :

L'ingestion quotidienne durant 13 jours d'imidaclopride n'a pas engendré des mortalités plus importantes que celle des témoins.

Les mortalités enregistrées pour le lot témoin varient de 1 à 27 abeilles avec une moyenne de 11,61. Pour la dose 0,0343 mg d'imidaclopride/litre de sirop, elles se situent entre 1,92 et 31,73 abeilles (M=12,82). Il convient de remarquer que pour la deuxième dose (0,084 mg d'imidaclopride/litre), les mortalités sont comprises entre 2 et 16 abeilles avec une moyenne de 10. Alors qu'elles sont, pour la dose de 0,175 mg d'imidaclopride/litre, de 1 à 37 abeilles (M=12,5). (**Tableau 7** et **Figure 20**).

Tableau 7: Mortalité en fonction de la dose.

Témoin		0,0343 mg imidaclopride/litre sirop (D1)		0,084 mg imidaclopride/litre sirop (D2)		0,175 mg imidaclopride/litre sirop (D3)	
Cagette	Mortalité (%)	Cagette	Mortalité (%)	Cagette	Mortalité (%)	Cagette	Mortalité (%)
A	9,62	1	8,65	1ø	2,00	1øø	9,00
B	24,04	2	1,92	2ø	11,00	2øø	14,00
C	8,65	3	5,77	3ø	9,00	3øø	8,00
D	27,00	4	18,27	4ø	7,00	4øø	23,00
E	4,00	5	23,08	5ø	6,00	5øø	32,00
F	4,00	6	31,73	6ø	9,00	6øø	37,00
G	1,00	7	12,50	7ø	16,00	7øø	3,00
H	7,00	8	7,69	8ø	4,00	8øø	6,00
I	7,00	9	30,77	9ø	16,00	9øø	1,00
J	10,00	10	1,92	10ø	16,00	10øø	3,00
K	13,00	11	5,77	11ø	16,00	11øø	2,00
L	24,00	12	5,77	12ø	8,00	12øø	12,00
Moyenne	11,61	Moyenne	12,82	Moyenne	10	Moyenne	12,5

En effet, le test de Khi-deux n'a pas montré un taux de mortalité différent significativement entre les lots d'abeilles traités et les lots témoins ($\chi^2 = 17,26$; ddl = 15 ; $p > 0,05$). De ce fait, les doses testées sont donc sublétales ce qui est recherchée dans le cadre de notre travail.

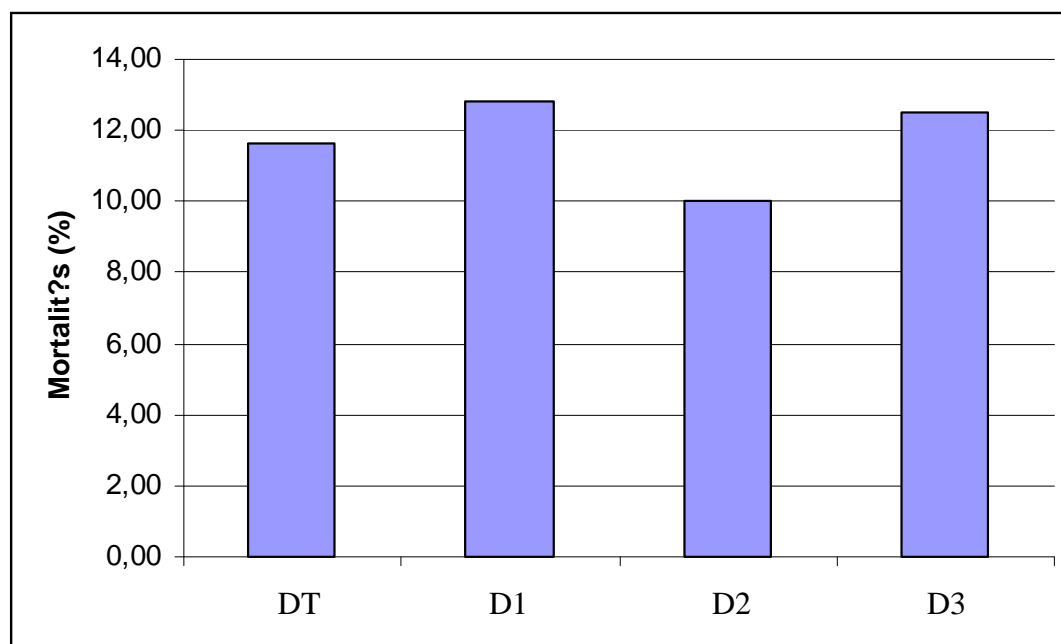


Figure 20 : Taux de mortalité après l'administration par ingestion d'imidaclopride.

I-4-2 Consommation de sirop :

Durant la période du traitement qui est de 13 jours, les volumes de sirop consommés par les témoins sont compris entre 14,13 et 22,5 μl /abeille/jour avec une moyenne de 18,15 μl /abeille/jour \pm 3,01. Pour les abeilles traitées avec 0,0343 mg d'imidaclopride, elles ont absorbé en moyenne 20,09 μl /abeille/jour \pm 5,13. Le lot d'abeilles exposé à 0,084 mg d'imidaclopride, la moyenne de consommation est de 18,20 μl /abeille/jour \pm 2,41. Enfin l'exposition orale chronique des abeilles à la dose de 0,175 mg d'imidaclopride, leur consommation moyenne en sirop n'est que de 14,65 μl /abeille/jour avec un écart type de 2,80 (Tableau 8 et Figure 21).

Tableau 8: Quantité de sirop ingéré/abeille/jour en fonction de la dose.

Témoin		0,0343 mg imidaclopride/litre sirop (D1)		0,084 mg imidaclopride/litre sirop (D2)		0,175 mg imidaclopride/litre sirop (D3)	
Cagette	Quantité (µl)	Cagette	Quantité (µl)	Cagette	Quantité (µl)	Cagette	Quantité (µl)
A	18,1333	1	13,3692	1ø	19,9692	1øø	13,7615
B	15,7333	2	12,1538	2ø	17,1538	2øø	16,4615
C	16,5867	3	18,8154	3ø	23,0308	3øø	14,4538
D	19,8667	4	20,5692	4ø	18,2308	4øø	16,0000
E	14,1333	5	27,3077	5ø	19,6923	5øø	13,8308
F	20,7333	6	30,3077	6ø	14,6923	6øø	11,9231
G	14,2000	7	18,9231	7ø	17,5385	7øø	12,8077
H	22,5000	8	23,3077	8ø	15,2154	8øø	14,5846
I	14,6667	9	21,0231	9ø	16,2308	9øø	9,5769
J	21,2000	10	17,6462	10ø	19,6538	10øø	14,9615
K	18,9300	11	19,9231	11ø	20,3077	11øø	16,6154
L	21,2000	12	17,7692	12ø	16,7692	12øø	20,9231
Moyenne	18,1569	Moyenne	20,093	Moyenne	18,2071	Moyenne	14,6583
Ecart-type	3,0137	Ecart-type	5,1387	Ecart-type	2,4105	Ecart-type	2,8039

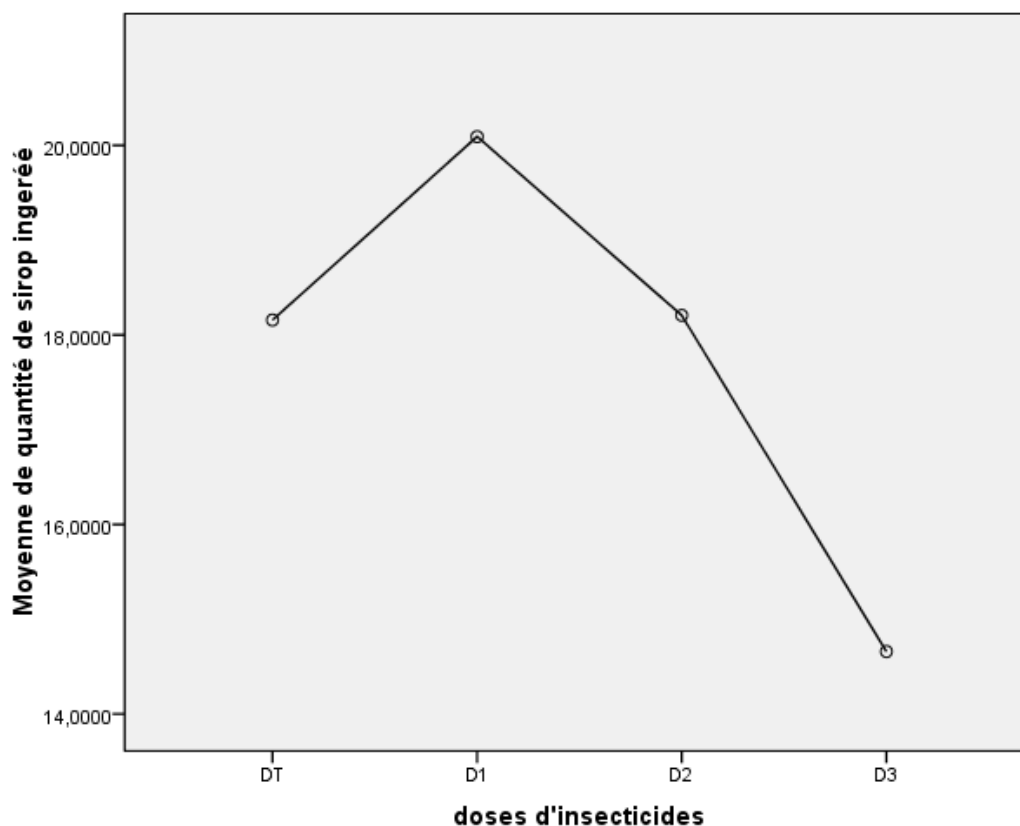


Figure 21 : Moyenne des quantités de sirop ingéré en fonction des doses en imidaclopride (DT est le témoin).

Les différences de consommation de sirop entre les différents groupes sont hautement significatives (ANOVA : $F=5,018$; $ddl=3$; $p<0,01$) (**Tableau 9**).

Tableau 9 : ANOVA Quantité de sirop ingéré

	Somme des carrés	ddl	Moyenne des carrés	F	Signification
Inter-groupes	185,029	3	61,676	5,018	0,004
Intra-groupes	540,789	44	12,291		
Total	725,817	47			

I-4-3 Quantités de l'imidaclopride ingéré :

Les quantités de l'insecticide ingérées les plus élevées ont été enregistrées chez les abeilles ayant été traitées par 0.175 mg d'imidaclopride/litre de sirop avec une quantité moyenne de $2,56 \text{ ng} \pm 0,49$ d'imidaclopride/abeille/jour. La plus faible dose est celle ingérée par le groupe d'abeilles qui ont été nourries avec le sirop renfermant 0.0343 mg d'imidaclopride/litre de sirop, elle est de $0,69 \pm 0,17$ ng d'imidaclopride/abeille/jour. Pour les abeilles dont l'exposition orale à un sirop renfermant 0,084 mg d'imidaclopride/litre la quantité moyenne du produit ingéré est de $1,53 \pm 0,20$ ng d'imidaclopride/abeille/jour (**Tableau 10 et Figure 22**).

Les différences entre les quantités d'imidaclopride absorbé par les différents lots d'abeilles sont très hautement significatives (ANOVA : $F=187,86$; $ddl=3$; $p<0,001$).

Tableau 10 : Quantité d'imidaclopride/abeille/jour en fonction de la dose.

Témoïn		0,0343 mg imidaclopride/litre sirop (D1)		0,084 mg imidaclopride/litre sirop (D2)		0,175 mg imidaclopride/litre sirop (D3)	
Cagette	Quantité (ng)	Cagette	Quantité (ng)	Cagette	Quantité (ng)	Cagette	Quantité (ng)
A	/	1	0,4586	1ø	1,6774	1øø	2,4083
B	/	2	0,4169	2ø	1,4409	2øø	2,8808
C	/	3	0,6454	3ø	1,9346	3øø	2,5294
D	/	4	0,7055	4ø	1,5314	4øø	2,8000
E	/	5	0,9367	5ø	1,6542	5øø	2,4204
F	/	6	1,0396	6ø	1,2342	6øø	2,0865
G	/	7	0,6491	7ø	1,4732	7øø	2,2413
H	/	8	0,7995	8ø	1,2781	8øø	2,5523
I	/	9	0,7211	9ø	1,3634	9øø	1,6760
J	/	10	0,6053	10ø	1,6509	10øø	2,6183
K	/	11	0,6834	11ø	1,7058	11øø	2,9077
L	/	12	0,6095	12ø	1,4086	12øø	3,6615
Moyenne	/	Moyenne	0,6892	Moyenne	1,5294	Moyenne	2,5652
Ecart-type	/	Ecart-type	0,1762	Ecart-type	0,2024	Ecart-type	0,4906

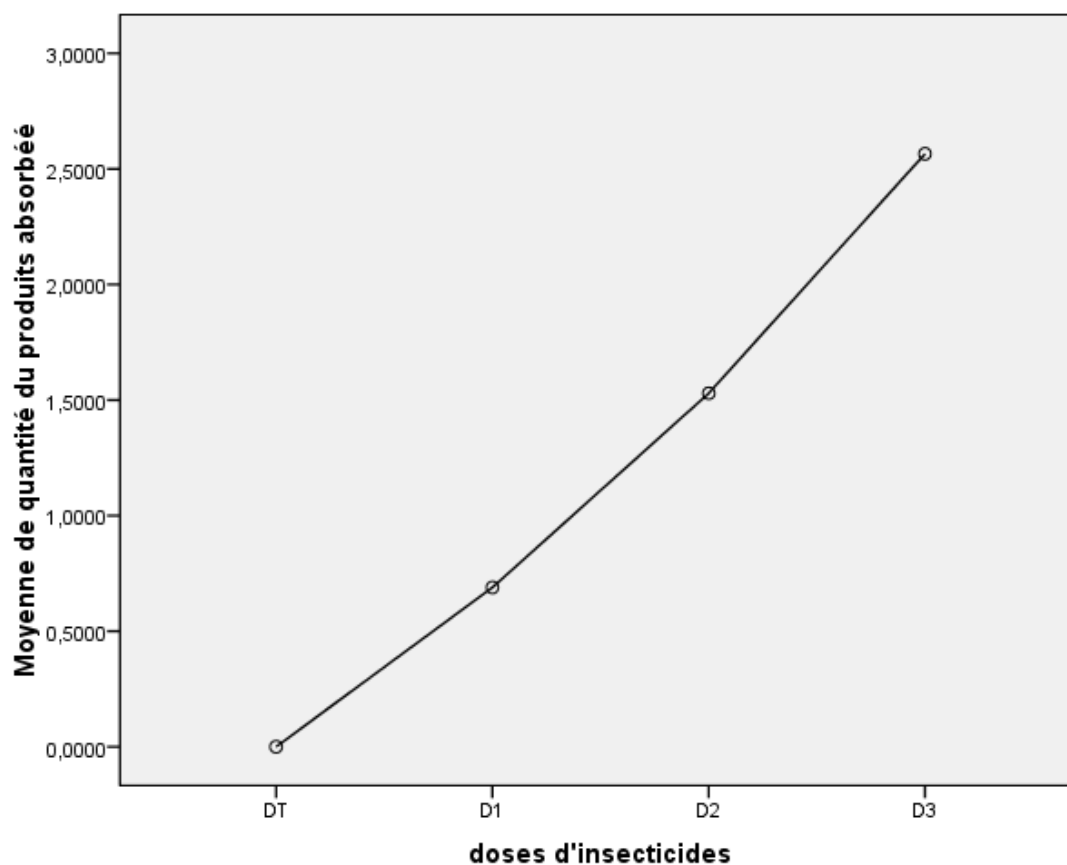


Figure 22 : Moyenne des quantités d'imidaclopride ingéré en fonction des doses en imidaclopride (DT est le témoïn).

