

*Evaluation de la toxicité d'un produit  
phytopharmaceutique sur les abeilles  
domestiques locales (*Apis mellifera  
intermissa* et *Apis mellifera sahariensis*) et  
diversité génétique.*

Par

**CHAHBAR Nora**

DOUMANDJI S. (Professeur) Directeur de thèse (E.N.S.A)  
28-05-2013

MITICHE-DOUMANDJI B. (Professeur) Présidente (E.N.S.A) De la Rua P. (Professeur)  
Examinatrice(Univ. Murcia, Espagne) Serrano J. (Professeur) Examineur (Univ. Murcia, Espagne)  
Baha Monia (MCA) Examinatrice (E.N.S. Kouba) BERKANI M.L. (MCA) Examineur ((E.N.S.A)



# Table des matières

Remerciements . .	5
ص خ لم . .	7
Résumé . .	8
Abstract . .	10
Liste des abréviations . .	11
Introduction . .	12
Chapitre I - Matériel et Méthodes . .	18
1.1. - Matériel biologique . .	18
1.1.1 – Abeille tellienne : <i>Apis mellifera intermissa</i> . .	18
1.1.2. – Abeille saharienne : <i>Apis mellifera sahariensis</i> . .	18
1.2. - Matière active de l'insecticide expérimenté : Thiaméthoxame . .	18
1.3. - Présentation des sites d'échantillonnage . .	19
1.3.1. - Sites d'échantillonnage pour l'étude toxicologique . .	19
1.3.2. - Origines du matériel biologique ayant servi pour l'analyse moléculaire . .	20
1.3.3. - Lieux des prélèvements des échantillons pour l'analyse morphométrique . .	21
1.4. - Etude toxicologique . .	21
1.4.1. - Emploi des cages de contention . .	22
1.4.2. - Préparation et conservation des abeilles . .	22
1.4.3. - Définition d'un test . .	22
1.4.4. - Toxicité aigue . .	23
1.4.5. - Toxicité réitérée . .	24
1.4.6. - Toxicité subchronique . .	24
1.5. - Analyse moléculaire . .	25
1.5.1. - L'ADN mitochondrial . .	25
1.5.2. - Analyse de l'AND nucléaire (Microsatellites) . .	27
1.6. - Analyse morphométriques . .	28
1.6.2. - Mesure des paramètres . .	28
1.6.1. - Préparation des échantillons . .	28
1.7. - Analyse statistique . .	29
1.7.1. – Techniques d'exploitation statistique des résultats de l'étude toxicologique . .	29
1.7.2. - Traitement statistique des résultats de l'Analyse moléculaire . .	29
1.7.3. – Techniques statistiques employées pour les analyses morphométriques . .	30
Chapitre II - Résultats . .	31
2.1. - Evaluation de la toxicité aigüe et de la toxicité subchronique du thiaméthoxame . .	31
2.1.1. - Evaluation de la toxicité aigue . .	31
2.1.2. - Variation de la toxicité aigüe orale du thiaméthoxame en fonction des volumes administrés pour l'abeille domestique locale . .	38

2.1.3. - Variation de la toxicité aiguë orale de thiaméthoxame en fonction des saisons . . .	48
2.2.1. – Evaluation de la toxicité subchronique . . .	54
2.2. - Diversité génétique de l'abeille domestique locale et effet des facteurs anthropiques et biologiques . . .	61
2.2.1 – Distribution de l'ADN mitochondrial . . .	61
2.2.2. - Diversité haplotypique mitochondriale . . .	65
2.2.3. – Diversité nucléaire par l'analyse des microsatellites . . .	67
2.2.4.- Introgression et la conservation des populations sahariennes . . .	70
2.3. - Biométrie de l'abeille . . .	71
2.3.1. – Caractérisation biométrique des abeilles échantillonnées d'Algérie . . .	71
Chapitre III - Discussions . . .	81
3.1. - Evaluation de la toxicité aiguë et de la toxicité subchronique du thiaméthoxame . . .	81
3.1.1. - Evaluation de la toxicité aiguë . . .	81
3.1.2. - Variation de la toxicité aiguë orale du thiaméthoxame en fonction des volumes administrés pour l'abeille domestique locale . . .	84
3.1.3. - Variation de la toxicité aiguë orale du thiaméthoxame en fonction des saisons chez l'abeille domestique locale . . .	85
3.1.4. – Evaluation de la toxicité subchronique . . .	86
3.2. - Diversité génétique de l'abeille domestique locale et effet des facteurs anthropiques et biologiques . . .	88
3.2.1. - Distribution de l'ADN mitochondrial . . .	88
3.2.2. - Diversité nucléaire . . .	90
3.2.3. - Introgression et conservation des populations . . .	91
3.3.- Biométrie de l'abeille . . .	91
Conclusion générale . . .	96
Références Bibliographiques . . .	99
Annexes . . .	116
Annexe 1 . . .	116
Annesxe 2 . . .	117

---

## Remerciements

Je souhaite exprimer ici ma profonde gratitude et adresser mes vifs remerciements à ceux et à celles qui m'ont aidée à réaliser ce travail.

Je tiens tout d'abord à remercier profondément mon directeur de thèse, M. DOUMANDJI S., Professeur au département de Zoologie agricole et forestière à l'E.N.S.A. d'El-Harrach, pour m'avoir accueillie avec mes abeilles dans son laboratoire. Je tiens à le remercier pour sa disponibilité, sa modestie et pour la grande autonomie qu'il m'a laissée notamment dans la réalisation des différents aspects de la thèse. Je lui adresse mes vifs remerciements pour sa confiance qui ne m'a jamais fait défaut, qu'il me soit permis de lui exprimer mon profond respect et ma gratitude.

Mes vifs remerciements et mon profond respect vont également à M<sup>me</sup> DOUMANDJI-MITICHE B., Professeur au département de Zoologie agricole et forestière à l'E.N.S.A. d'El-Harrach, pour l'honneur qu'elle me fait de présider le jury de cette thèse.

Je tiens également à exprimer mes sincères remerciements et mon profond respect et ma gratitude aux membres de jury qui ont consacré leurs temps à examiner ce travail :

M. SERRANO José Marino, Professeur au département de Zoologie et Antropologie physique, Faculté des Vétérinaires de l'université de Murcia (Espagne).

M<sup>me</sup> DE LA RÚA Pilar T. Professeur en génétique de l'abeille au département de Zoologie et Antropologie physique, Faculté des Vétérinaires de l'université de Murcia (Espagne).

M<sup>me</sup> BAHA Mounia Maître de conférence à l'Ecole Normale Supérieure de Kouba.

M. BERKANI Mohamed Laid Maître de conférence au département de Zootechnie à l'E.N.S.A. d'El-Harrach.

Je tiens à remercier M. BELZUNCES Luc Philippe, Professeur à l'université d'Avignon et responsable du Laboratoire de Toxicologie Environnementale à L'I.N.R.A. d'Avignon pour m'avoir accueillie dans son laboratoire et pour m'avoir permis de réaliser un stage de 2 mois. Je le remercie également pour m'avoir orienté, pour son aide précieuse et ses conseils avisés.

Je tiens particulièrement à remercier M<sup>me</sup> Sylvie TCHAMITCHIAN pour m'avoir initiée en toxicologie de l'abeille, pour son aide généreuse et précieuse et sa gentillesse. Que François FAIBRE D'ARCIER trouve mes remerciements pour son aide et ses conseils.

Je remercie également toute l'équipe du Laboratoire de Toxicologie Environnementale en particulier M. Jean-Luc BRUNET et M<sup>me</sup> Marianne COUSIN ainsi que tout le personnel de l'Unité Mixte d'Ecologie des Invertébrés (UMR 406).

Un grand merci à toute l'équipe du département de Zoologie et Antropologie physique, Faculté des Vétérinaires de l'université de Murcia pour leur aide et soutien.

A M. SERRANO, Chef du département Zoologie et Antropologie physique. Je lui exprime toute ma reconnaissance, ma gratitude et mon profond respect pour son aide généreuse et précieuse. Je le remercie également pour sa bonté et ses qualités humaines.

Mes reconnaissances et mes remerciements vont également au M<sup>me</sup> Pilar DE LA RÚA pour son aide précieuse, ses conseils avisés dans les différentes parties de diversité génétique et biométrie. Je ne peux oublier de remercier sincèrement Dr. Irene MUÑOZ GABALDON pour m'avoir tant appris sur les différentes manipulations en biologie moléculaire.

Je tiens à remercier la technicienne Obdulia, le Pr. José GALIAN ALBALADEJO, Carlos, Carmelo, Raquel, Alikhandro, Javier, Ana, Miguel et Laura pour leurs aides et leurs soutiens.

Je remercie Mr. MERAH HAMID Technicien au sein de l'ENSA d'El-Harrach et Dr. GUELLOUR L. pour m'avoir accompagnée dans mes prospections dans les régions de Bayadh, de Béchar et d'Ain Sefra.

Je remercie M. MIMOUM directeur de la conservation des forêts de la Wilaya de Bechar ainsi que toute son équipe pour m'avoir facilitée les déplacements dans toutes les régions de Béchar. Je ne peux oublier de remercier ABDELRAZEK ingénieur au sein de la conservation des forêts de la Wilaya de Béchar pour tous les déplacements et sa précieuse aide lors de la prospection de la wilaya de Béchar.

Je remercie également tous les apiculteurs de la wilaya de Bechar surtout ceux des régions de Ben Zireg (Ami ARBI), Sfisifa (M. HAMEL) et M' hadjeb (M. GAROUMI).

Mes remerciements s'adressent également au Dr. IDRISSI L. de la direction des services agricoles de la région d'Ain Sefra pour son aide précieuse lors de la prospection de la région, ainsi qu'aux apiculteurs de la région d'Ain Sefra.

J'aimerais aussi remercier les Frères DIFALLAH de la région de Boufarik : HOCINE, AHCENE et BRAHIM. Je les remercie pour m'avoir initiée en apiculture, pour leur aide précieuse dans l'obtention des échantillons et leurs gentillesse.

Je remercie vivement mon collègue M. ADJLANE Noureddine maître assistant à l'université de Boumerdes pour son aide et ses conseils avisés.

J'adresse mes plus vifs remerciements à mon amie Dr. Hamida BENSLIMANE Maître de conférence à l'université de Boumerdes pour ses précieuses corrections de la partie génétique, son aide précieuse, ses encouragements et ses conseils.

Mes remerciements vont également à mes amies Leila MIZAB Maître Assistant A au UMBB et Dr. Djouher AIT IDDIR Maître de conférence au UMBB pour leur aide précieuse dans la partie biologie moléculaire.

Sans oublier M. SAHARAOUI Lounes, M. HAMADI Kamel, M. CHAHBAR Mohamed, M<sup>me</sup> Hassiba GANA, M<sup>me</sup> Fatma HALOUANE, Mme Fatma BISSAD, M<sup>lle</sup> Fatima HALADJ et M<sup>me</sup> Assia HADDADJ pour leur soutien moral et ses encouragements.