I-4-4 Quantités de cire produite:

La comparaison entre la quantité de cire produite par le groupe d'abeilles témoins et les groupes d'abeilles traitées ont révélé des différences très hautement significatives (ANOVA $f=4,745$; $ddl=3$ et $p<0,01$). Du tableau 11 et de la figure 23, il apparaît que les abeilles témoins ont produit entre 0,08 et 1,13 g de cire avec une moyenne de $0,44 \pm 0,34$ g, alors que les traitées ont produit entre 0,1 et 0,8 g de cire avec une moyenne de $0,36 \pm 0,18$ g pour la dose 0.0343 mg d'imidaclopride/l. Les quantités de cire produites par le lot d'abeilles traitées par la dose 0.084 mg d'imidaclopride/l varient de 0 et 1,01 g avec une moyenne de $0,30 \pm 0,33$ g. Enfin, entre 0 et 0,13 g avec une moyenne de $0,07 \pm 0,04$ g pour les abeilles ayant consommé le sirop à 0.175 mg d'imidaclopride/l.

Tableau 11 : Moyen du poids de la cire produite en fonction de la dose.

Témoin		0,0343 mg imidaclopride/litre sirop (D1)		0,084 mg imidaclopride/litre sirop (D2)		0,175 mg imidaclopride/litre sirop (D3)	
Cagette	Poids (g)	Cagette	Poids (g)	Cagette	Poids (μ g)	Cagette	Poids (g)
Moyenne	0,4483	Moyenne	0,3608	Moyenne	0,3017	Moyenne	0,0700
Ecart-type	0,3435	Ecart-type	0,1839	Ecart-type	0,3329	Ecart-type	0,0449

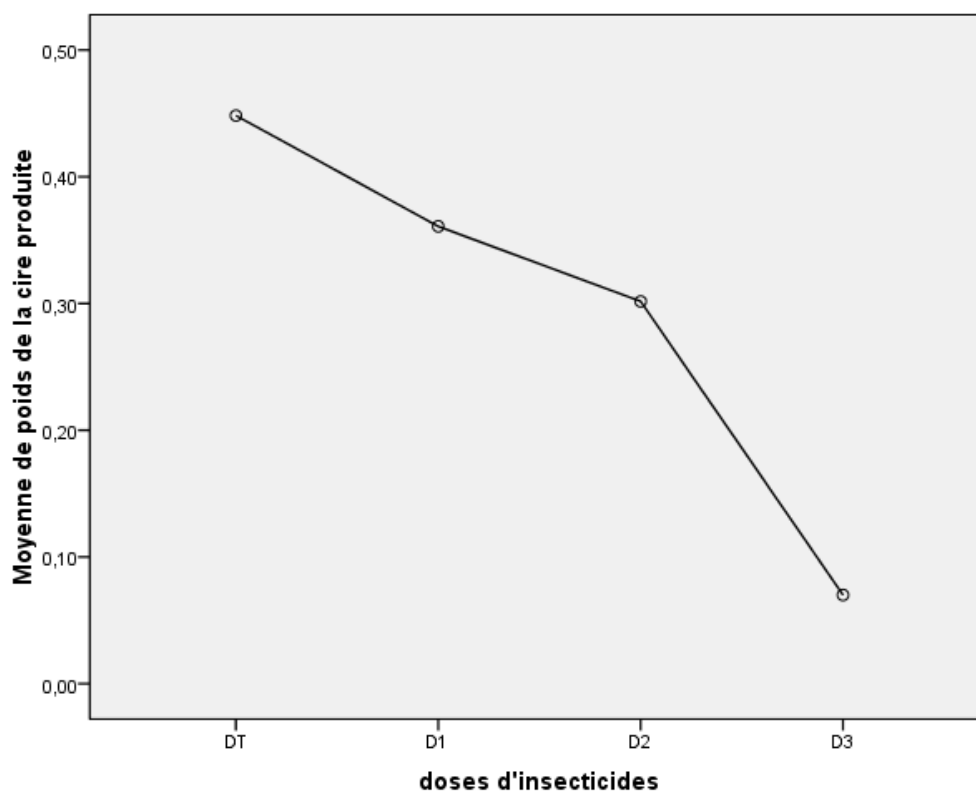


Figure 23 : Moyenne de cire produite en fonction des doses en imidaclopride (DT est le témoin).

I-4-5 Nombre de lamelles cirières :

Le produit testé agit de manière très hautement significative sur la production de lamelles cirières. La moyenne la plus faible est produite par les abeilles ayant ingéré le sirop renfermant 0,084 mg d'imidaclopride/litre ($M=1,77$) alors qu'elle est de 2,93 lamelles/abeille pour les abeilles traitées avec le sirop à 0,175 mg d'imidaclopride/litre. Pour la dose 0,0343 mg d'imidaclopride/l, cette moyenne est de 3,74 lamelles/abeille qui est proche de celle du lot témoin ($M=3,41$) (Tableau 12 et figure 24).

Tableau 12: Nombre de lamelles cirières/abeille en fonction de la dose.

Témoin		0,0343 mg imidaclopride/litre sirop (D1)		0,084 mg imidaclopride/litre sirop (D2)		0,175 mg imidaclopride/litre sirop (D3)	
Cagette	Nombre	Cagette	Nombre	Cagette	Nombre	Cagette	Nombre
A	6,6	1	4,7	1ø	3,2	1øø	2,8
B	1,1	2	0,7	2ø	1,8	2øø	1,4
C	5,7	3	4,9	3ø	2,1	3øø	3,7
D	2	4	3,6	4ø	1,5	4øø	3,2
E	2,5	5	5,2	5ø	1,8	5øø	1,3
F	5,8	6	2,2	6ø	1,8	6øø	0,9
G	1,4	7	3,7	7ø	1,7	7øø	4,5
H	3,7	8	4,7	8ø	1,9	8øø	5,1
I	2,2	9	3,2	9ø	0,9	9øø	4,9
J	0,8	10	3,6	10ø	1,1	10øø	4,1
K	4,5	11	3,5	11ø	0,9	11øø	1,5
L	4,6	12	4,9	12ø	2,5	12øø	1,7
Moyenne	3,41	Moyenne	3,74	Moyenne	1,77	Moyenne	2,93

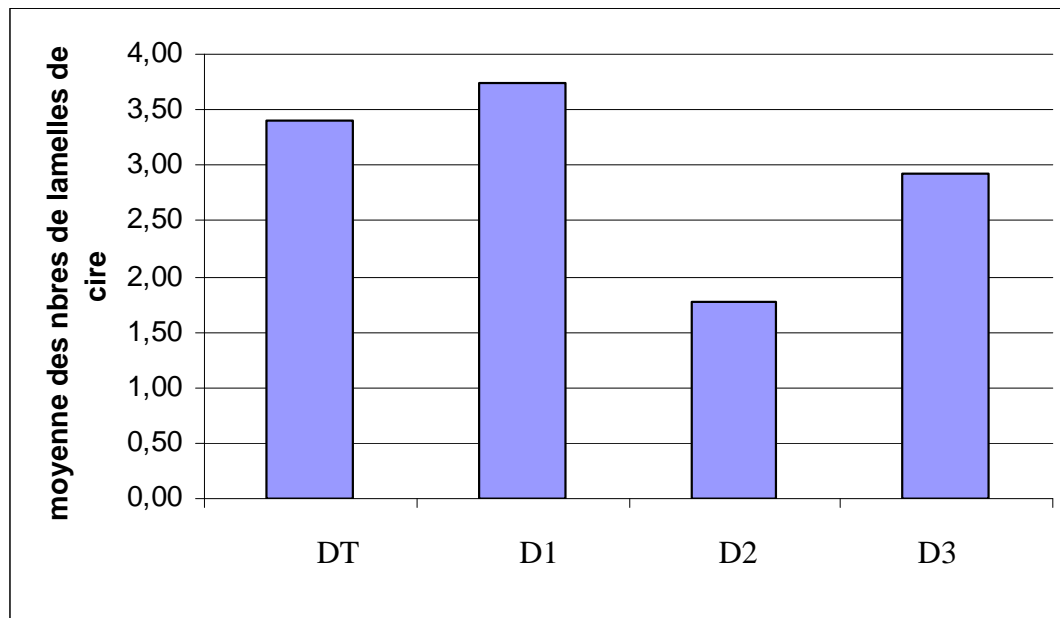


Figure 24 : Moyenne de lamelles cirières produites en fonction des doses D'imidaclopride (DT est le témoin).

I-5- Corrélation entre quantités d'imidaclopride ingéré et le poids de cire produite

La corrélation de Pearson fait ressortir que les poids de cire produite sont liés significativement mais d'une manière négative aux quantités d'imidaclopride ingéré c'est-à-dire que lorsque les abeilles ont consommé beaucoup de produit, elles produisent moins de cire. Il apparaît donc que l'imidaclopride serait la cause de la faible production de cire par les abeilles.

I-6- Discussion

Il est très important de caractériser les effets sublétaux des insecticides sur le comportement des abeilles domestiques. Les insecticides peuvent contaminer aussi bien les butineuses que les abeilles d'intérieures par le biais du nectar et du pollen pollués. Il a été démontré que les abeilles peuvent être exposées de manière chronique à des molécules toxiques en consommant des réserves (Fries et Wibran, 1987 ; Villa et *al.*, 2000).

Lors de notre étude sur l'effet sublétaux de l'imidaclopride sur la production et l'éclairage de la cire, nous avons été confrontés au problème du choix des concentrations sublétales qui s'est avéré être un problème crucial pour estimer les effets des pesticides sur le comportement des abeilles.

Dans notre recherche la DL₅₀ 48h de l'imidaclopride pour la race *Apis mellifera intermissa* est inconnue, pour cela, il a fallu la déterminer. Elle a été évaluée à 3,43 ng/abeille. Notre résultat est proche de celui mis en évidence par Drescher (1990), qui est de 3,7 ng/abeille. La plus forte dose testée au cours de nos expériences correspond à la DL₅₀ /20. Vu les faibles taux de mortalité enregistrés lors des expériences pour les doses utilisées, il apparaît que notre choix est correct. En effet, il n'y a aucune différence significative entre les lots traités et le lot témoin. Elle est en moyenne de 11% pour le témoin et de 12,82% pour le lot traité par la dose 0,084 mg d'imidaclopride/litre.

Ces pourcentages semblent être acceptables si nous les comparons avec ceux obtenus par Decourtey et *al.* (2003), qui sont de 13% pour 12ng/abeille ; 11% pour 0,12ng/abeille et 12% pour le témoin.

Les quantités de sirop absorbées sont différentes entre le lot témoin et les lots traités ainsi qu'entre les traités entre eux. Cependant, les abeilles traitées par la plus faible dose ont consommé autant que les témoins.

Lorsque la dose en imidaclopride est de 0,175 mg d'imidaclopride/litre, les abeilles consomment moins de sirop ceci pourrait être expliqué par un effet antinutritionnel qui a été observé par Nauen, (1998 a,b), chez certains types d'aphidés et par Ramirez-Romero et *al.* (2005) pour les abeilles exposés à de l'imidaclopride. En outre, Babendrier et *al.* (2005), ont remarqué aussi une baisse de consommation de la solution de saccharose par les abeilles en présence de l'inhibiteur de protéase (SBTI).

Ainsi donc l'imidaclopride aurait à de faibles doses un effet appétitif et à l'inverse à de fortes doses il exercerait un effet répulsif sans pour autant faire cesser la consommation, notre conclusion confirme celle de Guez (2003). Nous pourrions déduire de ceci qu'à de faibles doses les abeilles pourraient ramener d'importantes quantités de nectar ou de pollen contaminés dans la ruche. Lorsqu'on compare les quantités de l'imidaclopride ingérées, il ressort que les abeilles qui ont consommé moins de sirop sont celles qui ont ingéré plus de produit. Nos observations corroborent avec celles de Kirchneir (1999), qui a rapporté qu'une réduction dans l'activité du butinage sur des sources contaminées avec de l'imidaclopride serait due à la perturbation de la danse tremblante donc absence de recrutement.

Lorsque nous avons analysé les quantités de cire produites, il s'est avéré que les lots d'abeilles qui ont ingéré beaucoup d'imidaclopride sont ceux qui ont produit moins de cire. En outre, le comptage de lamelles cirières extraites sous l'abdomen des abeilles nous révèle que même les abeilles qui n'ont pas construit ont un nombre de lamelles cirières important. De ceci, il est évident de conclure que l'imidaclopride a agit sur le comportement de construction et non sur la physiologie de la production de cire. Ce résultat a été observé dans des études antérieures (Whiffler et *al.*, 1991 ; Ledoux et *al.*, 2000) sur les effets des hormones royales sur la production et la construction de cire.

De notre étude il en découle que la construction de rayons de cire est limitée par l'ingestion d'imidaclopride ce qui limiterait non seulement les réserves de pollen et de miel (rentabilité) mais aussi la ponte de la reine (pas de renouvellement d'ouvrières) qui induirait inévitablement à l'affaiblissement de la colonie et par la suite à sa mort.

Il ne faut pas perdre de vue que l'imidaclopride n'agit pas seul lorsqu'il est ingéré, beaucoup de ses métabolites tels que l'oléfine, le 5-hydroxy-imidaclopride et le 4-5-hydroxy-imidaclopride peuvent être plus toxiques pour les abeilles que la molécule mère (Decourtey et *al.*, 2003).

Par ailleurs, il faut noter que les effets des insecticides peuvent s'aggraver en présence des fongicides (Colin et Belzunces, 1992) ou par différents facteurs comme la consommation du pollen (Wahl et Ulm, 1983), la saison (Decourtey et Pham-Delègue, 2002) ou l'origine génétique (Suchaïl et *al.*, 2000).

Essai II- Effets de l'imidaclopride sur le développement des glandes hypopharyngiennes

Ce travail a pour objectif de tester l'effet de l'imidaclopride sur la quantité de protéines contenue dans les glandes hypopharyngiennes des nourrices. Il nous semble plus pertinent d'utiliser un critère objectif, comme la mesure de la quantité de protéines, plutôt que l'évaluation visuelle des acini, car la taille de ces derniers n'est pas toujours corrélée avec l'activité des glandes hypopharyngiennes (Brouwers et *al.*, 1987).