Enfin je réitère mes remerciements à toutes les personnes qui de près ou de loin m'ont aidé dans la réalisation de ce travail.

## ص خ لم

تم دراسة تقييم المبيد الحشري ثيامتوكسان على *Apis mellifera sahariensis*, *Apis mellifera intermissa*. كما تمت دراسة التنوع الجيني والقيادات الحيوية على هاتين السلالتين الناتج المتحصل عليها تبين أن ثيامتوكسان سام جدا على هاتين السلالتين. تظهر أعراض السمية العصبية بسرعة على هاتين السلالتين إذ سجلت أول حالة وفاة بعد جرعات عالية التركيز. قيم الـ DL50 للمحصل عليها ضئيفة بالنسبة لـ *A. m. intermissa* إذ 15 دقيقة من تناول متوسط قيم الـ DL50 للمحصل عليها بعد 24 ساعة كتلت كالتالي 12.5 نانوغرام / النحلة عن طريق الفم و 26 نانوغرام/ النحلة موضعية، فيما يخص *Am hariensis* متوسط قيم DL 50 المتحصل عليها بعد 24 ساعة يعادل نحو 13.3 نانوغرام/النحلة عن طريق الفم و 43.3 نانوغرام / النحلة موضعية. قيم الـ LD50 للمحصل عليها بعد 48 ساعة و 72 ساعة متطابقة لكلا السلالتين. أما بالنسبة لتغيرات السمية الحادة لثيامتوكسان المرتبط بحجم الكميات المعطاة للنحل تجدر الإشارة إلى وجود علاقة عكسية بين كمية الـ LD50 والحجم المعطى للنحلة. قيمة الـ LD50 للحجم 5  $\mu$ g/النحلة هي 10 اصغاف الـ DL50 للحجم 50  $\mu$ g/النحلة. بالنسبة للنحلة الأليف. أما بالنسبة للنحلة *ssahariensis* قيمة الـ LD50 للحجم 5  $\mu$ g/النحلة هي 5 اصغاف الـ DL50 للحجم 50  $\mu$ g/النحلة. بالنسبة لتغيرات السمية الحادة لثيامتوكسان عن طريق الفم الفصلية للنحل الأليف يظهر جليا تأثير الافراد. قيم الـ DL50 للمحصل عليها لهاتين السلالتين فالربيع منخفضة مقارنة مع فصل الصيف. حيث أن النحل *intermissa Am* حساس جدا في الربيع لأن قيمة DL50 المتحصل عليها في اوقات الملاحظة هي 6.6 نانوغرام انحلة كالتالي للنحل *sahariensis Am* قيمة الـ DL50 المسجلة بعد 24 ساعة هي 7.3 نانوغرام انحلة و 8.1 نانوغرام انحلة بعد 48 ساعة و 72 ساعة. السمية المتكررة لثيامتوكسان تثبت السمية تجاه هاتين السلالتين إما في جرعة واحدة السمية الحادة أو جرعات متكررة منخفضة السمية منه المزمدة لثيامتوكسان تؤثر على هاتين السلالتين عندما تدار في جرعات متكررة وحقبة لمدة 10 أيام. الجرعة العالية تم الحصول على متوسط معدل الوفيات 50% بعد 7 أيام من التعرض للسم بالنسبة لـ *intermissa mA* و 8 أيام بالنسبة لـ *sahariensis Am*.

دراسة التنظيم الهيكلي للمنطقة بين الجينات للجماهير الجزائرية أثبتت أن نحل العسل الجزائري هو جزء من السلالة A التي توجد منها 4 نسخ افرقية 9 A1A 2A 8A. تم وفق لاختبار فيشر النقيق وتحليل المقابلة النسخ المتنوعة A1 وA8 مرتبطة بشكل كبير مستعمرات النحل أثنتي (  $P < 0.0001$  ) لسمط A9 مرتبط مع مستعمرات النحل الصحراوي (  $P < 0.0001$  ) يمكن وجود أغلبية النمط الفردي A8 في السلالة *intermissa mA* والنمط الفردي A9 في السلالة *sahariensis Am* أظهرت التغيرات الجينية عند النحل الجزائري وسمات وراثية مرتفعة متوسط تغيرات مختلفة الواقع المتوقع ( He ) تتراوح ما بين 0.70 و 0.75. متوسط عدد الأليجات راجح بين 6 و 8 على مستوى الجماهير المنحل المنتسج لحفظ *sahariensis Am* في بيئة السهوب لا يظهر أي علامات على التحول الداخلي للأليلات لأن كل المستعمرات تعمل النمط الفردي A 9 التي يمكن اعتبارها إحصائيا كعلامة محددة لهذه السلالة وبيئت الدراسة المورفومترية التي أجريت على نحل العسل المعايير المتوسطة لـ 38 خاصية. سمحت تحاليل المكونات الأساسية (PCA) لقيم القياسات المورفومترية بفصل الفئات الصحراوية إلى خمس مجموعات مختلفة. تم مقارنة نفس الفئات الصحراوية مع فئات أخرى من أصل جزائري مغربي واسباني أظهرت النتائج (PCA) على وجد ثلاث مجموعات متميزة. تشمل المجموعة الأولى مستعمرات النحل الايبيري و المجموعة الثانية تشمل مجموعتين فرعيتين واحدة تتألف من جميع عينات سلالة النحل *intermissa Am* بغض النظر على الأصل الجزائري أو المغربي و السلالة *ensisirsaha Am* من أصل جزائري. أما عدا نحل منطقة السخونة (حين صفرا) فما المجموعة الأخرى تتشكل من قبل *sahariensis Ams* من أصل مغربي.

## Résumé

L'évaluation de la toxicité de l'insecticide thiaméthoxame sur *Apis mellifera intermissa* et *Apis mellifera sahariensis* est étudiée. La diversité génétique et la biométrie de ces deux sous-espèces sont également traitées. Les résultats obtenus montrent que le thiaméthoxame est très toxique pour les deux races d'abeilles. Les symptômes de neurotoxicité apparaissent vite et les premiers cas de mortalité 15 minutes après l'ingestion de fortes doses du toxique par les deux races d'abeilles. Les DL50 obtenues sont faibles. Pour *A. m. intermissa*, les valeurs moyennes de la DL50 au bout de 24 heures sont respectivement égales à environ 12,3 et 26 ng /abeille par voie orale et topique. Pour *A. m. sahariensis*, les valeurs moyennes de la DL50 au bout de 24 heures sont respectivement de 13,3 et 43,3 ng /abeille par voie orale et topique. Les valeurs de la DL50 sont identiques pour les deux races d'abeilles après l'application orale à 48 et à 72 heures. Quant à la variation de la toxicité aiguë orale du thiaméthoxame en fonction des volumes administrés pour l'abeille domestique locale, il est à constater qu'il y a une relation inversement proportionnelle entre les DL50 obtenues et les volumes administrés. La DL50 obtenue pour le volume de 5 µl /abeille est de 10 fois plus grande que la DL50 obtenue avec un volume de 50 µl /abeille chez *A. m. intermissa*. La DL50 obtenue avec un volume de 5 µl/abeille est de 5 fois plus grande que la DL50 observée avec un volume de 50 µl /abeille pour *A. m. sahariensis*. Pour ce qui est de la variation de la toxicité aiguë orale de thiaméthoxame en fonction des saisons chez l'abeille domestique locale, une variabilité importante de la sensibilité des individus est mise en évidence. Les DL50 obtenues pour les deux races de l'abeille domestique durant le printemps sont faibles par rapport à celles de l'été. Au printemps *A. m. intermissa* est très sensible car la valeur de la DL50 obtenue au bout des différents temps d'observation est de 6,6 ng/ abeille. De même, pour *A. m. sahariensis*, la valeur de la DL50 notée au bout de 24 heures atteint 7,3 et 8,1 ng/abeille respectivement après 48 et 72 heures. En toxicité réitérée le thiaméthoxame se montre toxique pour les deux races d'abeilles que ce soit en doses uniques (toxicité aiguë) ou en doses fragmentées et échelonnées. En toxicité subchronique le thiaméthoxame agit sur les deux races d'abeilles quand il est administré en réitérée en de faibles doses durant 10 jours. Pour la dose élevée, 50 % de mortalité en moyenne sont obtenus après 7 jours d'exposition au toxique pour *A. m. intermissa* et après 8 jours pour *A. m. sahariensis*. L'étude de l'organisation structurale de la région intergénique des populations algériennes montrent que les abeilles domestiques en Algérie font partie de la lignée africaine A. Quatre haplotypes soit A1, A2, A8 et A9 sont mis évidence. Selon le test de Fisher et l'analyse correspondante, les haplotypes A1 et A8 sont significativement associés avec les colonies de l'abeille tellienne ( $P < 0,00001$ ), et le haplotype A9 avec les colonies de l'abeille saharienne ( $P < 0,0001$ ). Il est possible qu'il y ait prédominance du haplotype A8 dans la sous espèce *A. m. intermissa* et le haplotype A9 dans la sous espèce *A. m. sahariensis*. La variation génétique chez les abeilles algériennes mise en évidence grâce à des marqueurs microsatellites est élevée. L'hétérozygotie moyenne attendue ( $H_e$ ) obtenue varie entre 0,70 et 0,75. Le nombre moyen d'allèles obtenu, fluctue entre 6 et 8 au niveau des populations. Le rucher établi pour la conservation d'*A. m. sahariensis* en milieu steppique ne montre aucun signe d'introgression maternelle du fait que toutes les colonies portent l'haplotype A9, ce qui pourrait être considéré statistiquement comme un marqueur spécifique à cette sous-espèce. L'étude des caractères morphométriques effectués sur les abeilles domestiques a permis de définir les normes moyennes pour 38 d'entre eux mesurés. L'analyse en composantes principales (ACP) des valeurs des mensurations des caractères morphométriques a permis de séparer les populations de l'abeille saharienne étudiés en 5 groupes distincts. Ces mêmes populations sont comparées avec d'autres populations d'origine algérienne, marocaine et espagnole. Le résultat de l'ACP a



révélé l'existence de 3 groupes distincts. Un premier groupe comprend les colonies d'abeilles ibériques. Dans le second groupe il y a encore deux sous-groupes, l'un constitué par l'ensemble des échantillons des abeilles de la sous espèce *A. m. intermissa*, quelle que soit son origine algérienne ou marocaine, ainsi que *A. m. sahariensis* d'origine algérienne, sauf pour les abeilles de la localité de Skhouna (Ain Sefra), l'autre formé par *A. m. sahariensis* du Maroc.

Mots clés : Thiaméthoxame, *Apis mellifera intermissa*, *Apis mellifera sahariensis*, Toxicité aigue, DL50, ADN mitochondrial, microsatellites, Biométrie.