II-1- Matériel et méthodes

Le matériel et les méthodes utilisés pour l'analyse des protéines contenues dans les glandes hypopharyngiennes des abeilles sont décrits ci-dessous.

II-1-1 Matériel biologique :

Les abeilles utilisées dans cette partie sont les abeilles congelées lors de la première expérience sur la production de cire. Donc, il s'agit d'abeilles de race *Apis mellifera intermissa* âgées de 15 jours ayant consommé du sirop contenant soit 0,034 ; 0,084 ou 0,175 mg d'imidaclopride/litre et du sirop sans traitement pour le témoin. Dans chaque cagette, 5 abeilles sont prélevées au hasard, soit 60 abeilles par dose, ainsi donc nous avons quantifié les protéines de 240 abeilles. Chaque abeille est décapitée. Les glandes hypopharyngiennes sont extraites sous loupe binoculaire à travers une incision faite sur la partie antérieure de la tête de l'abeille (**Figure 25**). Ces glandes sont notées de 0 à 4 selon leur développement. (**Figure 26**) puis conservées au congélateur dans des tubes épindorff dans 1 ml d'eau distillée.

II-1-2 Analyse de la quantité de protéines

La quantité de protéines totale des glandes hypopharyngiennes est mesurée selon la méthode mise au point par Bradford (1976). Il s'agit d'un dosage colorimétrique dont le principe repose sur le changement de coloration du *bleu de Coomassie* (laboratoire Bio-Rad) en présence de protéines.

Une courbe étalon est réalisée à partir des densités optiques (DO) de solutions protéiques de concentrations différentes connues, issues d'une solution mère d'albumine bovine à 1%. Les densités optiques sont lues à la longueur d'onde de 595 nm. Pour la préparation de la solution mère de BSA (sérum albumine bovine) à 1% à partir de laquelle nous avons des dilutions de concentrations croissantes. Nous ajoutons la même quantité du réactif de Bradford préparé préalablement, puis mis à l'abri de la lumière. Les tubes sont incubés à une température ambiante pendant 10 minutes à l'obscurité. La lecture des DO nous a permis d'établir la courbe étalon.

Chaque tube épindorff contenant les glandes d'une abeille est soumis à un appareil à l'ultrason afin de fragmenter les glandes hypopharyngiennes et libérer les protéines. Dans un tube à essai stérilisé, nous ajouterons 5 ml du réactif de Bradford à 100 µl de la solution contenant les glandes hypopharyngiennes, puis agiter pendant quelques minutes à l'aide d'un Vortex. Les tubes sont par la suite incubés à la température ambiante à l'obscurité pendant 10 minutes. La lecture des DO se fait à l'aide d'un spectrophotomètre à la longueur d'onde de 595 nm. L'opération est répétée pour les 240 glandes hypopharyngiennes. Pour calculer les quantités de protéines contenues dans les glandes hypopharyngiennes nous appliquons l'équation de régression linéaire déduite de la courbe étalon établie pour le BSA.

II-2- Analyse statistique

L'effet de l'imidaclopride sur les quantités de protéines contenues dans les glandes hypopharyngiennes des abeilles a été analysé par une analyse de la variance. L'analyse statistique est réalisée avec le logiciel SPSS Statistics v17.0.

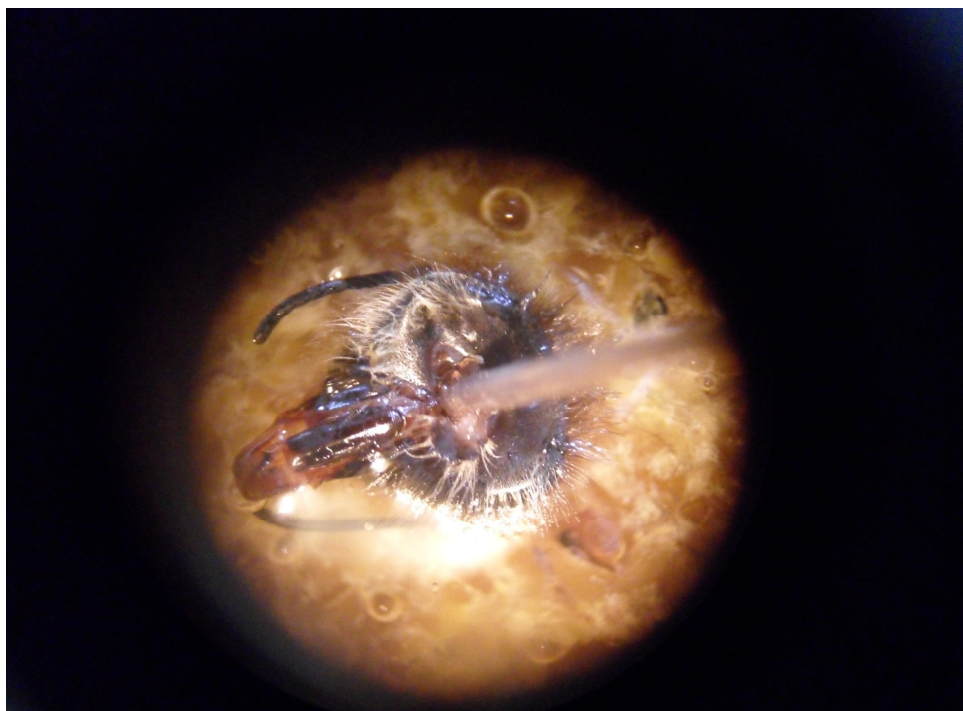


Figure 25 : Extraction des glandes hypopharyngiennes (Originale (2009)).

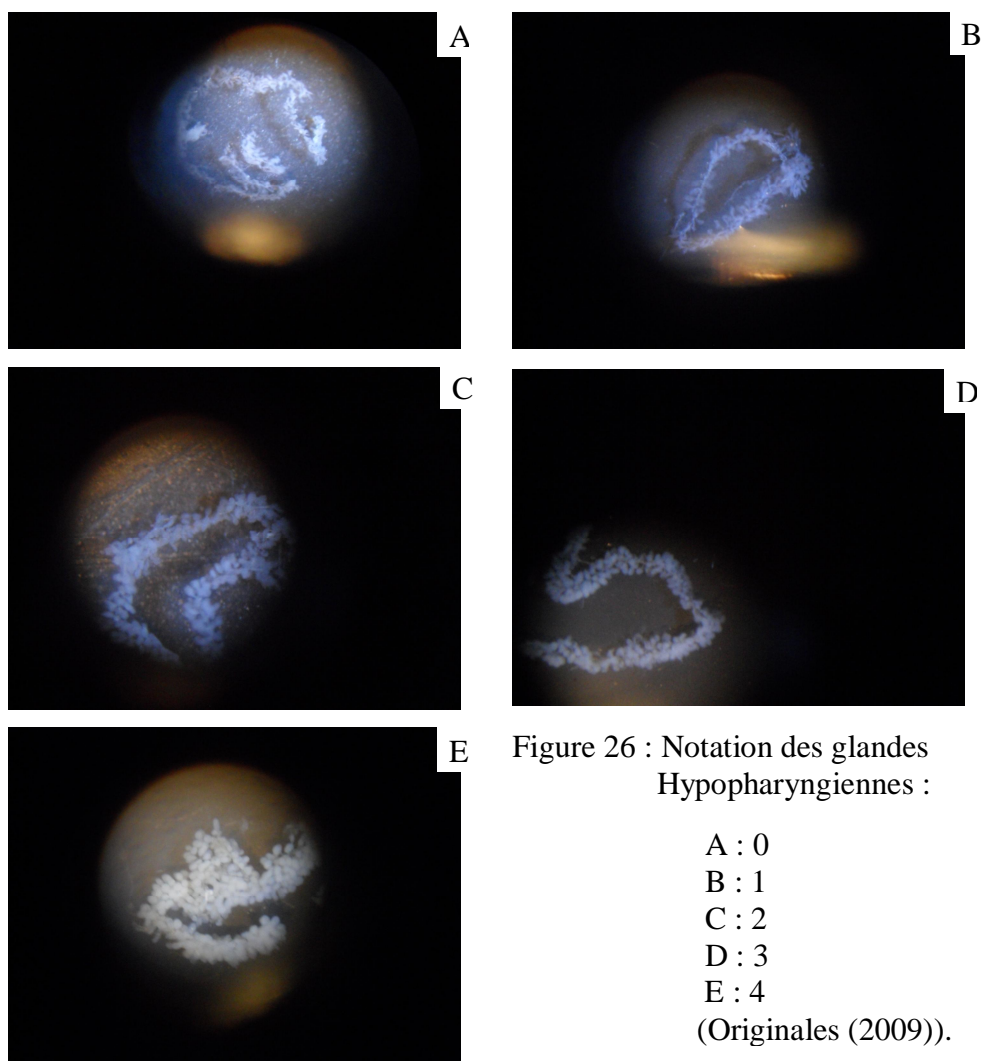


Figure 26 : Notation des glandes Hypopharyngiennes :

- A : 0
 - B : 1
 - C : 2
 - D : 3
 - E : 4
- (Originales (2009)).

II-3- Résultats

Les résultats obtenus pour les quantités de protéines contenues dans les glandes hypopharyngiennes des abeilles témoins et des abeilles traitées avec de l'imidaclopride sont représentés dans le tableau 13.

Tableau 13 : Quantité de protéines/abeille en fonction de la dose.

Témoin		0,0343 mg imidaclopride/litre sirop (D1)		0,084 mg imidaclopride/litre sirop (D2)		0,175 mg imidaclopride/litre sirop (D3)	
Cagette	Quantité (µg)	Cagette	Quantité (µg)	Cagette	Quantité (µg)	Cagette	Quantité (µg)
A	8,45	1	20,74	1ø	2,03	1øø	24,24
B	5,78	2	7,32	2ø	2,23	2øø	29,49
C	23,53	3	6,7	3ø	2,35	3øø	31,2
D	36,82	4	30,99	4ø	3,53	4øø	23,09
E	21,87	5	30,2	5ø	12,71	5øø	1,87
F	44,16	6	21,17	6ø	6,79	6øø	12,02
G	36,35	7	12,49	7ø	31,12	7øø	36
H	34,8	8	24,01	8ø	18,64	8øø	28,34
I	8,09	9	27,77	9ø	3,82	9øø	16,07
J	8,27	10	20,78	10ø	6,33	10øø	30,87
K	20,04	11	24,99	11ø	2,95	11øø	9,06
L	12,133	12	11,69	12ø	4,83	12øø	22,15
Moyenne	21,6911	Moyenne	19,9042	Moyenne	8,1108	Moyenne	22,0333
Ecart-type	13,5229	Ecart-type	8,4837	Ecart-type	8,7796	Ecart-type	10,3099

Dans le groupe d'abeilles traitées avec 0,034 et 0,175 mg d'imidaclopride/litre de sirop, les quantités de protéines contenues dans les glandes hypopharyngiennes sont respectivement de $19,90 \pm 8,48 \mu\text{g}$ et $22,03 \pm 10,30 \mu\text{g}$. Ces quantités sont proches de celles du lot témoin qui sont de $21,69 \pm 13,52 \mu\text{g}$. Par contre les abeilles traitées avec 0,084 mg d'imidaclopride/litre de sirop, ont des glandes hypopharyngiennes beaucoup moins développées que celles du lot témoin ($8,11 \pm 8,77 \mu\text{g}$).

II-4- Discussion :

Le développement des glandes hypopharyngiennes des abeilles ouvrières est très flexible, des abeilles de même âge mais exerçant des activités différentes au sein de la colonie peuvent avoir des glandes hypopharyngiennes de taille différentes (Huang et al., 1994).

Lorsqu'il est nécessaire, les glandes hypopharyngiennes peuvent synthétiser de la gelée royale aussi longtemps qu'il le faudra. Haydak, 1963 a obligé les ouvrières à élever du couvain pendant 98 jours et Kratk, (1931), pendant 78 jours. Dans des colonies sans couvain les abeilles présentent des glandes hypopharyngiennes bien développées comme celles des abeilles d'hiver (Maurizio, 1950-1954 ; Dreischer, 1956 ; Fluri et al., 1982) mais leurs activités de synthèse est très réduite (Brouwers, 1983).

Dans notre étude, des différences dans le développement des glandes hypopharyngiennes apparaissent entre les différents groupes d'abeilles. Après 13 jours d'exposition à l'imidaclopride, les abeilles nourries avec 0,084 mg d'imidaclopride/litre de sirop ont les glandes hypopharyngiennes les moins développées, par contre pour la dose 0,175 qui est plus élevée les glandes hypopharyngiennes sont aussi développées que celles du témoin.

Nos résultats diffèrent de ceux obtenus par d'autres études car en général, il existe une relation dose - effet, c'est à dire que les effets provoqués par les insecticides ou les plantes transgéniques augmentent avec la dose. Dans l'étude de Sagili et al. (2005), les abeilles traitées avec 1% SBTI (Soy Bean Trypsin Inhibitor) contenu dans le pollen, présentent une activité protéique. La quantité de protéines dans les glandes hypopharyngiennes ainsi que la survie des abeilles sont significativement plus basses que celles du témoin ou celles traitées avec 0,1% ou 0,5% SBTI. De même l'étude de Babendreier et al. (2005), rapporte que les abeilles consommant 1% SBTI poids/poids dans une solution sucrée n'élèvent pas de couvain. En outre, les doses de 0,1% ou 1% de SBTI (dans le sirop) provoquent une diminution dans la taille des acini des glandes hypopharyngiennes, ainsi que leurs poids comparés à celles du lot témoin.

Dans notre étude, il apparaît que les doses de 0,034 et 0,175 mg d'imidaclopride/litre de sirop ont un effet moindre sur le développement des glandes hypopharyngiennes. Par

contre la dose 0,084 mg d'imidaclopride/litre a un effet significatif sur les quantités de protéines contenues dans les glandes hypopharyngiennes, dans ce cas là il n'existe pas de relation dose - effet.

Nos observations confirment celles de Suchail et *al.* (2003), qui ont signalé que l'imidaclopride présente une toxicité très particulière. Les premières mortalités n'apparaissent que 4 heures après l'intoxication alors qu'en général la mort induite par des insecticides neurotoxiques comme les organophosphates, les carbomates et les pyréthrinoides est obtenue entre 0,5 et 5 heures. Lorsque les abeilles sont nourries avec 150 µg d'imidaclopride/kg d'abeilles ou moins, la mortalité des abeilles augmente rapidement autour de 90% puis diminue et se stabilise autour de 60% jusqu'à des doses d'environ 2000 µg d'imidaclopride/kg d'abeilles. Pour des doses supérieures, la mortalité augmente de nouveau pour atteindre 100%.