## Abstract

Our aims in carrying out this study are Thiamethoxam insecticide toxicity assessment against *Apis mellifera intermissa* and *Apis mellifera sahariensis*. Genetic and morphometric diversity of both were analyzed too. Our results show that Thiamethoxam is highly toxic to both sub-species studied; indeed, neurotoxic effects were observed quickly, and bees died within 15mn after product absorption. The Median lethal doses (LD50) established for this insecticide after 24h, seem low to two sub-species of bees; they are about 12,3 and 26 ng / bee to *A. m. intermissa*, and around 13,3 and 43,3 ng / bee to *m. sahariensis*, for oral and topical administration respectively. However, the LD50 established after 48 and 72 hours are same to both of them. When acute toxicity variation of oral Thiamethoxam administration was analyzed on local honeybees, an inverse relationship between LD50 and insecticide amount used, was highlighted. The LD50 established when 5 µl of insecticide used, is ten times higher than the LD50 established when 50µl is used, against *A. m. intermissa*. While, it is five times higher when the equal volumes were administered for *A. m. sahariensis*. Otherwise, according to the seasons the bee's sensitivity to Thiamethoxam showed a large variability; the median lethal doses established during spring to both sub-species, are lower than those established during summer. In terms of repeated toxicity, thiamethoxam proves toxic to both races of bees either as a single dose (acute toxicity) or fragmented and graded doses. In subchronic thiamethoxam affects both races of bees when it is administered in repeated low doses for 10 days. For the high dose, 50% mortality on average are obtained after 7 days of exposure to toxic *A. m. intermissa* and after 8 days for *A. m. sahariensis*. The study of the structural organization of the intergenic region of Algerian populations demonstrate that Algerian honeybees are part of the African lineage A. Four haplotypes A1, A2, A8 and A9 are being highlighted. According to Fisher's exact test and the corresponding analysis, A1 and A8 haplotypes were significantly associated with colonies of Tellian bees ( $P < 0.00001$ ), and the haplotype A9 with the Saharan bee colonies ( $P < 0.0001$ ). It is possible that there is predominance of haplotype A8 in the subspecies *A. m. intermissa* and haplotype A9 in the subspecies *A. m. sahariensis*. Genetic variation in the Algerian honeybees with microsatellite markers is high highlighted. The average expected heterozygosity ( $H_e$ ) obtained varies between 0,70 and 0,75. The average number of alleles obtained fluctuates between 6 and 8 at the population level. The apiary established for the conservation of *A. m. sahariensis* in the steppe environment shows no signs of maternal introgression that all settlements are the haplotype A9, which could be considered statistically as a specific marker for this subspecies. The morphometric study performed on honeybees has set standards for the average 38 of them measured. The principal component analysis (PCA) of values of morphometric measurements has separate populations Saharan bee studied five distinct groups. These populations are compared with other populations of Algerian, Moroccan and Spanish. The result of PCA revealed the existence of three distinct groups. The first group includes the Iberian bee colonies. In the second group there are two subgroups, one consisting of all samples bee subspecies of *A. m. intermissa*, regardless of Algerian or Moroccan origin, and *A. m. sahariensis* of Algerian origin, except for bees locality Skhouna (Ain Sefra) and the other formed by *A. m. sahariensis* Morocco.

Keywords : Thiamethoxam, *Apis mellifera intermissa*, *Apis mellifera sahariensis*, Acute toxicity, DL50, mitochondrial ADN, microsatellites, Biometric

## Liste des abréviations

CDD: colony Collapse Disorder

DDT : dichloro-diphényl-trichloroéthane

DL 50 : dose létale 50

I.C.P.B.R : commission Internationale des relations plante-abeille

nAChR : récepteur nicotinique à acétylcholine

O.C.D.E : office de coordination et de développement économique

O.E.P.P : organisation européenne et méditerranéenne pour la Protection des Plantes

## Introduction

L'utilisation des produits phytopharmaceutiques dans la lutte contre les ravageurs des cultures est une nécessité. Mais ce moyen de lutte n'est pas sans risque et peut entraîner des effets non intentionnels qui se manifestent par une toxicité chez les organismes non cibles comme les insectes utiles. Parmi ces derniers, les abeilles domestiques sont intéressantes à plus d'un titre, notamment sur les plans économique, agronomique, scientifique et écologique. Du point de vue économique, les abeilles domestiques produisent du miel, de la gelée royale, de la propolis et de la cire. Celles-ci en milieu agricole apportent un accroissement quantitatif et qualitatif des productions. Elles interviennent dans le brassage génétique des cultures, dans le maintien de la biodiversité et dans l'obtention de semences (WILLIAMS, 1994; VAISSIERE et MORISON, 2003). Les abeilles domestiques et sauvages tiennent un rôle clef dans les écosystèmes terrestres. En effet, plus de 80 % des espèces à fleurs ne pourraient accomplir leur cycle de développement sans l'intervention des pollinisateurs, qui participent de manière prépondérante à la reproduction de nombreux végétaux (VAISSIERE, 2002; HAUBRUGE *et al.*, 2006 ; BREEZE *et al.*, 2011). Grâce à son comportement social complexe, l'abeille représente l'un des meilleurs modèles scientifiques pour les études sur les fonctions d'apprentissage, de mémorisation et d'orientation lors des déplacements pour le butinage. De plus, d'un point de vue écologique, cet insecte utile joue le rôle de bio-indicateur très sensible aux polluants de sources diverses (KEVAN, 1999). Face au rôle de l'abeille dans l'environnement, le législateur l'élève au rang d'insecte protégé. En effet en Europe, la loi du 5 juillet 1985 et la directive 91 /414/CEE interdisent l'usage de pesticides en pleine floraison et exigent que tout fabricant désirant mettre sur le marché un nouveau produit phytopharmaceutique doit fournir, entre autres, la preuve de l'innocuité de ce produit vis-à-vis de l'abeille. De même, l'office de coordination et de développement économique (O.C.D.E) en liaison avec les différents ministères de l'environnement en Europe, ainsi que l'organisation européenne et méditerranéenne pour la Protection des Plantes (O.E.P.P) et la commission Internationale des relations plante-abeille (I.C.P.B.R), tentent d'harmoniser les législations actuellement en vigueur. Ils cherchent à standardiser les études toxicologiques pour les rendre applicables partout en Europe afin d'optimiser la protection des abeilles et de l'étendre à l'ensemble des pollinisateurs (SUCHAIL, 2001). En dépit de cela, les effondrements de ruchers sont toujours constatés. Actuellement, ces affaiblissements sont connus sous l'abréviation CDD (Colony Collapse Disorder) ou syndrome de l'effondrement des colonies d'abeilles. C'est un phénomène inexplicable qui se caractérise par une disparition soudaine des abeilles de la ruche dans l'hémisphère Nord (OLDROYD *et al.*, 2007). Ces pertes sont signalés aux Etats-Unis (ELLIS et LECONTE, 2008; 2010; ELLIS *et al.*, 2010; VAN ENGELSDORP *et al.*, 2010), au Canada (CURRIE *et al.*, 2010) et au Japon (NEUMANN et CARRECK, 2010). Le même fait est noté dans le nord de l'Europe comme en Norvège (DAHLE, 2010), en Pologne (TOPOLSKA *et al.*, 2010), en Écosse (GRAY *et al.*, 2010), au Danemark (VEJSNAES et KRYGER, 2010), en Angleterre (ASTON, 2010) et aux Pays-Bas (VAN DER ZEE, 2010) Quelques pays du centre européen sont touchés par ce phénomène notamment la Suisse (CHARRIERE et NEUMANN, 2010) et l'Autriche (BRODSCHNEIDER et CRAILSHEIM, 2010; BRODSCHNEIDER *et al.*, 2010). Non plus, le pourtour méditerranéen n'est pas épargné, représenté par la France (CHAUZAT *et al.*, 2010a), l'Italie (MUTINELLI *et al.*,

2010), la Bosnie-Herzégovine (SANTRAC *et al.*, 2010), la Bulgarie (IVANOVA et PETROV, 2010), la Croatie (GAJGER *et al.*, 2010) et la Grèce (GALLINA et MUTINELLI, 2010; HATJINA *et al.*, 2010). Des causes multiples de CCD (Colony Collapse Disorder) sont discernées. Parmi les facteurs biotiques, il y a les agents pathogènes, les parasites et l'insuffisance des ressources alimentaires en raison de la fragmentation et la perte des habitats. Les facteurs abiotiques qui interviennent dans le même processus sont les changements climatiques et les agents polluants (DECOURTYE *et al.*, 2010; NEUMANN et CARRECK 2010; KLUSER *et al.*, 2011). Certains chercheurs soupçonnent les virus (CHEN *et al.*, 2005; YUE et GENERSCH, 2005; CHANTAWANNUKUL *et al.*, 2006; WILLIAMS *et al.*, 2009; BERTHOUD *et al.*, 2010; CARRECK *et al.*, 2010a, b; MARTIN *et al.*, 2010; ZIONI *et al.*, 2011; YANEZ *et al.*, 2012). D'autres relient l'effondrement des colonies d'abeilles à la *Nosemose* (AYDIN *et al.*, 2006; CHAUZAT *et al.*, 2007; HIGES *et al.*, 2008; PAXTON, 2010; SANTRAC *et al.*, 2010) ou à *Varroa destructor* (LE CONTE et FAUCON, 2002; CARRECK *et al.*, 2010b; DAHLE, 2010; MARTIN *et al.*, 2010). La perte de la diversité génétique est avancée comme cause par certains auteurs (ELLIS et LECONTE, 2008; MEIXNER *et al.*, 2010), peut être conséquence de la perte d'habitats (ELLIS et LECONTE, 2008; LE CONTE et NAVAJAS, 2008; POTTS *et al.*, 2010). Les pesticides sont fréquemment désignés comme responsables des chutes au sein des populations d'*Apis mellifera* Linné, 1758 (GREIG-SMITH *et al.*, 1994; BERNARD, 2000; LEFEBVRE et BRUNEAU, 2003; BARNETT *et al.*, 2007; CHAUZAT *et al.*, 2010b; JOHNSON *et al.*, 2010; MEDRZYCKI *et al.*, 2010; MARZARO *et al.*, 2011; BELZUNCES *et al.*, 2012). En particulier, les effets des acaricides sont montrés du doigt (LOUCIF-AYAD *et al.*, 2009; HARZ *et al.*, 2010; ADJLANE *et al.*, 2011).

En Algérie, depuis une dizaine d'années, les apiculteurs observent des troubles graves au sein de leurs colonies et mettent en avant la responsabilité de certains insecticides utilisés en protection des végétaux. En effet, de nombreux apiculteurs signalent un affaiblissement ou même une dépopulation totale de la ruche. Ceci peut être dû à des altérations du système nerveux des abeilles, d'autant plus que 90 % des insecticides utilisés en milieux agricoles et forestiers ont des propriétés neurotoxiques. Une seule enquête est réalisée sur le terrain par ADJLANE *et al.* (2012a) dans la région médio-septentrionale algérienne. Ces auteurs incriminent d'une part les pathologies apicoles en particulier le *Varroa*, les intoxications des abeilles par les traitements insecticides et d'autre part la dégradation de l'écosystème par la diminution de la flore mellifère ainsi que l'influence des changements climatiques. Peu nombreuses sont les études réalisées sur les pathologies apicoles pour évaluer leur part dans les affaiblissements des colonies. Dans ce sens il est possible de citer celles d'ADJLANE *et al.* (2012b) et d'ADJLANE (2012) en relation avec la nosérose, de ACHOU et SOLTANI (1997), d'AOUDIA et AYAD (1998), d'ACHOU (2007), de BERKANI et BERKANI (2009), d'ADJLANE (2010), de BELAID et DOUMANDJI (2010), de LOUCIF AYAD *et al.* (2010), et d'ADJLANE et DOUMANDJI (2011) traitant de la varroase. Il est à rappeler que les produits phytopharmaceutiques ou pesticides utilisés pour la protection des végétaux se composent principalement de xénobiotiques, représentés sur le marché mondial par 45 % d'herbicides, 26 % d'insecticides et 26 % de fongicides environ (UIPP, 2011). Les insecticides appartiennent principalement à 6 classes, celles des organochlorés, des organophosphorés, des carbamates, des pyréthrinoides, des phenylpyrazole et des néonicotinoides. Il faut souligner que les composés organochlorés tels que l'aldrine, le DDT (dichloro-diphényl-trichloroéthane), le chlordane, la dieldrine, l'heptachlore, le lindane et le toxaphène présentent différents niveaux de toxicité sur *A. mellifera*. Ils agissent comme des agents neuro-actifs sur la transmission de l'influx nerveux, entraînant des mouvements erratiques et des activités

anormales et tremblantes (DEVILLERS, 2003). Quant aux insecticides organophosphorés comme le diméthoate, le diazinon, le malathion, le fénitrothion et le parathion, ils sont encore plus toxiques pour les abeilles. Ils inhibent la cholinestérase, enzyme qui intervient dans la transmission des signaux nerveux (DEVILLERS, 2003). Ce même auteur rapporte que ces produits chimiques induisent chez l'abeille des problèmes de régurgitation, une distension abdominale, une désorientation, une léthargie et des cas de paralysies. Au cours de la seconde moitié du XX<sup>ème</sup> siècle, dans de nombreux pays, l'emploi des organochlorés et de certains organophosphorés contre les bioagresseurs a été proscrit. Les carbamates (carbaryl, aminocarbe, méthomyl), tout comme les composés organophosphorés, agissent sur l'acétylcholinestérase. Mais les composés organophosphorés interviennent par la phosphorylation de l'enzyme. Les carbamates semblent souvent être en compétition avec l'acétylcholine à la surface de l'enzyme (HASSALL, 1990). Ils présentent différents degrés de toxicité à l'égard des abeilles. Ils sont responsables de comportements agressifs, de mouvements erratiques, de l'incapacité à voler, de la paralysie, de la morbidité et de la mort (DEVILLERS, 2003). Les pyréthrinoïdes soit la perméthrine et l'esfenvalérate sont aussi généralement très neurotoxiques sur les abeilles et induisent chez elles des mouvements erratiques, une incapacité à voler, suivie par une paralysie et par la mort (HASSALL, 1990).

Les problèmes liés à l'apparition croissante des résistances multiples aux insecticides chez les insectes ravageurs entraînent une course permanente à la création de nouvelles molécules insecticides et de préférence à de nouvelles familles ou d'autres stratégies de traitement. C'est dans ce cadre que les néonicotinoïdes, sont développés. Les insecticides néonicotinoïdes, qui incluent l'imidaclopride, l'acétamipride, la clothianidine, le thiaméthoxam, le thiaclopride, le dinotéfurane et le nitenpyram, constituent un groupe important de neurotoxines agissant spécifiquement comme des antagonistes des récepteurs nicotiques de l'acétylcholine des insectes (nAChR) (MATSUDA *et al.*, 2001; MILLAR et DENHOLM, 2007; ELBERT *et al.*, 2008). Les néonicotinoïdes présents dans le système nerveux se fixent sur les récepteurs nicotiques, les activent et créent une dépolarisation membranaire. Les néonicotinoïdes n'étant pas dégradés, la dépolarisation persiste et le neurone est hyperexcité. L'hyper-excitation prolongée du neurone entraîne sa dépolarisation puis sa mort (MATSUDA *et al.*, 2001). Les effets sublétaux de l'exposition des abeilles au groupe des néonicotinoïdes peuvent inclure une activité anormale de l'alimentation (YANG *et al.*, 2008; SCHNEIDER *et al.*, 2012), réduire la mémoire olfactive et les performances d'apprentissage (DECOURTYE *et al.*, 2003; DECOURTYE *et al.*, 2004) et peuvent aussi altérer le sens de l'orientation (BORTOLOTTI *et al.*, 2003). Pourtant, les conséquences de ces difficultés du comportement sur le sort des butineuses en liberté et sur la dynamique de la colonie sont extrêmement difficiles à évaluer sur le terrain et restent peu étudiés (HENRY *et al.*, 2012). L'influence néfaste des néonicotinoïdes sur la physiologie et le comportement de l'abeille a retenu notre attention pour le choix du thème de recherche. Au sein de ce groupe, le thiaméthoxame est le premier de la sous-classe des thianicotinyles. Il possède des caractéristiques systémiques exceptionnelles. La préparation commerciale Actara 25% WG qui contient le thiaméthoxame est reconnue comme étant toxique pour les abeilles et par conséquent, elle est interdite d'usage pendant la période de floraison. Cependant, le thiaméthoxame est systémique. Il se trouve donc présent en faibles concentrations dans le végétal traité pendant tout son cycle de développement. Quels sont les effets induits chez l'abeille par la contamination par de faibles doses de thiaméthoxame qui pourrait être contenu dans le pollen et le nectar au moment de la floraison, telle est la question posée ? Pour essayer d'apporter une réponse à cette problématique, il est nécessaire de déterminer d'abord la sensibilité de l'abeille domestique locale *Apis mellifera intermissa* Buttel-Reepen, 1906 et *Apis mellifera sahariensis* Baldensperger, 1924

en testant la toxicité aigue orale et de contact qui donne des indications sur le seuil de sublétalité. Ensuite la toxicité subchronique est étudiée.

L'identification des abeilles au niveau des lignées, des races et des écotypes peut être envisagée au moyen de deux types d'approche, les uns morphométriques et les autres moléculaires. La capacité d'adaptation de l'abeille domestique *Apis mellifera* à une grande variété d'environnements a abouti à l'évolution de nombreuses sous-espèces (HEPBURN et RADLOFF, 1998). Au sein de son aire native de répartition *Apis mellifera* est confiné à la partie occidentale de l'ancien monde: l'Europe, l'Afrique, le Proche et le Moyen-Orient. Dans son aire de distribution d'origine, *Apis mellifera* est diversifiée et différenciée en 29 sous-espèces ou races géographiques qui montrent des caractéristiques écologiques et comportementales qui leur sont propres (RUTTNER, 1988, ENGEL, 1999; SHEPPARD ET MEIXNER, 2003). Les abeilles domestiques locales soit *Apis mellifera sahariensis* n'a pas fait l'objet d'étude biométrique à part quelques travaux réalisés sur *Apis mellifera intermissa* qui restent incomplètes (KOUDJIL, 1990; LOUCIF, 1993; BAROUR *et al.*, 2005; BERKANI *et al.*, 2005, ACHOU, 2007 ; BERKANI, 2008). Au Maroc, d'autres études sont effectuées sur les deux races d'abeilles (CORNUET *et al.*, 1988), ainsi qu'en Lybie (SHAIBI *et al.*, 2009) et en Tunisie seulement sur *Apis mellifera intermissa* (GRISSA *et al.*, 1990). Les abeilles africaines ont fait aussi l'objet de plusieurs travaux (HASSAHYEN et EL-BANDY, 1956 ; RUTTNER, 1976, 1988; GABRIN *et al.*, 1979 ; HEPBURN et RADLOFF, 1996 ; HEPBURN et RADLOFF, 1997, RADLOFF et HEPBURN, 2000 ; AMSSALU *et al.*, 2004 ; PARAISO *et al.*, 2011). Il est intéressant de souligner que dans le monde plusieurs auteurs se sont penchés sur les marqueurs morphométriques notamment en Europe (TOMASSONE et FRESNAYE, 1971; CORNUET *et al.*, 1975, 1978, 1982, 1988; RUTTNER *et al.*, 1978; LEPORATI *et al.*, 1984; SANTIAGO *et al.*, 1986; CORNUET et FRESNAYE, 1989; KAUHUSSEN-KELLER *et al.*, 1997 ; SHEPPARD *et al.*, 1997; SINACORI *et al.*, 1998; BRUNEAU et VANDYCK, 2008 ; SEIJO et ESCUREDO, 2009 ) en Asie (MATTU et VERMA, 1984; VERMA *et al.*, 1994 ; TAN *et al.*, 2007; RAJPER et FAROOQI, 2012) en Amérique (ANDERE *et al.*, 2008 ) et en Afrique (BUCO *et al.*, 1987; HEPBURN *et al.*, 2001; RADLOFF *et al.*, 2005a ; RADLOFF *et al.*, 2005b).

Selon RUTTNER *et al.* (1978) et RUTTNER (1988), les études biométriques ont permis de classer ces sous-espèces en quatre lignées évolutives nommées M, C, A, et O. Ces lignées ont une répartition géographique fortement structurée et sont situées dans les régions ouest-méditerranéenne (M), nord-méditerranéenne (C), africaines (A) et en Turquie et dans le Caucase (O). Depuis les travaux de RUTTNER (1988), l'utilisation de divers marqueurs moléculaires a permis de confirmer dans ses grandes lignes cette classification (SMITH, 1991, GARNERY *et al.*, 1992; 1995; ESTOUP *et al.*, 1995; ARIAS et SHEPPARD, 1996). L'ADN mitochondrial s'est avéré beaucoup plus informatif, notamment pour retracer l'histoire évolutive de l'espèce (GARNERY *et al.*, 1992; SMITH, 1991). En outre, un test rapide fondé sur l'hydrolyse par l'enzyme de restriction *DraI* de la région intergénique COI-COII amplifiée par PCR permet actuellement d'appréhender la différenciation génétique entre sous-espèces et entre populations (GARNERY *et al.*, 1993). Les études menées sur l'ADNmt confirment globalement les conclusions issues de l'analyse morphologique. Les trois lignées mitochondriales observées s'avèrent relativement concordantes avec les trois principales lignées A, M, et C décrites par RUTTNER *et al.*, (1978). Les différences les plus importantes montrent que l'aire de répartition de la lignée M est l'Europe de l'ouest. De plus, l'analyse de l'ADNmt met en évidence de possibles zones d'hybridation entre les lignées M et A en Espagne (SMITH *et al.*, 1991; GARNERY *et al.*, 1995; SMITH et GLENN, 1995), entre les lignées C et A dans plusieurs îles de la Méditerranée (GARNERY *et al.*, 1993) et de nombreuses introgressions liées à l'importation récente de reines dans la lignée M ( DE