Dans ce présent travail, il n'y avait pas de couvain qui est un facteur qui stimule le développement des glandes hypopharyngiennes par des phéromones (Mohammedi et *al.*, 1996). Mais ce critère n'affecte pas notre étude du moment que nous comparons le développement des glandes hypopharyngiennes recevant des solutions de saccharose (sirop) avec des concentrations différentes en imidaclopride, tous les autres facteurs sont constants et identiques, entre les traités et le témoin.

D'autres études ont été réalisées sur le développement des glandes hypopharyngiennes chez les abeilles encagées dans les mêmes conditions que les nôtres (Sagili et *al.*, 2005). Les glandes hypopharyngiennes des abeilles se développent et synthétisent des protéines en consommant du pollen (Mohammedi et *al.*, 1996). Une consommation réduite de pollen tôt dans la vie d'une ouvrière provoque une réduction dans le développement des glandes hypopharyngiennes et une vie courte (Maurizio, 1950 ; Haydak, 1970).

La réduction dans le développement des glandes hypopharyngiennes pour les abeilles traitées avec 0,084 mg d'imidaclopride/litre (sirop) ne serait pas due à un manque de pollen. Dans les colonies sans couvain, il n'y a pas de relation entre la consommation du pollen et le développement des glandes hypopharyngiennes. En effet, les jeunes abeilles réduisent leurs consommation de pollen, tandis que les plus âgées les augmentent. Ces faibles quantités de pollen sont utilisées pour le développement des glandes hypopharyngiennes lorsqu'il y a

juste quelques abeilles adultes qui reçoivent la gelée royale par trophallaxie et pas de couvain (Hrassnigg H. et *al.*, 1998).

Les abeilles d'hiver qui ne consomment pas ou très peu de pollen (Crailsheïn et *al.*, 1993) présentent des glandes hypopharyngiennes bien développées (Maurizio, 1954). Dans ce cas, ce sont les nutriments stockés qui élargissent ces glandes. Ceci confirme les résultats de Knecht et Kaatz (1990), qui ont montré que les glandes hypopharyngiennes ne se limitent pas seulement à la synthèse des protéines et la sécrétion de la gelée royale mais aussi au stockage des nutriments.

De ce fait, l'exposition des abeilles à l'imidaclopride peut agir négativement sur les glandes hypopharyngiennes, par conséquent le couvain qui en dépend complètement. Par ceci, le développement de la colonie sera compromis.

Essai III- Effet de l'imidaclopride sur le poids des reines et le diamètre de leurs spermathèques.

Dans cette troisième partie de notre étude, nous avons tenté de déterminer les effets de l'imidaclopride sur le poids des reines des abeilles *Apis mellifera intermissa* ainsi que sur le diamètre de leurs spermathèques.

III-1- Matériel et méthodes

Le matériel et les méthodes utilisés pour l'étude de l'impact de l'imidaclopride sur le poids des reines et le diamètre de leurs spermathèques sont décrits ci-dessous.

III-1-1 Matériel biologique

Les reines utilisées proviennent d'un élevage de reines effectué au niveau du rucher de la faculté des sciences biologiques et des sciences agronomiques de l'université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou, selon la méthode Laidlaw et Page (1999). Il s'agit de la constitution d'une colonie sans couvain ouvert et sans reine, mais renfermant beaucoup d'abeilles nourrices et laisser 24 heures orpheline. Cette colonie est désignée sous le terme de « starter » car elle commencera l'élevage de reines. Une fois les larves greffées les cellules seront placées dans une hausse d'une autre colonie contenant une reine mais dans un compartiment séparé par une grille à reine, cette colonie est désignée sous le terme de finisseur.

Toutes les colonies utilisées dans cette étude sont traitées contre le varroa, nourries et bien entretenues. Elles sont apparemment indemnes et sans maladies.

III-1-1-1 Elevage de reines

Les expériences ont eu lieu du mois de Mai au mois de Juillet. Avant de commencer l'élevage de reines, nous avons préparé les solutions contenant de l'imidaclopride. Pour cela

nous avons utilisé 1 l d'eau minérale et 0,49 mg de confidor, puis une solution avec 0,049 mg de confidor par litre d' H_2O . Les solutions sont protégées de la lumière car le produit est photo dégradable. Dans chaque cupule fixée sur une barrette d'un cadre d'élevage (**Figure 26**), nous disposons 1 μ l d'eau distillée contenant le produit pour les traités et sans insecticides pour les témoins. Sur cette goutte d'eau, nous disposons une larve de moins de 48 heures (**Figure 27**). Toutes les larves utilisées proviennent de la même colonie et ont la même mère afin de réduire l'effet génétique. Ce cadre d'élevage est introduit dans le « starter ». Une semaine plus tard, nous avons vérifié le taux d'acceptation et le cadre est transféré, après avoir protégé les cellules royales par des cagettes rondes (**Figure 28**), dans le finisseur.

Nous avons obtenu 28 reines traitées avec 0,049 mg de confidor/l de sirop, et 29 reines traitées avec 0,49 mg de confidor/l et 44 reines témoins. Au 15^{ème} jour à la naissance, les reines sont tuées par une congélation rapide (10 mn à 0°C). Elles sont pesées à l'aide d'une balance de précision à $\pm 0,1$ mg. Elles sont conservées au congélateur afin de les disséquer par la suite.

III-1-1-2 Dissection des reines et mesure des spermathèques

Les spermathèques des reines sont prélevées. Pour cela, il suffit de tenir entre le pouce et l'index d'une main le dernier segment de l'abdomen de la reine, et le reste du corps avec la 2^{ème} main, puis tirer délicatement (**Figure 30**). Au niveau du dernier segment l'intestin, la poche à venin et les organes génitaux de la reine apparaissent. Une sphère entourée par la paroi de la trachée apparaît. Nous l'avons enroulée délicatement entre le pouce et l'index afin de la nettoyer, il apparaîtra alors une sphère transparente (reine vierge) (**Figure 31**).

Les spermathèques sont déposées sur une lame et photographiées sous loupe binoculaire une à une. Ces images sont par la suite, traitées et mesurées à l'aide d'un logiciel *Axio-vision* conçu pour des mesures.

III-2- Analyse statistique

Nous avons utilisé pour l'étude de l'impact de la molécule d'imidaclopride sur le poids des reines d'abeilles *Apis mellifera intermissa* et le diamètre de leurs spermathèques, le logiciel SPSS Statistics V 17.0. Nous avons effectué l'analyse de la variance à ($p < 0,05$).



Figure 27 : Cadre d'élevage de reines (Originale (2009)).

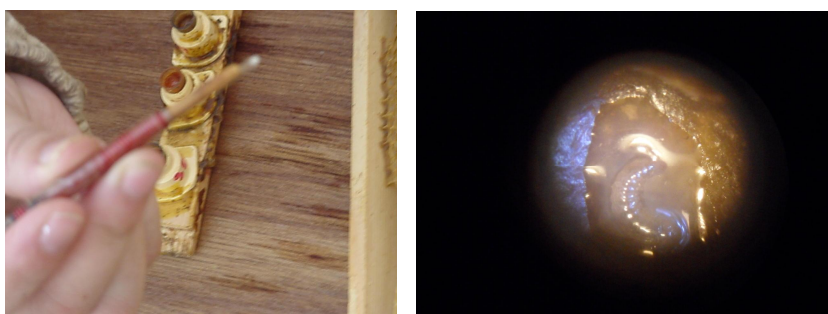


Figure 28 : Transfert d'une larve (à gauche) ; Larve de moins de 48 h (à droite) (Originales (2009)).



Figure 29 : Cadre d'élevage avec des cagettes rondes. (Originale (2009)).



Figure 30 : Dissection de la spermathèque.

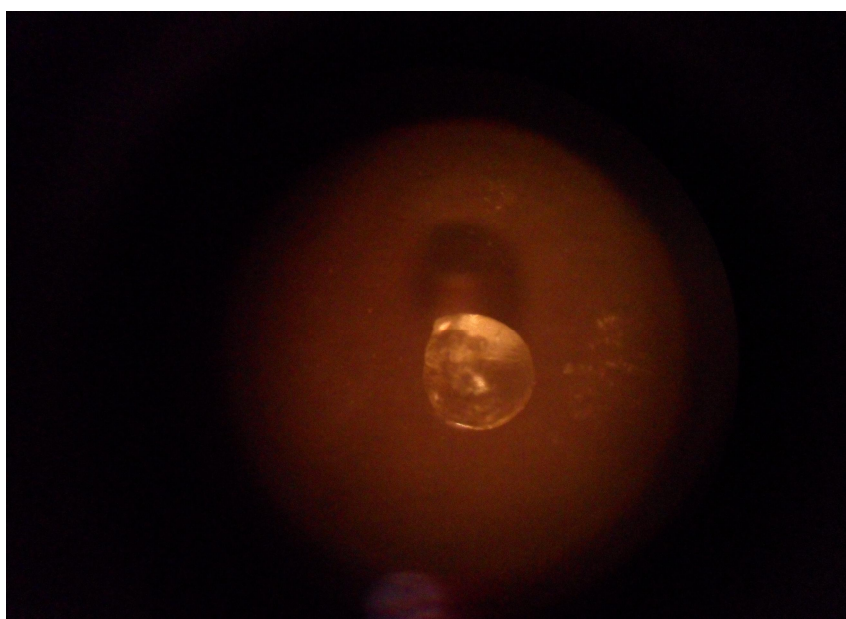


Figure 31 : Spermathèque d'une reine vierge. (Originale (2009)).

III-3- Résultats

L'analyse du tableau 14 représentant les résultats obtenus lors de l'élevage de reines avec 34,3 ng d'imidaclopride/larve montre que les reines traitées pèsent entre 0,132 et 0,232 g. le poids des reines témoins varie entre 0,141 et 0,218g.

Quant aux diamètres des spermathèques obtenus avec le logiciel Axio-Visio oscillent entre 0,727 et 0,960 mm pour les reines témoins et entre 0,749 et 1,022 mm pour celles traitées.

Tableau 14 : Poids des reines et diamètres de leurs spermathèques (dose 34,3 ng/larve).

Reines traitées 34,3 ng/larve			Reines témoin		
Reines	Poids (g)	Diamètre spermathèque (mm)	Reines	Poids (g)	Diamètre spermathèque (mm)
1	0,13717	/	1	0,16087	0,7972
2	0,14692	/	2	0,17788	0,8722
3	0,15350	/	3	0,21861	0,9278
4	0,14406	1,0224	4	0,15409	0,9357
5	0,17830	/	5	0,17316	0,9600
6	0,16868	0,8971	6	0,15730	0,7736
7	0,17813	0,9457	7	0,14247	0,9164
8	0,14396	0,9373	8	0,15634	0,9043
9	0,15676	0,8710	9	0,16982	/
10	0,16650	0,9570	10	0,16240	/
11	0,17834	0,9473	11	0,20028	/
12	0,18015	0,9057	12	0,15396	0,8899
13	0,15518	/	13	0,14668	0,8925
14	0,18716	0,9567	14	0,15783	0,7871
15	0,17336	0,7792	15	0,15639	0,7271
16	0,15723	0,7931	16	0,18609	0,7972
17	0,23268	0,8910	17	0,20541	0,8866
18	0,14593	0,9843	18	0,16493	0,8910
19	0,22015	0,9006	19	0,16632	0,9186
20	0,19256	0,8722	20	0,15354	0,9164
21	0,13239	0,7844	21	0,14113	/
22	0,18916	0,9100	/	/	/
23	0,13623	0,8786	/	/	/
24	0,17459	0,8444	/	/	/
25	0,14241	0,8761	/	/	/
26	0,15352	0,7498	/	/	/
27	0,13271	0,9985	/	/	/
28	0,16293	/	/	/	/

Le poids moyen des 28 reines traitées avec 34,3 ng d'imidaclopride/larve, est de $0,1650 \pm 0,0248$ g. Pour les 21 reines témoins, il est de $0,1669 \pm 0,0205$ g. L'analyse statistique ne montre aucune différence significative entre le poids des traitées et celui des témoins. Quant au diamètre moyen de leurs spermathèques, il est de $0,8955 \pm 0,0728$ mm et celui des témoins est de $0,8702 \pm 0,0672$ mm. La différence n'est pas significative (**Tableau 15**).

Tableau 15 : Analyse descriptive du poids des reines (g) et diamètre de leurs spermathèques (mm).(Dose D1 : 34,3 ng imidaclopride/larve et T1 : Témoin).

		N	Moyenne	Ecart-type	Erreur standard	Intervalle de confiance à 95% pour la moyenne		Minimum	Maximum
						Borne inférieure	Borne supérieure		
Poids des reines	D1	28	0,1650236	0,02485078	0,00469636	0,1553874	0,1746597	0,13239	0,23268
	T1	21	0,1669286	0,02054836	0,00448402	0,1575751	0,1762821	0,14113	0,21861
Diamètre des spermatheques	D1	22	0,895564	0,0728465	0,0155309	0,863265	0,927862	0,7498	1,0224
	T1	17	0,870212	0,0672728	0,0163160	0,835623	0,904800	0,7271	0,9600

Les résultats obtenus lors de l'élevage de reines avec 343 ng d'imidaclopride/larve montrent que les reines issues des larves traitées pèsent entre 0,099 et 0,199 g et le poids des témoins varie entre 0,101 et 0,190g.

En outre, le diamètre des spermathèques des reines traitées est entre 0,771 et 1 mm, et celui des témoins est entre 0,783 et 0,974 mm (**Tableau 16**).

Tableau 16 : Poids des reines et diamètres de leurs spermathèques (dose 343 ng/larve).

Reines traitées 343 ng/larve			Reines témoin		
Reines	Poids (g)	Diamètre spermathèque (mm)	Reines	Poids (g)	Diamètre spermathèque (mm)
1	0,10288		1	0,15219	/
2	0,14414	0,8283	2	0,13840	0,8767
3	0,16771	/	3	0,12485	/
4	0,13905	0,9226	4	0,10198	/
5	0,09931	/	5	0,12160	0,9450
6	0,11893	0,9113	6	0,12273	0,9743
7	0,15527	1,0000	7	0,12414	0,9543
8	0,13625	0,9944	8	0,13785	0,9414
9	0,11235	/	9	0,16238	/
10	0,12041	0,9159	10	0,15661	0,8929
11	0,14616	0,9257	11	0,15606	0,8829
12	0,11178	0,8667	12	0,10875	/
13	0,12339	0,8431	13	0,12607	/
14	0,14808	0,8302	14	0,16321	0,8571
15	0,14973	0,9540	15	0,18181	/
16	0,11934	0,8306	16	0,19095	0,8871
17	0,13618	0,9195	17	0,14520	0,9300
18	0,13528	/	18	0,15343	0,8861
19	0,14687	/	19	0,14822	0,9375
20	0,11502	0,7984	20	0,12200	0,8671
21	0,16086	0,8764	21	0,12005	0,7833
22	0,18879	0,9857	22	0,15105	0,8302
23	0,15306	0,8057	23	0,13752	0,8683
24	0,16512	0,8365	/	/	/
25	0,13917	0,9236	/	/	/
26	0,15742	0,7714	/	/	/
27	0,15676	0,9057	/	/	/
28	0,17066	0,8588	/	/	/
29	0,19976	/	/	/	/

Pour les 29 reines traitées avec 343 ng d'imidaclopride/larve leur poids moyen est de $0,1420 \pm 0,0243$ g, et celui des 23 reines témoins, il est de $0,1411 \pm 0,0222$ g. Il n'y a pas de différence significative entre le poids des traitées et celui des témoins.