LA RUA *et al.*, 1998; GARNERY *et al.*, 1993) ou à diverses introduction dans les population du Nouveau monde (SMITH et BROWN, 1988; OLDROYD *et al.*, 1995, SHEPPARD *et al.*, 1999). Les sous-espèces d'abeilles africaines sont regroupées dans la lignée évolutive A par RUTTNER (1988), sur la base de caractères morphométriques, géographiques et comportementaux. Cependant, après l'analyse moléculaire de l'ADN mitochondrial, les abeilles de l'Ethiopie sont regroupés dans une lignée distincte appelée "Y" (FRANCK *et al.*, 2001), et celles de la Libye sont incluses dans la lignée O (SHAIBI *et al.*, 2009), qui ne devait auparavant inclure que les populations d'abeilles de l'Est méditerranéen, du Proche-Orient et de l'Egypte. Récemment, le nombre de sous-espèces africaines a augmenté à douze après la description d'*A. m. simensis* par MEIXNER *et al.* (2011) laquelle est endémique au niveau du système de dôme volcanique de l'Éthiopie. RUTTNER (1975) signale les sous-espèces suivantes: *A. m. intermissa*, *A. m. sahariensis*, et *A. m. major* en Afrique du Nord-Ouest, *A. m. lamarckii* et *A. m. nubica* en Egypte et au Soudan, *A. m. scutellata*, *A. m. littorea*, *A. m. monticola*, *A. m. adansonii*, *A. m. capensis* et *A. m. uniclor* en Afrique centrale et du Sud et *A. m. jemenitica* dans le Sud-Ouest de l'Arabie Saoudite et du Yémen du Nord. Les populations d'abeilles du Nord-Ouest de l'Afrique sont actuellement considérées comme des membres de deux sous-espèces, celles d'*A. m. intermissa* et d'*A. m. sahariensis* (HEPBURN et RADLOFF, 1998), bien que la plus grande abeille noire de la région du Rif du Maroc est décrite comme une troisième sous- espèce nommé *A. m. major* par RUTTNER (1975), ce qui n'a pas été pris en charge par les auteurs précédemment mentionnés. Ces sous-espèces montrent d'importantes différences morphométriques. Mais l'introggression et l'hybridation entre les "morphoclusters" sont révélées par les données de phéromones et d'allozymes (HEPBURN et RADLOFF, 1996), ainsi que par les données mitochondriales et microsattellites (DE LA RUA *et al.*, 2007). La diversité de l'abeille souffre davantage sur son aire de répartition naturelle d'un certain nombre d'effets négatifs issus des pratiques humaines par l'utilisation inappropriée des pesticides et des herbicides (DE LA RUA *et al.*, 2009). Ces pratiques entraînent une diminution de la biodiversité des plantes qui réduit les sources de nourriture pour les abeilles. En outre, les campagnes de lutte antiacridienne au Sahara au cours des années 1965, 1987 et 2003 ont décimé les populations d'insectes, y compris celles de l'abeille saharienne. Cette dernière est remplacée par l'abeille tellienne provenant de la région Nord. Ces menaces soulignent la nécessité de caractériser les populations d'abeilles du Sahara algérien, par l'utilisation de marqueurs moléculaires. Par ailleurs peu d'études dans ce sens sont réalisées sur les populations de l'abeille tellienne (GARNERY *et al.*, 1993; FRANCK *et al.*, 2001; ACHOU, 2007; LOUCIF-AYAD, 2009). Dans cette perspective, nous avons étudié un échantillon représentatif des populations d'abeilles algériennes, d'abord par la détermination de leur haplotype mitochondrial, et ensuite par l'étude de la génétique des populations et la structure à travers l'analyse de la variation de dix locis microsattellites. Ces marqueurs moléculaires sont largement utilisés pour étudier différents aspects de la génétique des populations, le parasitisme, la biologie de la reproduction, ou de la différenciation des lignées (DE LA RUA *et al.*, 2009). Nous testons l'impact de l'introduction de reines d'abeilles domestiques par la recherche de marqueurs moléculaires totaux ou partiels correspondant à la fois aux populations d'abeilles du Nord et du Sud algérien. De cette façon, nous serons en mesure de détecter les signes d'introggression des populations du Nord dans des endroits subsahariens. Cette étude est complétée par une analyse biométriques de l'abeille saharienne d'Algérie qui sera comparée d'abord à *Apis mellifera sahariensis* du Maroc, puis aux abeilles telliennes du centre algérien et du Maroc et aux abeilles de la péninsule ibérique *Apis mellifera iberiensis*.

Dans la présente étude, le matériel et méthodes sont bien développés dans le premier chapitre. L'accent est mis sur le matériel biologique, les sites d'échantillonnages et la



méthodologie de travail concernant l'étude toxicologique, la diversité génétique ainsi que la biométrie. Dans le second chapitre, les résultats sur l'évaluation de la toxicité aiguë et de la toxicité subchronique du thiaméthoxame, de la diversité génétique ainsi que sur la biométrie de l'abeille domestique locale sont exposés et commentés. Le troisième chapitre est consacré aux discussions. Enfin une conclusion générale accompagnée de perspectives clôture notre travail.

# Chapitre I - Matériel et Méthodes

Ce chapitre traite d'abord du matériel biologique utilisé, suivi par la matière active de l'insecticide expérimenté. Ensuite les sites des différents échantillonnages sont exposés. Toutes les explications utiles sur la méthodologie adoptée pour l'étude toxicologique, l'analyse moléculaire et l'analyse morphométrique sont données. L'analyse statistique choisie pour exploiter les résultats est bien développée.

## 1.1. - Matériel biologique

Le matériel biologique utilisé concerne les deux races de l'abeille domestique locale qui sont *Apis mellifera intermissa* et *Apis mellifera sahariensis*.

### 1.1.1 – Abeille tellienne : *Apis mellifera intermissa*

---

C'est une abeille grande de taille et à pigmentation uniformément foncée avec quelquefois de nombreux éclaircissements peu nets sur les tergites abdominaux et le scutellum. La longueur de la langue est de 6,5 mm en moyenne. Le tomentum est étroit; la pilosité est courte; l'indice cubital est très variable (2,2 mm en moyenne) (RUTTNER, 1975). Cette race est sujette à l'essaimage, montre un comportement agressif et une utilisation abondante de la propolis (RUTTNER, 1988). Cette race se retrouve dans le Nord de l'Afrique (Maroc, Tunisie, Algérie), le long de la côte méditerranéenne (CORNUET *et al.* 1988; GRISSA *et al.* 1990).

### 1.1.2. – Abeille saharienne : *Apis mellifera sahariensis*

---

L'abeille saharienne est décrite par BALDENSPERGER (1924). Elle est de petite taille jaune et à indice cubital élevé. Peu agressive, elle possède une résistance remarquable aux conditions difficiles de chaleur et de sécheresse du milieu. Son aire de répartition s'étend dans le Sud marocain et dans tout le territoire Sud-Ouest algérien, plus particulièrement dans les monts des Ksours jusqu'à Ain El Sefra, Morgrar, Sfisifa Béchar, Djebel Antar, Djebel Bouarid, Djebel Grouz, Daria l'Hamar et Beni Ounif (HACCOUR, 1960). La plupart des caractères de cette race, pigmentation exclue, la confondent avec *A. mellifera intermissa*. Sa taille et la longueur de sa langue la situent entre celle-ci et les races plus petites d'Afrique occidentale, ce qui a provoqué une remise en question de l'autonomie de cette race (RUTTNER, 1975).

## 1.2. - Matière active de l'insecticide expérimenté : Thiaméthoxame

---

Le thiaméthoxame est le premier représentant de la seconde génération des néonicotinoïdes et appartient à la sous-classe des thianicotinyles (MAIENFISCH *et al.*, 1999). Il possède des caractéristiques systémiques exceptionnelles et un fort effet préventif face à la transmission des virus (détail en annexe 1). Les qualités de cet insecticide permettent des méthodes d'applications flexibles, une excellente efficacité, supérieure à celle de l'imidaclopride ou de l'acétamipride et une activité résiduelle prolongée.

Le thiaméthoxame est synthétisé pour la première fois en 1991 et commercialisé par Syngenta Crop Protection depuis 1998 sous les marques Actara® pour les traitements foliaires et les traitements du sol et Cruiser® pour les enrobages de semences. Les enregistrements en vue de leur homologation sont faits dans 52 pays, principalement en Amérique latine, en Europe orientale et en Asie. Des demandes d'enregistrement sont également faites aux États-Unis et au Canada à la fin de 1998, et en Europe et au Japon au début de 1999 (MAIENFISCH *et al.*, 2001). Le thiaméthoxame est homologué en Algérie sous la marque Actara 25 WG pour son utilisation contre les pucerons et les aleurodes de toutes les cultures. La structure chimique du thiaméthoxame est représentée sur la figure 1.

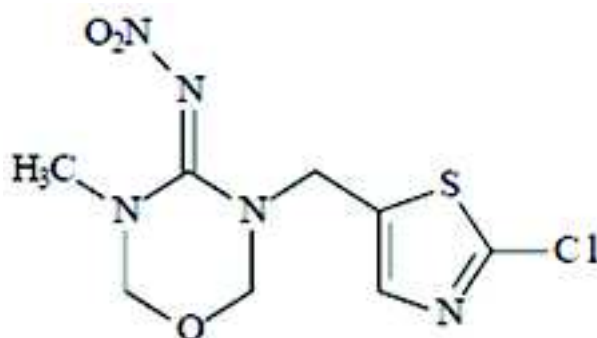


Figure 1- Structure chimique du Thiaméthoxame

### 1.3. - Présentation des sites d'échantillonnage

La présentation des sites d'échantillonnage pour l'étude toxicologique, l'origine du matériel biologique ayant servi pour l'analyse moléculaire et les lieux des prélèvements des échantillons pour l'analyse morphométrique sont bien détaillés.

#### 1.3.1. - Sites d'échantillonnage pour l'étude toxicologique

Les abeilles ouvrières sont collectées à partir du rucher expérimental du département de Zoologie agricole de l'École nationale supérieure agronomique (ENSA) d'El Harrach.

Les abeilles collectées sont des ouvrières appartenant aux deux races d'abeilles algériennes ci-dessus mentionnées. *Apis mellifera intermissa* provient de la plaine de la Mitidja et *Apis mellifera sahariensis* de la région de Ben Zireg de la wilaya de Béchar. Ces ruches ne font l'objet ni de la transhumance ni de traitements à l'aide de pesticides. La colonie utilisée doit présenter un état général satisfaisant et une absence de symptômes pathologiques visibles.

### 1.3.2. - Origines du matériel biologique ayant servi pour l'analyse moléculaire

Les ouvrières d'abeilles domestiques sont échantillonnées à partir de 92 colonies durant la période 2008-2009 soit 42 colonies de la race tellienne réparties entre la zone côtière, l'Atlas tellien et les Hauts plateaux et 50 colonies de la race saharienne provenant de la steppe et des zones sahariennes (Tab. 1 ; Fig. 2). Ces colonies sont regroupées en six populations en fonction des zones biogéographiques telles que définies par QUEZEL et SANTA (1962a, b) et BARRY *et al.* (1974) : population du Littoral Est (Alger, Bejaia, Sétif et Skikda), population du Littoral Ouest (Tlemcen, Oran, Mostaganem et Ténès), population des Hauts plateaux (Sidi Bel Abbès, Saida, Tiaret, M'sila, Batna et Tebessa), population de la steppe ( Bayadh), population de la steppe subsaharienne (Ain Sefra) et la population du Sahara (Béchar). Les 12 colonies de la steppe (Bayadh) appartenaient à un rucher isolé établie à des fins de conservation.

Régions		Localités	Latitudes	Longitudes	Altitudes	N
Abeille tellienne	Littoral Ouest	Tlemcen Nedroma (1)	35° 0'0.00"N	1°43'60.00"W	670 m	3
		Oran Senia (2)	35°39'0.00"N	0°37'60.00"W	92 m	3
		Mostaganem Mohamadia (3)	35°35'26.91"N	0° 3'30.47"E	38 m	3
		Tenes Tarnesguida (4)	36°19'23.52"N	2°41'16.08"E	533 m	3
		Alger Dar el Beida (5)	36°44'8.93"N	3°14'9.62"E	15 m	3
	Littoral Est	Bejaia Aokas (6)	36°38'3.76"N	5°16'28.02"E	34 m	3
		Sétif Beniourtilane (7)	36°21'44.87"N	4°52'58.22"E	1220 m	3
		Skikda El Harouch (8)	36°39'0.00"N	6°49'60.00"E	133 m	3
		Sidi Bel Abbes Sidi B. B. (9)	35°11'59.73"N	0°38'6.87"W	490 m	3
		Saida Saida (10)	34°50'26.71"N	0° 8'58.10"E	967 m	3
	Hauts-Plateaux	Tiaret Tiaret (11)	34°52'41.59"N	1°37'41.51"E	1157 m	3
		M'sila Boussada (12)	35° 7'8.31"N	4°25'44.65"E	845 m	3
		Batna Tazoult (13)	35°15'44.30"N	5°54'22.36"E	1000 m	3
		Tebessa Bir elatar (14)	34°44'46.83"N	8° 3'25.45"E	881 m	3
Abeille saharienne		Steppe	Bayadh Sidi Slimane (15)	33°49'20.96"N	1°44'51.26"E	1302.m
	Steppe subsaharienne	Ain Sefra DZira Site2 (16)	32°44'42.12"N	0°35'29.13"W	1077.m	6
		Ain Sefra DZira Site1 (17)	32°44'38.72"N	0°35'29.13"W	1078.m	6
		Ain Sefra Skhouana (18)	32°44'34.42"N	0°34'53.74"W	1099.m	7
		Sahara	Bechar Ben Zitreg (19)	31°54'59.73"N	1°50'59.66"W	949.m
	Bechar Mhadjeb (20)		31°54'31.46"N	2°20'48.75"W	892.m	6
	Bechar Sfisifa (21)		31°55'29.00"N	2°13'44.00"W	912.m	6

**Tableau 1** – Caractéristiques et répartition des localités d'échantillonnage et nombres de colonies analysées (N)

Les chiffres entre parenthèses correspondent aux localités de la figure 2 Les échantillons sont conservés dans l'éthanol absolu à - 20 ° C. jusqu'au moment de l'étude.

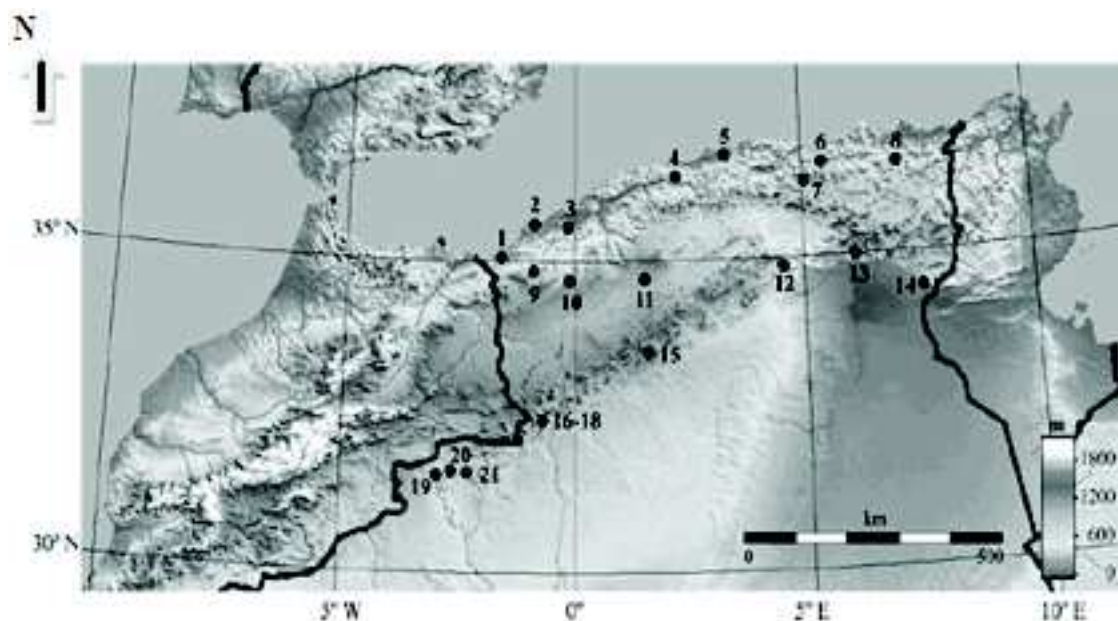


Figure 2 – La carte d'Algérie avec la localisation des échantillons.

### 1.3.3. - Lieux des prélèvements des échantillons pour l'analyse morphométrique

Pour le travail morphométrique 50 colonies de la race saharienne décrites dans le tableau 1 sont prises en considération. L'échantillonnage de l'abeille tellienne est réalisé en 2010 et ne concerne que la région centre (Tipaza, Alger, Blida, Médéa, Boumerdes et Tizi-Ouzou) à raison de 4 colonies analysées pour chaque localité. Des échantillons de référence sont pris en considération soit 14 colonies de l'abeille tellienne et 9 colonies de la race saharienne originaires du Maroc (DE LA RÚA *et al.* 2007) et 9 colonies de la race ibérique *Apis mellifera iberica*. RUTTNER (1988) suggère que 10 à 20 abeilles seraient une dimension suffisante pour une analyse morphométrique et statistique. De ce fait, 10 abeilles par colonie sont prises comme échantillon standard.

## 1.4. - Etude toxicologique

Les tests classiques de toxicologie de l'abeille mettent en œuvre une administration des pesticides par contact topique ou par ingestion selon la méthode 95 de la Commission des essais biologiques (CEB). Les abeilles peuvent s'intoxiquer de deux manières, soit par l'ingestion de thiaméthoxame ou par celle de ses métabolites contenus dans le nectar ou dans le pollen, soit par contact direct dans le cas de Actara qui est utilisé en goutte à goutte et pulvérisé sur les végétaux.

La méthode toxicologique débute par l'étude de la toxicité aiguë permettant d'évaluer la toxicité intrinsèque du thiaméthoxame chez l'abeille domestique locale. La détermination de

la dose létale 50 (DL 50) est faite au préalable. Puis les doses de thiaméthoxame à utiliser pour l'étude de la toxicité réitérée et subchronique sont fixées.

### **1.4.1. - Emploi des cages de contention**

---

Les cages de contention de type Pain (12 x 11 x 8 cm) sont en bois, fermées sur deux côtés par des plaques fines de plexiglas amovibles et percées d'orifices permettant l'aération. Le dessus de la cage est constitué d'une plaque en bois fixe, percée de deux orifices. Ces derniers permettent le passage de deux tubes à essai de 5 ml servant d'abreuvoir et de nourrisseur.

### **1.4.2. - Préparation et conservation des abeilles**

---

Le prélèvement des abeilles, les modalités d'application de l'anesthésie ainsi que la conservation des abeilles sont traités.

#### **1.4.2.1. - Prélèvement des abeilles**

Les abeilles sont prélevées dans la colonie la veille de l'essai. Après le prélèvement, elles sont immédiatement soumises à une anesthésie afin de les répartir entre les cages de contention à raison de 20 individus par enceinte. Des abeilles supplémentaires sont à prévoir pour remplacer les individus morts ou présentant des comportements anormaux.

#### **1.4.2.2. - Modalités de l'anesthésie**

Quel que soit le test toxicologique à effectuer, toutes les abeilles subissent une anesthésie pour être réparties dans les cages de contention. Le jour du traitement, seules les abeilles utilisées pour le test de toxicité de contact sont soumises à une deuxième anesthésie pour subir le traitement.

L'anesthésie est réalisée par diffusion de dioxyde de carbone dans les boîtes de prélèvement ainsi que dans les cages de contention pour les tests de toxicité de contact. L'emploi de dioxyde de carbone doit être limité au minimum. Mais l'anesthésie doit être totale (OEPP, 1992). Le dioxyde de carbone doit être dispensé avec un faible débit afin de ne pas provoquer de baisse importante de la température au sein des boîtes de prélèvement ou des cages.

#### **1.4.2.3. - Conservation des abeilles**

Les abeilles sont placées à l'obscurité dans une enceinte climatisée à  $25 \pm 2$  °C et à une humidité relative comprise entre 50 et 70 %. Pendant toute la durée du test, les abeilles sont alimentées *ad libitum* avec du candi et de l'eau (Fig. 3).

### **1.4.3. - Définition d'un test**

---

L'unité expérimentale est la cagette de 20 abeilles. Chaque essai comprend les traitements témoins à l'aide d'une solution de saccharose en supplément de l'acétone et des traitements-essais avec différentes doses du produit à tester. Chaque modalité de traitement comprend 3 cagettes d'abeilles. Les essais sont répétés au minimum 3 fois en renouvelant chaque fois les abeilles et les solutions du produit à tester.

Les traitements témoins permettent d'estimer la mortalité naturelle et de vérifier la qualité des abeilles utilisées dans l'essai. Les traitements témoins permettent d'évaluer la toxicité du solvant utilisé pour préparer les solutions à base de thiaméthoxame.



**Figure 3** - Cagettes de contention de type Pain en place dans une étuve lors d'un essai toxicologique (Photographie CHAHBAR).

#### 1.4.4. - Toxicité aigue

La méthode de laboratoire officielle CEB n° 95, permet d'évaluer la toxicité aiguë des produits phytopharmaceutiques, chez l'abeille adulte ouvrière *Apis mellifera* par détermination des doses létales 50 % (DL50) orale et de contact 24 heures et 48 heures après les traitements.