Le diamètre moyen des spermathèques des reines traitées avec cette dernière dose est de $0,8865 \pm 0,0650$ mm et celui des reines témoins, il est de $0,8946 \pm 0,060$ mm (**Tableau 17**).

Tableau 17 : Analyse descriptive du poids des reines (g) et diamètre de leurs Spermathèques (mm). (Dose D2 est 343 ng imidaclopride/larve et T2 : Témoin).

		N	Moyenne	Ecart-type	Erreur standard	Intervalle de confiance à 95% pour la moyenne		Minimum	Maximum
						Borne inférieure	Borne supérieure		
Poids des reines	D2	29	0,1420597	0,02438859	0,00452885	0,1327827	0,1513366	0,09931	0,19976
	T2	23	0,1411761	0,02225938	0,00464140	0,1315504	0,1508018	0,10198	0,19095
Diamètre des spermathèques	D2	22	0,886568	0,0650786	0,0138748	0,857714	0,915422	0,7714	1,0000
	T2	16	0,894638	0,0501452	0,0125363	0,867917	0,921358	0,7833	0,9743

III-4- Discussion

Beaucoup d'études ont mesuré l'incidence de différents virus et même de certains insecticides sur les qualités reproductives des reines d'abeilles. Dans cette partie de notre étude, nous nous sommes intéressés à l'impact de deux doses d'imidaclopride sur le poids des reines et le diamètre de leurs spermathèques de la race d'abeilles *Apis mellifera intermissa*.

La reine peut être contaminée par la gelée royale distribuée par les ouvrières nourrices, elles mêmes contaminées par des insecticides via la trophallaxie (Bailey, 1968).

Nos résultats montrent que le transfert de larves d'ouvrières dans des cupules d'élevage de reines contenant 34,3 ng ou 343 ng d'imidaclopride n'a pas d'effets notables ni sur le poids des reines issues de cet élevage ni sur le diamètre de leurs spermathèques. Concernant les taux de rejet de larves après le greffage, nous n'avons pas observé des différences entre les larves traitées et les larves témoins. Donc, nous pouvons déduire que ces deux doses sont sublétales pour les larves de reines.

Pour nourrir les larves, les nourrices déposent de la gelée royale dans les cupules, l'imidaclopride se trouve donc dilué.

Nos résultats corroborent avec ceux de Pettis et *al.* (1990). Lorsqu'ils ont maintenu des reines dans des cagettes et traitées avec du fluvalinate à 1%, aucune différence de mortalité ou de leurs acceptations par des colonies orphelines ou même de viabilité du couvain n'a été notée.

D'autre part, les larves greffées dans des cupules en cire renfermant 1000 mg/kg de cire de coumaphos, les larves sont complètement rejetées. Par contre, celles exposées à 100 mg/kg sont rejetées à 50% et celles traitées avec 10 ou 1 mg/kg, il n'y a pas de rejet (Pettis et *al.*, 2004).

Il apparaît donc que les doses utilisées dans notre expérimentation seraient trop faibles pour engendrer des effets mesurables sur les reines.

Il a été démontré que le poids des reines peut varier en présence d'un acaricide. En effet, le traitement des larves de reines avec du coumaphos à 100 mg/kg de cire a engendré des reines plus légères que les reines témoins (Pettis et *al.*, 2004).

Nous avons obtenu des reines dont le poids moyen est de 165 mg \pm 24,8 mg pour les reines traitées avec 34 ng d'imidaclopride et il est de 166 mg \pm 20,5 mg pour le témoin. Pour la dose de 340 ng d'imidaclopride, les reines traitées ne pèsent que 142 mg \pm 24,3 mg et les reines témoins ont un poids moyen de 141 mg \pm 22,2 mg. La différence de poids entre les traitées et leurs témoins n'est pas significative. Cependant, la différence entre le poids moyen des reines traitées avec 34ng et celui des reines traitées avec 340 ng est significative. Cette différence ne serait pas due à l'imidaclopride mais à l'effet saison, car les premières reines sont élevées au printemps et les secondes en été.

Toutefois, nous pouvons remarquer que les reines des abeilles *Apis mellifera intermissa* ont un poids faible (165mg en moyenne) par rapport à la classification établie par Akyol et al. (2007). Les reines les plus fortes sont celles dont le poids à l'émergence est de 207,63 mg, les moyennes ont un poids de 193 mg et enfin les faibles ne pèsent que 175 mg pour *Apis mellifera caucasica*. Comme la qualité des reines n'est pas seulement son potentiel de reproduction mais aussi sa fécondité. Ce critère est souvent basé sur l'estimation du nombre de spermatozoïdes stockés dans la spermathèque (Lodesani et al., 2004).

Lors de l'analyse des diamètres des spermathèques des reines issues de nos expériences, il convient de noter que l'imidaclopride n'a pas eu d'effets apparents. Le diamètre moyen des spermathèques pour *Apis mellifera intermissa* est de 0,878 mm. En confrontant nos résultats à ceux de Akyol et al. (2007) il apparaît que les reines *Apis mellifera intermissa* possèdent de petites spermathèques. En effet, le diamètre des spermathèques des reines de *Apis mellifera caucasica* est de 0,860 mm pour les plus petites et il est de 1,25 mm pour les plus fortes.

Conclusion

Au terme de notre étude, il a apparu de nouvelles informations sur les effets des doses sublétales de l'imidaclopride sur les ouvrières et les reines d'abeilles *Apis mellifera intermissa*.

Tout d'abord, nous avons déterminé la DL₅₀ à 48h d'imidaclopride pour les ouvrières de printemps des abeilles *Apis mellifera intermissa*. Nous avons aussi montré que lorsque des ouvrières d'abeilles encagées consomment un sirop contenant de l'imidaclopride à faibles doses, ce dernier a un effet appétitif. Ce qui confirme les résultats de Guez (2001).

Sur le terrain, ceci entraînerait un butinage intensif d'une source contaminée. Mis en réserve le pollen ou le nectar renfermant des toxiques seront absorbés par les abeilles d'intérieur, ce qui engendrera l'intoxication de toute la colonie.

Par ailleurs, les fortes doses sont répulsives, donc les abeilles mourront mourir de faim si elles ne trouvent pas d'autres sources florales, ce qui a été démontré par Kirchner (1999).

En conditions contrôlées, il faut noter l'action de l'imidaclopride sur le comportement de l'extrusion de cire. Cette molécule empêche les abeilles cireuses de construire et d'extraire les rayons de cire. L'imidaclopride n'a pas agité sur la physiologie des glandes cireuses, mais il altère le comportement d'extrusion de cire par les ouvrières. Ce résultat est analogue à celui de Ledoux et al. (2000), qui a étudié l'effet des hormones royales sur la production et la construction de cire.

Il serait intéressant de refaire notre étude mais en analysant cette fois-ci les dimensions de cellules construites (cellules pour mâles ou ouvrières) ainsi que la dimension des lamelles cireuses.

Nous avons aussi mis en évidence l'effet de l'imidaclopride sur le développement des glandes hypopharyngiennes. Cet insecticide administré à une dose de 0,084 mg/l de sirop retarde le développement de ces glandes. A dose élevée (0.17mg /l), l'imidaclopride n'a pas eu d'effet apparent.

Dans cette expérience, nous avons considéré la quantité de protéines totales contenues dans les glandes hypopharyngiennes comme critère indiquant leur niveau de développement. Bien que ce critère soit objectif pour juger le degré de développement d'une glande, il ne reflète pas exactement son niveau d'activité de synthèse protéique (les protéines peuvent s'accumuler dans les acini).

L'analyse des effets de l'imidaclopride sur le poids des reines et le diamètre de leurs spermathèques est réalisée in vivo. Nos résultats montrent que les deux doses sublétales d'imidaclopride utilisées, n'auraient aucun effet visible ni sur le poids des reines ni sur le diamètre de leurs spermathèques. Cependant, nous avons réussi à avoir une estimation du poids des reines des abeilles *Apis mellifera intermissa*, ainsi que celle du diamètre de leurs spermathèques.

Il serait intéressant de refaire cette expérience, en utilisant des doses plus fortes mais en adoptant la méthode d'élevage larvaire in vitro mise au point par Aupinel et *al.* (2007). Cette méthode permet de contrôler les quantités d'insecticide réellement ingéré par la larve.

Notre étude montre combien il est capital de mieux prendre en compte les effets des faibles doses de toxiques lors de l'évaluation du risque des pesticides chez l'abeille. Il est également important de souligner qu'un effet subléthal peut devenir à terme létal. En effet, lorsqu'une butineuse est affectée de troubles de mémoire, d'orientation ou de troubles physiologiques affectant les systèmes respiratoire ou circulatoire, elle peut ne pas regagner sa ruche. Elle mourra alors rapidement de faim ou de froid. L'effet subléthal, n'est donc dans ce cas qu'apparent.

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 bibliographiques

1. Abramson CI, Aquino IS; Ramalhe FS; Price JM. (1999). The effect of insecticides on learning in the Africanized honey bee (*Apis mellifera* L.). Archives of Environ. Contamination and Toxicol 37:529-535.
2. Akyol A.; Yeninar H.; Kaftanoglu O. (2007). Journal of the Kansas Entomological Society. Live weight of queen honeybees (*Apis mellifera* L.). The predicts reproductive character
3. Alix A.; Cortesero AM.; Nénon JP.; Anger JP. (2001). Selectivity assessment of chlorfenvinphos reevaluated by including physiological and behaviour effects on an important beneficial insect. Environ. Toxicol. Chem.. 20:2530-2536.
4. Allen MD. (1960). The honey bee queen and their attendants. Anim. Behav. 8:201-208.
5. Allen SA.; Slessor KN; Winston ML; King GGS. (1987). The influence of gae and task specializations on the production and perception of honey bee pheromones. J. Insect.Physiol. 33:917-922.
6. Anderson J. (1931). How long dose a bee live ? Bee world, 12,25.
7. Atkins E.L.; Kellum D. (1986). Comparative morphogenetic and toxicity studies on the Effect of pesticides on honey bee brood. J. Apic. Res. 25: 242-255.
8. Aupinel P.; Fortini D.; Dufour H.; Tasei JN. ; Michand B. (2005). Improvement of artificial feeding in a standard in vitro method for rearing *Apis mellifera* larvae. Bull.Insect. 58:107-111.
9. Babendreier D.; Kalberer N.; Romeis J.; Fluri P.; Bigler F. (2004). Pollen consumption in honeybee larvae: a step forward in the risk assessment of transgenic plants. Apidologie (2004). 35:293-300.
10. Baer Boris (2005). Sexual selection in Apis bees. Apidologie 36 (2005), 187-200.
11. Bai D.; Tumonis SCR; Leicht W et al., (1991). Actions of imidacloprid and a related nitromethylene ou cholinergic receptors of and identified insect motor neurone. Pestic. Sci. 1991; 33: 197-204 in (R. Chauvet et al., 2004).
12. Barker R.J.; Waller G.D. (1978). Sublethal effects of parathion, methyl parathion, or formulated methoprene fed to colonies of honey bees. Environ. Entomol. 7:560-571.
13. Beekman et Ratnicks (2000) in Moncharmant.
14. Bendahou N. (1999). On insect behaviour. Ann. Rev. Entomol. 33: 149-168.
15. Bendahou N.; Flèche C.; Bounias M. (1999). Biological and biochemical effects of chronic exposure to very low levels of dietary Cypermethrin (Cymbush) on honey bee colonies (Hymenoptera: Apidae). Ecotoxicol Environ Saf 44:147-153.
16. Berg S.; Koeniger N.; Koeniger G.; Fuchs S. (1997). Body size and reproductive Success of drones (*Apis mellifera* L.). Apidologie 28: 449-460.

17. Bistrop GH. (1920). Fertilization in honeybee. I the male sexual organs: Their histological structure and physiological functioning. J. exper. Zool. 31:225-265. in Woyke J. 1978.
18. Bitterman M.E.; Menzel R.; Fietz A.; Shüfer S. (1983). Classical conditioning of proboscis extension in honey bees (*Apis mellifera*). J. Comp. Psychol. 97: 107-119.
19. Boch R.; Shearer DA; CSB. (1962). Identification of isoamyl acetate as an active component in the sting pheromone of the honey bee. Nature 195:1018-1020.
20. Bocquet JC; Pastre P. Ron L. Baumeister R. (1980). Etude de l'action de la deltaméthrine sur *Apis mellifera* en conditions en plein champ phytiastry phytopharmacol. 29 :83-92.
21. Bonmatin J.M. ; Moineau I. ; Charvet C. et al., (2003). ALC/APCI MS/MS method for analysis of imidacloprid in soils, in plants and in pollens. Anal chem. 2003; 75: 2027-2033.
22. Bonmatin J.M. ; P.A. Marchand ; R. Chauvin ; I. Moineau ; E.R. Bengsch and M.E. Colin (2005). Quantification of imidacloprid uptake in Maize crops. J. Agric. Food chem.. 2005; 53: 5336-5341.
23. Bounias M; Dujin N, Popeskovic S. (1985). Sublethal effects of a synthetic pyrethroid, deltamethin on the glycemia, the lipenia, and the gut alkaline phosphatases of the honeybees. Pestic Biochem physiol 24:149-160.
24. Boutler D. (1993). Insect pest control by copying nature using genetically engineered crops. Phytochemistry 34:1453-1466.
25. Bower-Walker PL.; Gunn A. (2001). The effect of the ectoparasitic mite, varroa destructor on adult worker honeybee (*Apis mellifera*) emergence weights water, protein, carbohydrate and lipid level. Entomologia Experimentalis et applicata. 101:207-217.
26. Bozina KD. (1961). How long does the queen live? Pchelovodstvo 38:13 in Remolina S.C, Hughes K.A. 2008.
27. Bradford MM. (1976). A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding Ann.Biochem. 72:248-254.
28. Brandes C. (1988). Estimation of heritability of learning behaviour in honey bees (*Apis mellifera Capensis*). Behav. Gent. 18: 119-132.
29. Breed MD ; Robinson GE ; Page RE. (1990). Division of labor during honey bee colony defense. Behav. Ecol. Sociobiol 27:395-401.
30. Brouwers (in Huang Z.Y. 1989.) (1982).
31. Brouwers EV. (1983). Activation of the hypopharyngeal glands of honeybees. (in Winter J.Apic.Res.21:137-141).
32. Brouwers EV.; Ebert R.; Beetsma J. (1987). Behavioural and physiological aspects of nurse bees in relation to the composition of larval food during caste differentiation in the honeybee. J.Apic.Res.26:11-23.
33. Buckingham S. ; Lapiéd B. ; Corronc H. et al., (1997). Imidacloprid actions on nicotinic and mixed insect neuronal acetylcholine receptors. J. Exp. Biol. 1997; 200: 2687-2692 (in Chauvet, 2004).