##### 1.4.4.1. - Toxicité orale

Le jour de l'essai, les abeilles préalablement réparties en cagettes, sont alimentées au moyen de solutions contenant le produit à tester aux concentrations désirées. Avant le traitement, les abeilles sont soumises à un jeûne de 2 heures à  $25 \pm 2$  °C. et à l'obscurité. Les solutions de thiaméthoxame sont préparées dans 1% d'acétone et sont ensuite diluées 10 fois dans la solution de saccharose à 50% (poids/volume). La concentration finale de l'acétone dans les traitements témoins et les traitements essais est de 0,1% (volume/vol.). Les abeilles sont nourries avec 200  $\mu$ l soit 10 $\mu$ l par abeille. En effet, chaque abeille reçoit 10  $\mu$ l de solution de saccharose supplémenté à l'acétone pour les traitements témoins et 10 $\mu$ l de solution de saccharose avec des doses croissantes de substance active dissoute dans l'acétone pour les traitements-essais (détail de plan dilution en annexe 2). Au cours de

l'ingestion de différentes solutions, les abeilles sont placées à  $25 \pm 2^\circ \text{C}$ . Le temps maximum pour la consommation de la totalité des différentes solutions est de 6 heures. Celles-ci sont remplacées au-delà de ce temps par du candi et de l'eau. Lors des différents traitements, chaque quantité de solution ingérée par les abeilles est notée. La mortalité des abeilles est enregistrée au bout de 24, de 48 et de 72 heures aussi bien pour les témoins que pour les individus traités.

Pour l'étude de la variation de la toxicité aiguë en fonction des volumes administrés, les abeilles sont traitées de la même façon. Les abeilles de chaque lot sont nourries à l'aide de 100, 200, 500 et 1000  $\mu\text{L}$ , soit par abeille avec 5, 10, 25 et 50  $\mu\text{L}$  de solution de saccharose à 55,5% (poids/volume). Pour chaque volume 6 doses croissantes par abeille sont utilisées. Ces doses sont 1 ng, 10 ng, 20 ng, 50 ng et 90 ng de substance active le thiaméthoxame dissous dans l'acétone pour les traitements-essais. Parallèlement pour les traitements-témoins, il est employé une solution de saccharose à 55,5% (poids/volume) en présence d'acétone.

#### **1.4.4.2.- Toxicité de contact**

Un microlitre de solution de substance active, dissoute dans 100 % d'acétone pour les traitements-essais, est déposé sur le thorax de l'abeille à l'aide d'une micro-seringue en verre de type Hamilton à 1  $\mu\text{L}$  de volume avec une précision et reproductibilité de  $\pm 0,05\%$ . Après l'application, toutes les abeilles sont nourries avec le candi et de l'eau *ad libitum*. Les abeilles témoins reçoivent 1  $\mu\text{L}$  de solvant pur. La mortalité des abeilles est notée 24, 48 et 72 heures après l'application topique.

#### **1.4.5. - Toxicité réitérée**

---

Les abeilles dans les cagettes sont réparties de la même manière à raison de 20 abeilles par enceinte. A partir de la toxicité aiguë, quatre doses (DL80, DL20 et 2 doses sublétales) sont choisies. Ces doses sont données en seule fois (dose unique) et en réitérée (même dose fractionnée sur 5 jours).

Avant le traitement, les abeilles sont soumises à un jeûne de 2 heures à  $25 \pm 2^\circ \text{C}$ . et à l'obscurité. Elles sont ensuite nourries avec 200  $\mu\text{L}$  (soit 10  $\mu\text{L}$  par abeille) à l'aide d'une solution de saccharose à 55,5 % (poids/volume) contenant le produit à différentes doses (doses uniques et doses réitérées). Après avoir consommé le sirop contenant les différentes doses, les abeilles sont alimentées avec du candi et de l'eau.

Chaque jour, à la même heure, et avant de faire jeûner les abeilles, les morts sont comptés et les abeilles vivantes sont notées sur les cagettes afin d'ajuster la quantité de toxique pour les doses réitérées. La mortalité est contrôlée pendant 5 jours à la même heure chez les abeilles traitées aux doses réitérées et aux doses uniques.

#### **1.4.6. - Toxicité subchronique**

---

La répartition des abeilles est la même que précédemment à raison de 20 abeilles par cagette, seul le temps d'intoxication change. En effet, pour les traitements-essais, les abeilles sont nourries pendant 10 heures avec des solutions de saccharose à 50 % (poids/volume) contenant le thiaméthoxame dissous dans 1% d'acétone, aux doses suivantes 0,01, 0,1, 1 et 10  $\mu\text{g}/\text{L}$ . La concentration de l'acétone est de 0,1% dans la solution de saccharose.



La mortalité des abeilles est suivie journalièrement pendant dix jours. Toutes les solutions de thiaméthoxame sont préparées à chaque essai.

## 1. 5. - Analyse moléculaire

Deux types de marqueurs moléculaires complémentaires sont actuellement utilisés en routine pour étudier la diversité génétique : l'ADN mitochondrial et l'ADN nucléaire (microsatellites).

### 1.5.1. - L'ADN mitochondrial

---

L'ADN mitochondrial est un marqueur idéal de la colonie d'abeilles. Tous les individus de la colonie (ouvrières, mâles et reines de la génération suivante) partagent le même haplotype (aux mutations près). Cette propriété, associée à l'haploïdie du génome mitochondrial et à sa grande variabilité, lui confère un haut pouvoir de résolution. Il permet une détection précise des haplotypes étrangers dans une population (GRANERY et al., 1998). L'ADNmt de l'abeille est entièrement séquencé par CROZIER et CROZIER (1993) et a une taille approximative de 16343 pb (Fig. 4). La région intergénique est située entre les gènes des sous unités I et II de la cytochrome oxydase (COI-COII) qui contient une séquence non codante avec deux séquences élémentaires P et Q. La séquence P est de taille variable est montre plusieurs formes P (54-56 pb), P0 (62-69 pb), P1 (51pb) et la séquence Q (194-196pb) (GARNERY et al., 1993). L'arrangement de ces éléments et le polymorphisme de la séquence a permis la description de plus de 60 haplotypes mitochondriaux dans les populations d'abeille à travers le monde (GARNERY et al., 1993 ; 1995, 1998 ; DE LA RUA et al., 1998, FRANCK et al., 1998, 2000). Le polymorphisme de taille résulte de la présence / absence de la séquence P et de la variation du nombre de copies de la séquence Q qui peut être présente en un unique exemplaire ou répétée en tandem de deux à quatre fois. La séquence P, à elle seule, est caractéristique de la lignée évolutive (CORNUET et GARNERY, 1991, GARNERY et al., 1993). Elle est absente dans la lignée C, et elle est plus courte de 15 pb dans la lignée M que dans la lignée A. Du fait de sa plus grande similitude avec l'ARNtleu, la séquence de la lignée A est présumée ancestrale et est appelée P0 (FRANCK, 1999).



**Figure 4** - Dessin de lamolécule de l'ADN mitochondrial d'*A. mellifera* montrant la situation des différents gènes qui le composent (CROZIER et CROZIER, 1993).

#### 1.5.1.1. - Extraction de l'ADN

L'extraction de l'ADN est effectuée selon le protocole décrit par WALSH et al. (1991). Pour chaque abeille ouvrière, deux pattes, l'une mésothoracique et l'autre métathoracique sont prélevées et placées dans un puits d'une plaque pour PCR de 96 puits. Ensuite, la plaque est placée dans une étuve ventilée à 37 °C pendant 30 minutes pour évaporer l'éthanol.

Dans chaque puits il est ajouté ensuite 100µl de Chelex à 5% (Biorad, résine Chelex 100) et 5 µl de protéinase K. Le tout est ensuite placé au thermocycleur qui effectue le cycle suivant :

- 55 °C. pendant 1h 30 min
- 99 °C. 15 min
- 37 °C. 1 min
- 99 °C. 15 min

Après décantation, l'ADN est prélevé dans la phase liquide entre le culot de Chelex et la surface. Cet ADN prêt pour les amplifications va servir pour l'étude de l'ADN mitochondrial d'une part et d'autre part pour l'étude des locus microsatellites.

#### 1.5.1.2. – Amplification de la région intergénique

La région intergénique COI-COII de l'ADN mitochondrial (ADNmt) est étudiée selon le protocole décrit par GARNERY et al. (1993). Il repose sur l'amplification de la région intergénique située entre les gènes des sous-unités I et II du cytochrome oxydase.

L'analyse de l'ADNmt est particulièrement adaptée aux estimations des introgressions maternelles dans la population (GARNERY et al., 1998; FRANCK et al., 1998). Deux amorces spécifiques sont utilisées **E2 (5'GGCAGAATAAGTGCATTG 3')** et **H2 (5'CAATATCATTGATGACC3')** qui se fixent sur chaque brin de l'ADN par l'intermédiaire d'une enzyme thermorésistante, la Taq-polymérase qui peut synthétiser un nouveau brin à l'aide d'un brin matrice servant de modèle de transcription.

L'amplification par PCR est réalisée dans le thermocycleur à partir de 1 µl d'ADN dans un volume réactionnel de 25 µl. Cette amplification est faite selon le programme qui consiste en 30 secondes de dénaturation initiale à 95 °C., suivie de 36 cycles comprenant chacun 45 secondes de dénaturation à 95 °C., 1 min d'hybridation à 47 °C. et 30 secondes d'élongation à 70 °C., et finalement 10 min d'élongation finale à 72 °C.

Les produits de l'amplification seront examinés sur gel d'agarose à 1,5%. Une fois la migration effectuée, le gel est mis dans une chambre noire aux rayons ultraviolets pour visualiser la migration.

### 1.5.1.3. – Digestion enzymatique et électrophorèse en gel

Le reste de l'amplifié (20 µl) est soumise à une analyse de restriction avec l'enzyme *DraI* (GARNERY et al., 1993), dont le site de restriction 5'-TTTAAA-3' à 37 °C toute la nuit. Les fragments de l'ADN digéré sont visualisés dans NuSieve 4% d'agarose coloré au bromure d'éthidium et photographiés sous lumière UV. ou avec des gels d'éthidium bromuré d'agarose NuSieve. Dans les deux cas, les réactions de restriction ont été préparées en ajoutant au produit de PCR (10,5 µl) 1,25 unités d'endonucléase *DraI* et incubées 4-12 heures à 37 °C dans un bain d'eau dans un PTC-100 Thermal Cycler (BIORAD).

## 1.5.2. - Analyse de l'AND nucléaire (Microsatellites)

---

Les marqueurs microsatellites sont constitués de séquences répétées dont le nombre de répétitions varie d'un allèle à un autre. Chaque allèle trouvé pour chacun des locus est donc caractérisé par une taille qui lui est propre. Et c'est cette taille qui est analysée sur les gels de migration.

Chaque ouvrière possède deux allèles pour chaque locus, l'un provenant de la mère et l'autre du père. Les allèles peuvent être soit différents, l'abeille est alors qualifiée d'hétérozygote par rapport à ce locus, soit identiques dans ce cas où elle est homozygote pour ce locus.

Il existe un total de 10 loci microsatellites polymorphes (plex 1: A7, Ap43, AP55 et B124 et plex 2: A8, A79, A88, Ac11, Ap224 et Ap274 (ESTOUP et al., 1995; GARNERY et al., 1998; SOLIGNAC et al., 2003). L'amplification des locus microsatellites est réalisée avec deux PCR multiplex différents. Les réactions PCR sont réalisées à partir de 2 µl d'ADN extrait dans un volume total de 10 µL contenant 50 mM, KCl 10 mM Tris HCl (pH 9,0), 1,2 mM MgCl<sub>2</sub>, 0,3 µM de chaque dNTP, 0,8 µM de chaque amorce, 1,5 unités de la Taq polymérase (Biotools). La température d'alignement est fixée à 54 °C. (plex 1) et à 50 °C. pendant 20 cycles et 55 °C. pendant 20 cycles (plex 2). Les produits de la PCR sont visualisés par électrophorèse capillaire et dimensionnés avec une taille standard interne dans un service spécialisé à l'université de Valencia (Servei Central de Suport a la Investigació Experimental, University of Valencia, Spain).