34. Butler CG, Fletcher DJC; Walter D. (1969). Hive entrance finding by the honey bee Foragers. *Anim.Behav.* 18:78-91.
35. Butler CG. (1960).The significance of queen substance in savarming and supercedure in honeybee (*Apis mellifera*) colonies. *Proc. R. Entomol. Soc. London (A)* 35:129-132.
36. Camazine S. (1993). (in Camazine S. 1997).
37. Camazine Scott; Karl Craïlsheim et al., (1997). Protein trophallaxis and the regulation of pollen foraging by honey bee (*Apis mellifera* L.). *Apidologie* 29 (1998), 113-126.
38. Casteel. (1912). In *Bulletin technique de l'apiculture* (1998), 25(1):46.
39. Chandel RS.; Gupta PR. (1992). Toxicity of diflubenzuron and penfluron to immature Stages of *Apis cerana indica* and *Apis mellifera* L. *Apidologie* 23:465-473.
40. Chanpen Chanchao and al., (2006). Expression of Alpha-glucosidase gene in hypopharyngeal glands of eastern Honey bee worker *Apis cerana indica*. *Journal of Apicultural Science* vol.50 n°2, 2006.
41. Chapman NC.; Benjamin Pohoyd (2007). Differential responses of heney bee (*Apis mellifera*) patrilinestre changes. In stimuli for the generalist tasks of nursing and foraging. *Behav. Ecol. Sociobiol* 61 (2007), 1185-1194.
42. Chapman NC.; Oldroyd BP.; Hughes WHO. (2007). Differential responses of honeybee (*Apis mellifera*) patriline to changes in stimuli for the generalist tasks of nursing and foraging. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 61:1185-1194.
43. Chauvet R.; M. Katouzian-Safadi ; M.E. Colin, P.A. Marchand; J.M. Boumatin (2004). *Revue insecticides systémiques: De nouveaux risques pour les insectes pollinisateurs.* *Ann Pharm Fr* 2004 ; 62 : 29-35.
44. Chauvin R. (1958). *Biologie de l'abeille.* *Revue générale jusqu'à 1956.* *Ann. Abeille* I :41-48.
45. Chauvin R. (1960). Progrès récents dans la biologie de l'abeille. *Ann. Abeille* 31 (1960) 5-39.
46. Chauvin R. (1968). *Traité de biologie de l'abeille.* Edit. Masson et cie. Paris. T1 P372.
47. Chauvin R. (1976). Sur des substances qui provoquent l'ætirage de la cire. *Apidologie* (1976), 237-242.
48. Colin M.E ; Le Conte Y. and Vermandere JP. (2000). Managing nucler in insect-proof tunnel as in observation tool for foraging bees. *Hazards of pesticides to bees,* Avignon, France.
49. Colin M.E.; Belzunces L.P. (1992). Evidence of synergy between prochloraz and Deltamethrin in *Apis mellifera* L.: A convenient biological approach. *Pest Sci* 36: 115-119.
50. Corbet et al., (1982) (in Moncharmant).
51. Corbet SA.; Kerolake C.J.; Brown C; Morland NE. (1984). Conbees select nectar-rich flowers in a patch? *J.Apic Res* 23:234-242.
52. Cox RL; Wilson WT. (1984). Effects of permethrin on the behaviour of individually tagged honey bees, *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae) *Environ. Entomol.* 13:375-378.
53. Cox RL; Wilson WT. (1987). The behaviour of insecticides exposed Honey bees. *Ann*

- bee J February: 118-119.
54. Craïlsheim K. (1992). The flow of jelly within a honeybee colony J. Comp. Physiol. (B) 162:681-689.
 55. Craïlsheim K. and Stolberg E. (1989). Influence of diet, age and colony condition upon intestinal proteolytic activity and size of the hypopharyngeal glands in the honeybee (*Apis mellifera* L.) J. Insect. Physiol. 35n°8:595-602.
 56. Craïlsheim K.; Schneider L.H.W.; Hrassing N.; Bühlmann G.; Brosh U.; Gineinbauer R.; Schöffmann B. (1992). Pollen consumption and utilisation in worker honey bees: dependence on individual age and function. J. Insect. Physiol. 38: 409-419.
 57. Croft BA. (1990). Arthropod Biological control Agents and Pesticides. New-York wiley 723p in Desneux N. and al. 2007.
 58. Darchen R. (1956) in Darchen (1958). Determinisme de la construction des cellules de mâles et des cellules d'ouvrières chez *Apis mellifica*.
 59. Darchen R. (1959). Un des rôles des chaînes d'abeilles : la torsion des rayons pour les rendre parallèle entre eux. Annales de l'apiculture (III, 1959). Le Traité rustica de l'apiculture. Edition Rustica 2002.
 60. De Ruijter A.; Vaudersteen J. (1987). A field study on the effect on honeybee brood of Insegar (fenoxycarb) applied on blooming apple orchards. Apidologie 18:356-357.
 61. Decourtey A.; Armengaud C.; Renou M.; Devillers J.; Cluzeau S.; Gauthier M. ; Pham-Delègue MH. (2004 (a)). Imidacloprid impairs memory and brain metabolism in the honeybees (*Apis mellifera* L.). Pest. Biolchim. Phys. 78:83-92.
 62. Decourtey A.; Devillers J.; Cluzeau S.; Charreton M.; Pham-Delegue M.H. (2004a). Effects of imidacloprid and deltamethrin on associative learning in honey bee Under semi field and laboratory conditions. Ecotoxicol Environ Saf 57: 410-419.
 63. Decourtey A ; Lacassie E ; Pham Delègue MH. (2003). Learning performances of honeybees (*Apis mellifera* L.) are differentially affected by imidacloprid according to the season. Pest. Mang Sci 59:269-278.
 64. Decourtey A. (2002). Etude de l'impact de produits phytopharmaceutiques sur la survie et l'apprentissage associatif chez l'abeille domestique (*Apis mellifera* L.). Thèse de Doctorat, Univ. Paris XI, arsay, France.
 65. Decourtey A.; Pham-delègue MH. (2002). The proboscis extension reflex. Assessing the sublethal effects of pesticides on the honeybee.
 66. Delaney DA. ; Keller JJ. ; Caren JR. ; Tarpay DR. (2010). The physical insemination, and reproductive quality of honey bee queens *Apis mellifera* L. Apidologie 2010.
 67. Denisson Rachel, Valérie Raymond-Delpech (2008). Insights into the molecular basis of social behaviour from studies on the honey bee, *Apis mellifera*. Invert. Neurosci (2008), 8: 1-9.
 68. Desneux N.; Decourtey A.; Delpuech JM. (2007). The sublethal effects of pesticides on beneficial Arthropods. Annu. Rev. Entomol. 2007. 52:81-106.
 69. Dessart P. (1975). L'abeille Inst. R. Nat. Belgique. 120p.
 70. Devillers J; Doré J. (2000). Etude bibliographique des effets écotoxicologiques des xénobiotiques vis-à-vis de l'abeille. Programme communautaire pour l'apiculture A.C.T.A., Paris.

71. Dhruva Naug ; Raghavendra Gadagkar.
The role of age in temperal polyethism in a primitively ensocial wasp.
72. Doussau A. (1989). Les abeilles et les traitements phytosanitaires . Rev. Franc. Apicult. 481 :19-21.
73. Dreischer H. (1956). Untersuchungen über die arbeitstätigkeit und drüsenentwicklung altersbestimmter bienen im weisellosen. Volk.Zool.Jb, 66:429-472.
74. Drescher W. (1968). Elevage et conservation de reines et des mâles.
Ann. Abeille 114 (1968), 255-266.
75. Drescher W. (1990). Prüfung and Zulassun ógvenfahren- laboratoriumsprüfung.
Institut für landwirt schoftliche. Zoologie and Bienekunde der Umversität Bonn.
Report NR. 900240. 20/07/1990 in Decourtey A. 2000.
76. Dumas JB.; Edwards HM. (1843). remarques sur la production de la cire Ann Sci Nat (Paris) 20:1-8 (in Hepburn HR. And al. 1990).
77. Eckert J. (1935). Airplane dusting and its relation to beekeeping. Am bee J. February.
78. Estoup A.; Solignac M.; Cornuet JM. (1994). Precise assessment of the number of patriline and of genetic relatedness in honeybee colonies. Prod R Soc. Lond B 258:1-7.
79. Faucon JP; Flamini, Colin ME. (1985). Evaluation de l'incidence de la deltaméthrine sur les protéines de cheptel apicole. 2^{ème} partie : Essai en plein champ, étude de la deltaméthrine en conditions de terrain. Bulletin des laboratoires vétérinaires 18 :33-45.
80. Fergusson LA.; Winston ML. (1988). The influence of wax deprivation on temporal polyethism in honeybee (*Apis mellifera* L.) colonies Can. J. Zool 66:1997-2001.
81. Fléché C. (1994).Réseau d'épidémiologie-surveillance apicole national. Analyse des données de 1993. Santé de l'abeille 144 :268-279.
82. Fluri et al., (1982) (in Mohammedi A.1995).
83. Free JB. (1977). The social organization of honey bees. Edward Arnold, London.
84. Free JB. (1987). Pheromones of social bees. Chapman and Hall, London.
85. Free JB; Needham PH; Racey PA; Stevenson JH. (1967). The effect of honeybees mortality of applying insecticides as sprays or granules to flowering field beans. J.Sci.Food.Agric. 18:133-138.
86. Free JB; Williams IH. (1970). Exposure of Nasanov gland by honeybees (*Apis mellifera*). When collecting water. Behaviour 37: 286-290.
87. Free JB; Williams IH. (1983). Scent-marking of flowers by honeybees. J.Apic.Res. 22:86-90.
88. Fresney J. (1965). Etude biométrique de quelques caractères morphologiques de l'abeille noire française (*Apis mellifera mellifera*). Ann. Abeille 8(4), 271-283.
89. Fries I; Wibran K. (1987). Effects on honeybees colonies following applications of the pyrethroids cypermethium and PP 321 in flowering oilseed-rape. Am bee J.127:266-269.
90. Frisch Von K. (1923). Über die ösprache der bienen, eine tierpsychologische untersuchung. Zool J B Physiol 40:1-186.
91. Frish Von K. (1967). Dance language and orientation of bees. Cambridge, Mass., Belknap P.of Havard university P.

92. Fukuda H.; Sakagami SF. (1968). Worker brood survival in honeybees. Res. Pop. Ecol. 10:31-39.
93. Gendot (1907) (in Louveaux 1958).
94. Getz W.M.; Smith K.B. (1991). Alfactory perception in honey bees: concatenated and mixed odorant stimulus, concentration and exposure effects. J. Comp. Physiol. A 169: 215-230.
95. Girard C; Picard-Nizou AL; Grallien E; Zaccamer B; Jouanin L; Pham-Delègue MH. (1998). Effects of proteinase inhibitor ingestion on survival, learning abilities and digestive proteinases of the honeybees. Transgen Res. 7:230-246.
96. Grandperrin D; Cassier P. (1983). Anatomy and ultrastructure of the Koschewnikow's gland of the honeybee (*Apis mellifera* L.) Int J Insect. Morphol. Embryol 12:25-42.
97. Gromisz M. ; Gromisz Z. (1996). Sensitivity of honey bee to harmful effects of the Marshal formulation (Polish). Pszczelnicze Zeszyty Naukowe.
98. Guez D ; Suchail S ; Gauthier M ; Malerka R ; Belzunces LP. (2001). Contrasting effects of imidacloprid on habituation in 7 and 8 day old honeybees *Apis mellifera*. Neurobiol. Learn Memory 76:183-191.
99. Guez D. (2001). Effets sublétaux de l'imidaclopride sur le comportement de l'abeille domestique (*Apis mellifera*). Thèse de doctorat Université P.M. Curie France.
100. Gupta PR.; Chandel RS. (1995). Effects of diflubenzuron and penfluron on workers of *Apis cerana indica* and *Apis mellifera* L Apidologie 26:3-10.
101. Halitiana J. (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 : Etudes de terrain à Madagascar et de laboratoire en France Thèse de Doctorat.
102. Haubruge E. (2006). Le dépérissement de l'abeille domestique, *Apis mellifera* L., 1758 (Hymenoptera : Apidae) : faits et causes probables. Notes fauniques de Gembloux 59(1), 3-21.
103. Haydak MH. (1935). Brood rearing by the honeybees confined to a pure carbohydrate diet. J.Econ.Entomol. 28:657-660. (in Mohammedi A. (1997)).
104. Haydak MH. (1970). Honeybee nutrition. Anim. Rev. Entomol. 15:143-156.
105. Hepburn HR.; Bernard RTF.; Davidson BC.; Muller WJ.; Liyod P.; Kurstjens SP.; Vincent SL. (1990). Synthesis and secretion of beeswax in honeybees. Apidologie (22):21-36.
106. Hervé J. (1982). Le mode d'action des pyréthriinoïdes et le problème de résistance à ces composés. Deltaméthrine- Chap III Monographie Roussel Uclaff, Paris p 67-107.
107. Hilder VA; Gatehouse A; Streerman SE; Barker RF; Boulter D. (1987). A novel mechanism of insect resistance engineered in tobacco. Nature 300:160-163.
108. Hoover s.e.r. (2003). The effect of queen pheromones on worker honey bee ovary development. SpringerLink.
109. Howell et Usinger (1933). (In Drescher 1968).
110. Hrassing and Craïlsheim (1998) in Bernardo Sabugosa-Madeira and al., (2006). A scientific note on honey bee foraging activity and airborne pollen flow.

- Apidologie 38 (2007), 122-123.
111. Hrassnigg N.; Craïlsheim K. (2005). Differences in drone and worker physiology in honeybees *Apis mellifera*. Apidologie 36:255-277.
 112. Huang Z.Y. and G.W. Otis (1989). Factors determining hypopharyngeal gland activity of worker honey bees (*Apis mellifera* L.). Insectes sociaux 1989, volume 36 n° 4, pp 264-276.
 113. Huang ZY.; Robinson GE. (1996). Regulation of honeybee division of labor by colony age demography. Beh. Ecol. Sociobiol. 39:147-158.
 114. Huang ZY.; Robinson GE.; Boist DW. (1994). Physiological correlates of division of labor among similarly aged honeybees. Journal of comparative physiology A 174:731-739.
 115. Jarslimek JP.; Otis GW. (2001). A comparison of fitness components in larger and small honeybee drones. Am. Bee J. 12:891-892.
 116. Johansen CA. (1977). Pesticides and pollinators. Ann. Rev. Entomol. 22:117-192.
 117. Johansen CA; Mayer DF. (1990). Pollinator protection. A bee and pesticide hand book. Weiwass press. Cheshire. Connecticut.
 118. Kahya Yasin; Gender H. Yasfi and Wayke Jersey, (1962). The weight at emergence of Honey bee (*Apis mellifera cancasica*) queens and the effect on live weights at the pre and post mating periods. Journal of apicultural research 2008, vol.47, n°2 pp 118-125.
 119. Kevan P. (1974). Blueberry crops in Nova Scotia and New Brunswick-Pesticides and crop reductions. Canada. J. Agricult. Econom. 25:61-64.
 120. Kevan P. (1975). Forest application of the insecticide fenitrothion and its effects on wild bee pollinators (hymenoptera: Apoidea) of lowbush blueberries (*vaccinium* spp.) in southern New Brunswick, Canada. Biol. Conserv 7:301-309.
 121. Kevan PG. (1999). Pollinators as bioindicators of the state of the environment: species, activity and diversity. Agric. Ecosyst. Environ. 74:373-393.
 122. Kharcheva A.I. (1957). Pschelovodstvo. 34, 32-34, in Chauvin R. 1958.
 123. King GE. (1993). The larger glands in the worker honeybee: a correlation of activity with age and with physiological function PHD Univ. of Ill. Urbana.
 124. Kirchner WH. (1993b). Vibrational signals in tremble dances of the honeybee, *Apis mellifera*. Behav. Ecol. Sociobiol. 33:169-172.
 125. Knecht D.; Kaatz HH. (1990). Patterns of larvae food production by hypopharyngeal glands in adult worker honeybees. Apidologie 21:457-468.
 126. Koeniger G.; Koeniger N.; Fabritius M. (1979). Some detailed observations of mating in the honeybees. Bee world 60,53-57 in Hrassnigg N. and al. 2005.
 127. Koeniger N., Koeniger G. (1991). An evolutionary approach to mating behaviour and Drone copulatory organ in *Apis*. Apidologie 22 (1991), 581-590.
 128. Komarov PM. Et Alpatov WW. (1934). Beiträge zur Kenntnis der Variabilität der Honigbiene. Arch. Bienek, 15, 11-20 in Chauvin R. 1958.
 129. Kratky E. (1931). Morphologie und Physiologie der Drüsen im Kopf und Thorax der Honigbiene. Z. Wiss. Zool. 139 :120-200. (in Mohammedi (1997)).
 130. Laidlaw HH.; Page RE. (1984). Polyandry in honeybee (*Apis mellifera*) sperm

- utilization and intracolony genetic relationship. *Genetics*. 108:985-997.
131. Le conte Y., Arnold G; Trouillet J; Masson C; Chappe B. (1990). Identification of a brood pheromone in honeybees. *Naturwissenschaften* 77:334-336.
 132. Le conte Y; Streng L; Poitout SH. (1995). Brood pheromone can modulate the feeding behavior of *Apis mellifera* workers (Hymenopterae : Apidae). *J. Econom. Entomol.* 88:798-804.
 133. Ledoux MN.; Winston ML.; Higo H.; Keeling CI.; Slessor KN.; Le conte Y. (2000). Queen and pheromonal factors influencing comb construction by simulated honeybee (*Apis mellifera* L.) swarms. *Insect.Soc.* 48(2001):14-20.
 134. Lensing W. (1987). Changes in honeybees workers after feeding on sublethal doses of dimethoate. *Apidologie* 18:353-355.
 135. Lensky Y ; Cassier P. (1995). The alarm pheromones of queen and worker honeybees. *Bee world* 76:119-129.
 136. Lensky Y, Cassier P; Rosa S; Grandperrin D. (1991). Induction of balling in worker honeybees (*Apis mellifera* L.) by stress pheromone from Koschewnikov gland of queen bees: behavioural, structural and chemical study. *Comp. Biochem. Physiol.* 100 A: 585-594.
 137. Leoncini I; Costaghiola G.; Becard JM.; Le Conte Y.; Robinson GE. (2001). Caractérisation de l'effet inhibiteur des butineuses sur le développement comportemental des jeunes ouvrières d'une colonie d'abeilles, *Apis mellifera* L. *Plasticité et Socialité* p15.
 138. Lercker et al. (1987). Composition de la fraction lipidique de la gelée de larves d'abeilles reines et ouvrières (*Apis mellifera ligustica spinola*) en fonction de l'âge des larves. *Apidologie* 15 (1984), 3.
 139. Lindauer M. (1954). Temperatur regulierung and wasserhaushalt im bienenstaat. *Z. Vergl. Physiol.* 36: 391-432.
 140. Lindauer M. (1948). Über die einwirkung von Duft- and Geschmackstoffen sowie anderer Faktoren auf die Tawze der Bienen. *Z. Vgl Physiol.* 31:348-412.
 141. Lindauer M. (1952). Ein Beitrag zur Frage der Arbeitsteilung im Bienenstret. *Z Vergl Physiol.* 36:299-345.
 142. Lodesani M.; Balduzzi D.; Galli A. (2004). A study on spermatocyte viability over time in honeybee (*Apis mellifera ligustica*) queen spermathecae, *J.Apic.Res.* 43:27-28.
 143. Loper GM. ; Wolf WW ; Taylor OR. (1993). Radar detection of drones responding to honeybee queen pheromone *J. Chem. Ecol.* 19:1929-1938.
 144. Louveaux J. (1958). Recherche sur la récolte du pollen par les abeilles (*Apis mellifera*). *Annales des abeilles*.
 145. Louveaux J. (1985). Les abeilles et leur élevage. Echauffour OPIDA. Paris.
 146. Machensen et Roberts (1948). (In Drescher 1968).
 147. Mackensen et Nye (1969). (in Moncharmant).
 148. Mamood AN.; Waller GD. (1990). Recovery of learning responses by honeybees following a sublethal exposure to perethrin. *Physiol. Entomol.* 15:55-60.
 149. Manchamp B; Grandperrin D. (1982). Chromatographie en phase gazeuse des

- composés volatiles des glandes à phéromones des abeilles : méthode d'analyse directe. *Apidologie* 13 :29-37.
150. Maurizio A. (1954). Pollen nutrition and vital processes in the honeybee. *Landwirtsch. Jb.Schweiz* 68:115-182.
 151. Menzel R.; Geiger K.; Chittka L.; Joerges J.; Kunze J.; Müller U. (1996). The knowledge base of bee navigation. *J Exp Biol.* 1999:141-146.
 152. Menzel R.; Greggers U.; Hammer M. 1993. Functional organization of appetitive learning and memory in generalist pollinator The honey bee , in: Pupy D.R.; Lewis A.C. (Eds). *Insect learning*, Chapman and Hall, New York pp 79-125.
 153. Michener M. (1974). *The social behaviour of the bees: a comparative Study.* Harvard Univ. Press. Cambridge 404P.
 154. Millor J. ; Pham-Delègue MH. ; Deneubourg JL.; Camazine S. (1999). Self-organized defensive behaviour in honeybees. *Proc Natl Acad sci. USA* 96:12611-12615.
 155. Mohammedi A. ; Crauser D. ; Paris A. et Leconte Y. (1996). Effect of brood pheromone on honey bee hypopharyngeal glands. *C.R. Acad. Sci.* 319, 769-772.
 156. Mohammedi A.; Paris A.; Crauser D. et Leconte Y. (1998). Primer and releaser brood pheromone in honey bees : New evidence on worker ovary development. *Naturwissenschaften* 85, 455-458.
 157. Mohammedi Arezki. (1997). Contribution à l'étude des phéromones de couvain chez l'abeille domestique *Apis mellifera* L. Thèse de doctorat. Université de Nantes.
 158. Moore AJ.; Breed MB.; Moor MJ. (1987). The guard honeybee: ontogeny and behavioural variability of workers performing a specialized task. *Anim. Behav.* 35:1159-1167.
 159. Mootury A.; Verrier C.; Torcheux R.; Wilkinson D. (1987). Etude du comportement des abeilles suite à des applications de Karaté sur céréales, colza. La défense des végétaux. 243 :51-58.
 160. Moriarty F. (1969). The sublethal effects of synthetic insecticides on insects. *Biol.Rev.* 44:321-357.
 161. Moritz RFA; Fuschs S. (1997). Organization of honeybee colonies: characteristics and consequences of a superorganism concept. *Apidologie* 29(1998):7-21.
 162. Moriya K.; Shibuya K.; Hattori J. (1992). Structural modification of the 6-chloropyridyl moiety in the imidacloprid Skeleton: Introduction of a five-membered heteroaromatic ring and the resulting insecticidal activity. *Biosci. Biotech. Biochem.* 1992; 56: 364-365 in (R. Charvet et al., 2004).
 163. Nation J.L.; Robinson F.A.; Yu S.J. ; Bolten A.B. (1986). Influence upon honey bees of chronic exposure to very low levels of selected insecticides in their diet. *J. Apic. Res.* 25: 170-177.
 164. Nauen et al., (1998, 1999) (in Guez David 2001).
 165. Nauen R.; Ebbinghaus-Kintscher U.; Schmuck R. (2001). Toxicity and nicotinic acetylcholine receptor interaction of imidacloprid and its metabolites in *Apis mellifera* (Hymenoptera : Apidae). *Pest Manag sci.* 57: 577-586.
 166. Nauen R.; Tietjen K.; Wagger K.; Elbert A. (1998). Efficacy of plant metabolites of

- imidacloprid against *Myzus persicae* and *Aphis gossypi* (Homoptera: Aphidae). *Pesticide Science* 52(1):53-57.
167. Naumann K.; Winston ML.; Slessor KN. (1993). Movement of honeybee (*Apis mellifera* L.) queen mandibular gland pheromone in populous and unpopulous colonies. *J.Insect. Behav.* 6:211-223.
 168. Nelson NC. (1927). Adaptability of young bees under adverse conditions. *Am bee J* 67:242-243.
 169. Nunamoker RA.; Harvey AJ.; Wilson WT. (1984). Inability of honeybee colonies to rear queens following exposure to fenitrothion *Ann.Bee J.* 124:308-309.
 170. Nunez J.A. (1967). Sammelbienen markieren versiegte Futterquellen durch Duft. *Naturwissenschaften* 54:322-323.
 171. OøToole C. (1996). Bee systematics in Europe: the continuing crisis and some possible eures. In the conservation of Bees, ed. A Matheson, SL Buchmann, C OøToole, P. Westrich, IH Williams, pp. 227-232. in Desneux and al. 2007.
 172. Oldroyd BP.; Smolenski AJ.; Coumet JM.; Wongsiri S; Estoup A; Rinderer TE, Crozier RH. (1996). Levels polyandry and intracolony genetic relationships in *Apis Dorsata* (Hymenoptera: Apidae). *Ann. Entomol. Soc. Am* 89:276-283.
 173. Oomen P.; De Rujter A; Von Der Steen J. (1992). Method for honeybee brood feeding tests with insect growth regulating insecticides. *Bulletin OEPP/EPPO* 22:613-616.
 174. Page R.E. and Peng C.Y. (2001). Aging and development in social insects with emphasis on the honey bee *Apis mellifera* L. Elsevier science inc. *Experimental Gerontology*. Volume 36, issues 4-6- April 2001.
 175. Page RE.; Robinson GE. (1991). The genetic of division of labour in honeybee colonies. *Adv. Insect. Physiol.* 23:117-169.
 176. Pain J. (1959). Etude de l'apparition de l'attractivité chez les reines vierges d'abeilles.
 177. Pain J. (1961). La phéromone des reines d'abeilles et ses effets physiologiques. Thèse Fac. Sci. Paris seine A, n°3674,103p (in Pain J., 1970).
 178. Palmer K.A. , Oldroyd B.P. (2000). Evolution of multiple mating in the genus *Apis*. *Apidologie* 31 , 235-248.
 179. Parcker (1926) (in J. Louveaux 1958).
 180. Park OW. (1923). Water stored be bees. *Am bee J.* 63:348-349.
 181. Pettis JS. ; Higo HA. ; Pankiw T.; Winston ML. (1997). A queen rearing suppression in the honeybee. Evidence for a fecundity signal. *Insect. Soc.* 44:311-322.
 182. Pettis JS.; Collins AM.; Wilbanke R.; Feldlanfer MF. (2004). Effects of coumaphos on queen rearing in the honeybee, *Apis mellifera*. *Apidologie* 35:605-610.
 183. Pettis JS.; Wilson WT.; Shimanuki H.; Teel PD. (1990). Fluvalinate treatment of queen and worker honeybees (*Apis mellifera* L.) and effects on subsequent mortality, queen acceptance and supersedure. *Apidologie* (1991) 22:1-7.
 184. Peyvel CH. (1994). Biologie de l'abeille l'espèce *Apis mellifera* L. Les grandes races géographiques. *Bult. Tech. Apic.* 21(3) :129-138.
 185. Pham-Delegue M.H.; Cluzeau S. (1999). Effets des produits sanitaires sur l'abeille. Incidence du traitement des semences de tournesol par Gaucho sur les disparitions

- de butineuses. Rapport final à la commission d'étude de la toxicité des produits antiparasitaires.
186. Pham-Delegue M.H.; De Joug R.; Musson C. (1990a). Effet de l'âge sur la réponse conditionnée d'extension du proboscis chez l'abeille domestique. C.R. Acad. Sci. Ser. III 310: 527-532.
 187. Pham-Delègue MH.; Girard C.; Le Métayer M.; Picard-Nizon AL. ; Hennequet C. ; Pous O. ; Jouanin L. (2000). Long-term effects of soybean protease inhibitors on digestive enzymes, survival and learning abilities of honeybees. Entomol. Exp. Appl 95:21-29.
 188. Pham-Delègue MH.; Roger B.; Pain J. (1982). Variation en fonction de l'âge des ouvrières d'abeilles (*Apis mellifera Ligustica* S.) du pouvoir d'attraction d'un extrait de phéromones royales. Apidologie 13 :143-155.
 189. Pieck T. (1961). Synthesis of wax in the honeybee (*Apis mellifera* L.). Proc K Ned AKA wet ser.C Biol Med Sc. 84:648-654 in Hepburn H.R. and al. 1990.
 190. Piek T. (1964). Synthesis of wax in the honey bee (*Apis mellifera* L.). Journal of insect physiology, volume 10, issue 4, August 1964, pages 563-572.
 191. Pierre Jacqueline (2002). Le marquage des fleurs visitées par les abeilles et les bourdons. Revue bibliographique Apiservices.
 192. Piek KS.; Mayer DF.; Glazer M.; Kious C. (1982). Effects of permethrin on mortality and foraging behaviour of honeybees in sweet corn. Entomol. Soc. Am 11:951-953.
 193. Plainter et Biesele JJ. (1966). The fine ultrastructure of the hypopharyngeal gland cell of the honey bee during development and secretion. Proc. N.A.S. volume 55, 1966.
 194. Ratnieks FLW. (1995). Evidence for a queen-produced egg-marking pheromone and its use in worker policing in the honeybee. J Apicult. Res. 34:31-37.
 195. Remolina SC.; Hughes KA. (2008). Evolution and mechanisms of long life and high fertility in queen honeybees. American Aging Association (AGE) 2008. 30:177-185.
 196. Ribbands CR. (1955). The scent perception of the honeybee. Proc R Entomol. Soc. Lond B 143:367-379.
 197. Ribbands CR. (1953). The behaviour and social life of the honeybee. Proc R Entomol. Soc. Land B. 143:367-379.
 198. Robinson et Page (1989) (in Moncharmant).
 199. Robinson GE.; Huang ZY. (1998). Colony intergration in honeybees : genetic, endocrine and social control of division of labor. Apidologie 29:159-170.
 200. Roger B. ; Pain J. (1966). L'influence de la reine d'abeille *Apis mellifera* L. sur le taux de mortalité des ouvrières accompagnatrices. Ann. Abeille 9(I) :5-36.
 201. Romerez-Romero R.; Chaufaux J.; Pham-Delegue MH. (2005). Effects of Cry1Ab protoxin, deltamethrin and imidacloprid on the foraging activity and the learning performances of the honeybee *Apis mellifera* a comparative approach. Apidologie 36(4):601-611.
 202. Rösch GA. (1925). Untersuchungen über die Arbeitsteilung im Bienenstaat, 1. Die Tätigkeiten im normalen Bienenstaat und ihre Beziehung zum alter der Arbeitsbienen. Z Vergl Physiol. 2:571-631.

203. Rösch GA. (1930). Untersuchungen über die Arbeitsteilung im Bienenstaat, 2. Die Tätigkeiten der Arbeitsbienen unter experimentell veränderten Bedingungen. Z Vergl Physiol. 12:1-71.
204. Ruttner (1968). (In Drescher W. 1968).
205. Ruttner F., Enbergs H., Kriesten K. (1971). Die Feinstruktur der Spermatheka bienenkonigiun (*Apis mellifera* L.). Apidologie 2, 67-97.
206. Ruttner F.; Mackeusen O. (1954). The genetics of the honeybee. Bee world. 33:53-62, 71-79. (in Fresney 1965).
207. Rutz W.; Gerig L.; Wille H.; Lüscher M. (1974). A bioassay for juvenile hormone (JH) effects of insect growth regulator (IGR) on adult worker honeybees. Mitt. Schweiz Entomol. Ges. 47:307-313. in Zhi-Young Huang et al. (1996).
208. Sammataro D., Avitabile A. (1986). The bee keeper's hand book. Second edition. London: 148p. in Mohammedi. 1997.
209. Sandoz J.; Roger B.; Pham-delègue MH. (1995). olfactory learning and memory in the honeybee: Comparison of different classical conditioning procedures of the proboscis extension response. C.R. Acad. Sci.Pan.Sci.Vie 318:749-755 in Decourtey A. et al. 2004.
210. Schluns H.; Ellen A. Schluns; Job Van Praagh; Robin F.A. Moritz (2003). Apidologie 34 (2003), 577-584.
211. Schmidt J.O. (1999). Attractant or pheromone: the case of Nasanov secretion and honeybee swarms. J. chem. Ecol 25:2051-2056.
212. Schmuck R.; Schoming R.; Stork A.; Schramel O. (2001). Risk posed to honey bees (*Apis mellifera*) by imidacloprid seed dressing of sunflowers. Pest management science.
213. Schricker B.; Stepken WP. (1970). The effects of sublethal doses of parathion on honeybee behaviour. I. oral administration and the communication dance J. Apicult. Res 9:141-153.
214. Schulz et al., (1998). (in Toth, 2004).
215. Seeley TD. (1995). The wisdom of the Hive. Harvard University. Press. Cambridge.
216. Seeley TD.; Kuhnholz S.; Weidenmüller A. (1996). The honeybee's tremble dance stimulates additional bees to function as a nectar receivers. Behav. Ecol. Sociobiol 39:419-427.
217. Seeley TD.; Towne WF. (1992). Tactics of dance choice in honeybees: do foragers compare dances. Behav. Ecol. Sociobiol. 30:59-69.
218. Seely TD. (1987). The effectiveness of information collection about food sources by honeybee colonies. Anim. Behav. 35:1572-1575.
219. Siebert J. (1980). Beekeeping, pollination, and externalities in California agriculture. Am Agricult. Econom. Ass May:165-171.
220. Stephen WP; Schücker B. (1970). The effect of sublethal doses of parathion. II. Site of Parathion activity, and signal integration. J. Apicult Res 9:155-164.
221. Stoner A.; Wilson WT, Harvey J. (1983). Dimethoate (cygan): Effect of long-term feeding of low doses on honey bees. In standard- size fields colonies. Southwest Entomol. 8: 74-177.

222. Stoner A.; Wilson WT. (1982). Diflubenzuron (Dinilin): effect of long-term feeding of low doses in sugar cake or sucrose syrup on honeybees in standard-size field colonies. *Am bee J.* 122:579-582.
223. Stoner A; Wilson WT.; Rhodes HA. (1982). Carbofuron effect of long term feeding of low doses in sucrose syrup on honeybees in standard- size field colonies. *Environ. Entomol.* 11(1):53-59.
224. Stout JC.; Goulson D. (2001). The use of conspecific and interspecific scent marks by foraging bumblebees and honeybees. *Anim. Behav.* 62:183-189.
225. Strauss J. (1911). Die chemische Zusammensetzung der Arbeitsbiene und Drohment während ihrer verschiedenen entwicklungsstadien. *Z. Biol.* 56:347-397 in Hrassnigg N.; Craïlsheim K. 2005.
226. Struye MH.; Mortier HJ.; Arnold G.; Miniggio C.; Borneck R. (1994). Microprocessor- controlled monitoring of honeybee flight activity at the live entrance. *Apidologie* 25:384-395.
227. Suchaïl S. (2001). Etude pharmacocinétique et pharmacodynamique de la létalité induite par l'imidaclopride et ses métabolites chez l'abeille domestique (*Apis mellifera* L.) thèse de doctorat, Université Claude Bernard- Lyon I, Lyon.
228. Suchail S. ; Guez D. ; and Belzunces L.P. (2001). Discrepancy between acute and chronic toxicity induced by imidacloprid and its metabolites in *Apis mellifera*. *Environ. Toxicol.Chem.* (2001), 20: 2482-2486.
229. Suchail S.; Belzunces Luc P. et Vaissière Bernard-E. (2003). Toxicité aiguë de l'imidaclopride et de ses métabolites chez l'abeille domestique *Apis mellifera*. *Revue Abeilles et Fleurs* n° 643 2003 ; pp 27-30.
230. Suchail S.; Guez D.; Belzunces L.P. (2000). Acephate (arthene): Effects on honey bee queen, brood and worker survival. *American Bee Journal*.
231. Snodgrass RE. (1956). *Anatomy of the honeybee.* Cornell. University Press. New-York.
232. Tasei JM.; Sabik H.; Pirastru L. (1994). Effects of sublethal doses of deltamethium (Decis) on *Bombus terrestris*. *J. apic. Res.* 33:129-135.
233. Thybaud E. (2000). Rapport concernant les programmes d'études Gaucho. Commission de la toxicité des produits antiparasitaires.
234. Toth A. et Robinson GE. (2004). Worker nutrition and division of labour in honey bees. *Animal behaviour*, 2005, 69 , 427-435.
235. Tulloch AP. (1980). Beewax composition and analysis. *Bee world* 61:47-62.
236. Vandame R. ; Meled M. ; Colin M.E. ; Belzunces L.P. (1995). Alteration of the homing- Flight in the honey bee *Apis mellifera* L. exposed to Sublethal dose of deltamethrin. *Enviro. Toxicol. Chem.* 14: 855-860.
237. Villa S.; Vigli M.; Finizio A.; Serini GB. (2000). Risk assessment for honeybees from pesticides exposed pollen. *Ecotoxicology* 9:287-297.
238. Visscher PK. (1986). Kniship discrimination in queen rearing by honeybee (*Apis mellifera*). *Behav. Ecol. Sociobiol.* 18:453-460.
239. Visscher PK. (1993). A theoretical analysis of individual interests and intracolony conflict during swarming of honeybee colonies. *Journal of Theoretical Biology* 165:191-212.

240. Visscher PK. (1983). The honeybee way of death: necrophoric behaviour in *Apis mellifera* colonies Anim. Behav. 31:1070-1076.
241. Wahl D.; Ulm K. (1983). Influence of pollen feeding and physiological condition on pesticide sensitivity of the honeybee *Apis mellifera carnica*. Oecologia 59:106-128.
242. Waller G.D.; Erikson B.J.; Harvey J.; Martin J.H. (1984). Effects of dimethoate on honey bees (Hymenoptera upidae) when applied to flowering lemons. J. Econ Entomol. 77: 70-74.
243. Wenner AM.; Wels PH. (1990). Anatomy of a controversy: the question of a language among bees. Columbia Univ. Press. New-York.
244. Whiffler L.A. and H.R. Hepburn (1991). The queen in relation to wax secretion and comb building in honey bees. Journal of comparative physiology A: Neuroethology, Sensory, Neurol. And behaviour physiology vol. 169 n° 28.
245. Wilhelmy H. (2000). substance, acute effects on the honeybee *Apis mellifera* (Hymenoptera. Apidae). Non-GLP. Laboratorium für angewandte biologie. Sarstedt.
246. Williams I. (1998). The identity of the previous visitor influences flower rejection by nectar- Collecting bees. Anim. Behav. 56:673-681.
247. Williams IH.; Pickett JA.; Martin AP. (1981). The nasanov pheromone of honeybee, *Apis mellifera* L. Bioassay of components foragers J. Chem. Ecol. 7:225-237.
248. Wilson EO. (1971). The insect societies. Havard Univ. Press. Cambridge.
249. Winston M.L. (1987). The biology of the honey bee.
250. Winston M.L. (1991). Role of Queen Mandibular pherormone and colony congestion in honey bee (*Apis mellifera* L.) Reproductive swarming (Hymenoptera Apidae). Bozina 1961 cité Winston, 1991.
251. Winston ML.; Punnett EN. (1982). Factors determining temporal division of labor in honeybees. Can. J. Zool. 60:2947-2952.
252. Wolt JD.; Peterson RKD.; Bystraak P.; Meade T. (2003). Screening level approach for non target insect risk assessment: transgenic Bt corn pollen and the monarch butterfly (Lepidoptera: Danaïdae). Environ. Entomol. 32:237-246.
253. Wossler TC.; Crewe RM. (1999a). Honeybee queen tergal gland secretion affects ovarian development in caged workers. Apidologie 30:311-320.
254. Woycienchowski M. et al., (1998). Division of labor by division of risk according to worker life expectancy In the honey bee (*Apis mellifera* L.) Apidologie 29 (1998), 191-205.
255. Woyke J. (1960). Natural and artificial insemination of queen honeybees. Bee world 43:21-25.
256. Woyke J.; Jasinski Z. (1978). Influence of age of drones on the results of instrumental insemination of honeybee queens. Apidologie 9(3):203-212.
257. Yamamoto I. ; Yabuta G. et al., (1995). Molecular mechanism for selective toxicity of nicotinoïds and neonicotinoïds. J. Pestic Sci 1995; 20: 33-40 in (R. Chauvet et al., 2004).

RESUME

L'imidaclopride est la première molécule synthétisée de la famille des insecticides néonicotinoïdes. Ces insecticides systémiques sont connus pour leur grande toxicité pour de nombreux insectes. Dans ce travail, nous avons d'abord examiné les effets des doses sublétales de l'imidaclopride (0,034 ; 0,084 et 0,17 mg par litre de sirop) sur la production de cire par les abeilles *Apis mellifera intermissa*, puis sur le développement des glandes hypopharyngiennes. Nous avons aussi évalué l'impact de deux doses sublétales (34,3 ng et 343 ng d'imidaclopride par larve) sur le poids des reines et sur le diamètre de leurs spermathèques.

De jeunes abeilles émergentes sont mises en cagettes et nourries pendant 13 jours avec un sirop contaminé avec l'imidaclopride pour les traitées et du sirop sans imidaclopride pour les témoins. Les abeilles qui ont consommé du sirop avec 0,084 mg/l ou 0,17 mg/l ont produit moins de cire que les témoins. Lorsque nous avons quantifié les protéines contenues dans les glandes hypopharyngiennes des ouvrières, les abeilles témoins et celles traitées avec 0,034 mg/l ou 0,17 mg/l ont plus de protéines que celles du lot traité avec 0,084 mg/l. Les reines issues des larves traitées avec les deux doses de l'imidaclopride ont les poids et les diamètres de leurs spermathèques identiques à ceux des reines non traitées.

Ces résultats suggèrent que les doses sublétales de l'imidaclopride peuvent avoir des effets négatifs sur la physiologie des abeilles.

Ainsi, lors de l'évaluation de la toxicité des insecticides, il est important de prendre en considération leurs effets sublétaux, car ces derniers peuvent devenir létaux.

Mots clés : *Apis mellifera intermissa* ó Imidaclopride ó cire d'abeilles ó reines ó glandes hypopharyngiennes ó Spermathèque.

SUMMARY

Imidacloprid is the first commercialised member of the chemical class of neonicotinoid insecticides. This systemic insecticide is known to be extremely effective against a wide variety of insects. We examined, in the first, the effects of sublethal doses of imidacloprid (0,0343; 0,084 and 0,175 mg per litre of syrup), on wax production by the workers of honeybees (*Apis mellifera intermissa*), and on their hypopharyngeal glands development. Then, experience was carried to define the effects of two doses of this insecticide (34,3 ng and 343 ng per larvae) on honeybees queens weight and on diameter of their spermatia.

Newly emerged adult honeybees were kept in cages and fed for thirteen days with syrup contaminated by imidacloprid. The honeybees that consumed syrup with 0,084 mg/l or 0,175 mg/l have produced few of wax than the untreated honeybees (syrup without imidacloprid). When we investigate the quantity of protein in hypopharyngeal glands of workers honeybees, control bees and these fed syrup with 0,0343 mg/l or 0,175 mg/l have more protein than the treated honeybees with 0,084 mg/l. The queens reared on 1 µl of contaminated water with imidacloprid are weighted the untreated ones. The spermatia in the treated and in the untreated queens of honeybees are similar. We found no significant variation in the spermatia diameter in the treated and untreated queens.

These results suggest that the sublethal doses of imidacloprid can affect the physiology of the workers honeybees.

When the toxicity of insecticides are evaluated, we must take into account the sublethal effects which can become lethal at the end.

Key words: *Apis mellifera intermissa* ó Imidacloprid ó Honeybee wax ó Queens ó Hypopharyngeal glands-
Spermatia