## 1.6. - Analyse morphométriques

Les paramètres morphométriques mesurés et la préparation des échantillons sont abordés.

### 1.6.2. - Mesure des paramètres

L'étude biométrique est réalisée en faisant pour chaque abeille des mesures de 38 paramètres morphologiques (RUTTNER et al., 1978 ; RUTTNER , 1988). Ce sont les longueurs du proboscis (LP), du flagelle antennaire (LF), du fémur (Fe) et du tibia (Ti) (Fig.5). Pour ce qui est du métatarse, sa longueur (ML) et sa largeur (MT) sont notées. Il en est de même pour la longueur (FL) et la largeur (FB) des ailes antérieures. Les nervures cubitales (a et b), ainsi que l'indice cubital (a/b) sont pris en considération, au même titre que les 11 angles de A4 à O26 (A4, B4, D7, E9, G18, J10, J16, K19, L13, N23 et O26) de la nervation des ailes antérieures, la longueur (HL) et la largeur (HB) de l'aile postérieure, la longueur du troisième sternite (S3), la longueur (WL) et la largeur transversale (WT) du miroir à cire et la distance (WD) entre les miroirs à cire. Il est tenu compte aussi de la longueur (T6) et de la largeur (L6) du 6ème sternite, des longueurs (T3 et T4) et des largeurs (LT3 et LT4) des 3ème et 4ème tergites (Fig. 4). Les mesures sont effectuées à l'aide d'un microscope stéréoscopique couplé avec un appareil photographique. Elles sont faites en utilisant le dispositif SPOT vue avancée 4.6. SPOT Advanced ver. 4.6. (<http://www.diaginc.com/SpotSoftware/spotadvanced.shtml>). La longueur totale de la patte (CP), la somme des longueurs des tergites 3 et 4 (BS), le rapport de la longueur du 6ème sternite sur sa largeur (L6/T6) et l'indice métatarsal sont calculés.

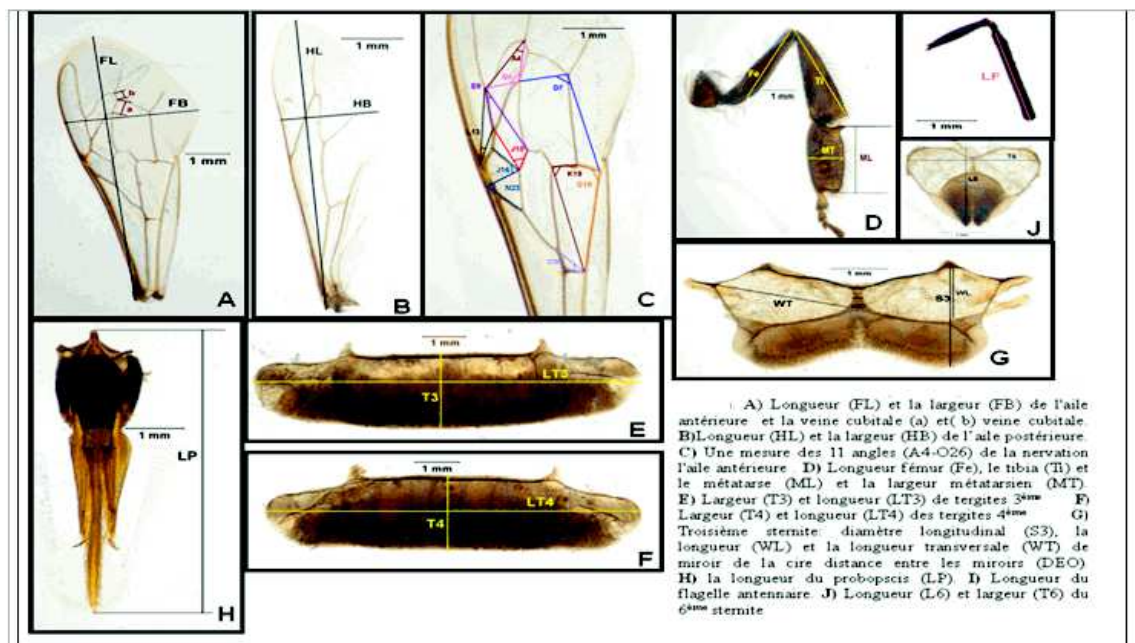


Figure 5- caractères morphométriques (Ruttner, 1988)

### 1.6.1. - Préparation des échantillons

La préparation des échantillons est réalisée par observation à l'aide d'une loupe. Chaque abeille est disséquée avec des pinces entomologiques. Les pièces disséquées sont les ailes

droites antérieures et postérieures, la patte postérieure, le probopscis, le flagelle antennaire, les tergites 3 et 4 et les sternites 3 et 6. Ces éléments sont montés sur une lame et recouverts avec un ruban adhésif transparent.

## 1.7. - Analyse statistique

Les analyses statistiques interviennent autant au niveau de l'étude toxicologique, que lors de l'analyse moléculaire et de l'analyse morphométrique.

### 1.7.1. – Techniques d'exploitation statistique des résultats de l'étude toxicologique

Toutes les abeilles mortes sont comptées au bout des délais préalablement définis. Pour pouvoir poursuivre l'expérimentation, la mortalité des abeilles dans les cagettes témoins ne devrait pas dépasser 10 % de la population initiale d'abeilles (EPPO, 1992).

Les mortalités sont exprimées en pourcentage par rapport à la population initiale après les avoir corrigées préalablement selon la formule d'ABBOTT (1925) :

$$M = \left( \frac{P - T}{S} \right) \times 100$$

*M* : Mortalité corrigée exprimée en pourcentage de la population initiale

*P* : Mortalité induite sous l'action de la substance active

*T* : Mortalité des témoins

*S* : Nombre de survivants pour les témoins.

Les données sont analysées en utilisant le logiciel XLSTAT 2012, en faisant appel à un test ANOVA à un seul facteur.

### 1.7.2. - Traitement statistique des résultats de l'Analyse moléculaire

La détermination des haplotypes est faite par la taille des amplicons et les motifs de restriction de chaque échantillon. La fréquence des haplotypes et la diversité génétique sont calculées à l'aide du logiciel Genalex (PEAKALL et SMOUSE, 2006). Le test exact de Fisher et une analyse des correspondances sont effectués pour examiner l'association possible (contingence) entre la fréquence des haplotypes et la région géographique, en utilisant la version 3.1 du logiciel ARLEQUIN (EXCOFFIER et al., 2005) et le logiciel SPSS biostatistique v.19 ((Biostatistique logiciels IBM® SPSS® Statistics, 2010).

Les paramètres génétiques de la population sont calculés avec GenAlex v.6 (PEAKALL et SMOUSE, 2006). La diversité génétique au sein des populations est évaluée par l'intermédiaire des fréquences des allèles et de l'hétérozygotie observée ( $H_o$ ) et calculée ( $H_i$ ). L'équilibre de Hardy-Weinberg est calculé avec Genepop (RAYMOND et ROUSSET, 1995). ARLEQUIN 3.1 est utilisé pour le calcul de F-statistique (EXCOFFIER et al., 2005). Les tests T et ANOVA sont calculés avec le logiciel SPSS v.19 (Biostatistique logiciels IBM® SPSS® Statistics, 2010). L'analyse de la structure génétique des populations est

réalisée à l'aide d'un modèle bayésien. La structure basée sur la méthode de clustering v 2.2 est employée pour inférer la structure des populations et l'affectation des individus à des populations (PRITCHARD et al., 2000). Cette méthode est probabiliste basée sur les génotypes multilocus et estime la probabilité à posteriori pour un nombre donné K de populations génétiques. Un modèle en supposant que la fréquence d'un mélange des allèles corrélés est utilisé. Les résultats sont basés sur des simulations de 80000 burn-in et marches 1000000 MCMC (Markov Chain algorithm de Monte Carlo) itérations. Cinq pistes pour chaque valeur K (K = 1-10) sont utilisés pour l'estimation de la valeur la plus probable de K. Le nombre de populations est déduit de la valeur de Ak tel que décrit par EVANNO et al. (2005).

### **1.7.3. – Techniques statistiques employées pour les analyses morphométriques**

---

Pour bien décrire les différents paramètres morphométriques des abeilles échantillonnées, il est calculé la moyenne arithmétique (M) et l'écart type qui mesure la dispersion des données autour de la moyenne. Les valeurs minimales (Min) et maximales (Max) qui donnent toutes les deux une idée sur l'étendue des données. Les calculs sont réalisés à l'aide du L'EXCEL (2010). Une analyse en composantes principales est réalisée avec l'XLSTAT 2012 et le programme PAST (Paleontological Statistics) version 2.03 (HAMMER et al., 2001).

---

# Chapitre II - Résultats

Les résultats de l'évaluation de la toxicité aiguë, de la toxicité subchronique du thiaméthoxame, de la diversité génétique et de la morphométrie des deux races d'abeilles sont exposés et traités par des analyses statistiques.

## 2.1. - Evaluation de la toxicité aiguë et de la toxicité subchronique du thiaméthoxame

L'évaluation de la toxicité aiguë, la variation de la toxicité aiguë orale du thiaméthoxame en fonction des volumes administrés à l'abeille domestique locale, ainsi que la variation de la toxicité aiguë orale de thiaméthoxame en fonction des saisons chez l'abeille domestique locale sont abordées. Ensuite la toxicité réitérée et la toxicité subchronique sont exposées.

### 2.1.1. - Evaluation de la toxicité aiguë

---

Pour comparer les effets létaux induits par le thiaméthoxame, les toxicités aiguës orale et par contact sont étudiées pour les deux races de l'abeille domestique, *Apis mellifera intermissa* et *Apis mellifera sahariensis*.

#### 2.1.1.1. – Observation des symptômes induits par le thiaméthoxame

Pour l'étude de la toxicité orale, les abeilles ingèrent en moyenne 10 µl de thiaméthoxame. La mortalité des abeilles est contrôlée au bout de 24 heures, de 48 heures et de 72 heures. Les symptômes de neurotoxicité observés à la fois chez *A. m. intermissa* et *A. m. sahariensis*, lors de l'intoxication orale par le thiaméthoxame se manifestent rapidement par une activité générale accrue, avec des mouvements désordonnés, des tremblements et des convulsions, puis un comportement apathique. Tous ces symptômes sont réversibles après 24 h chez les abeilles survivantes ou traitées avec des faibles doses. L'expérimentateur note également l'apparition des premiers cas de mortalité, déjà 15 minutes après l'ingestion des fortes doses du toxique par les deux races d'abeilles.

#### 2.1.1.2. – Toxicité orale

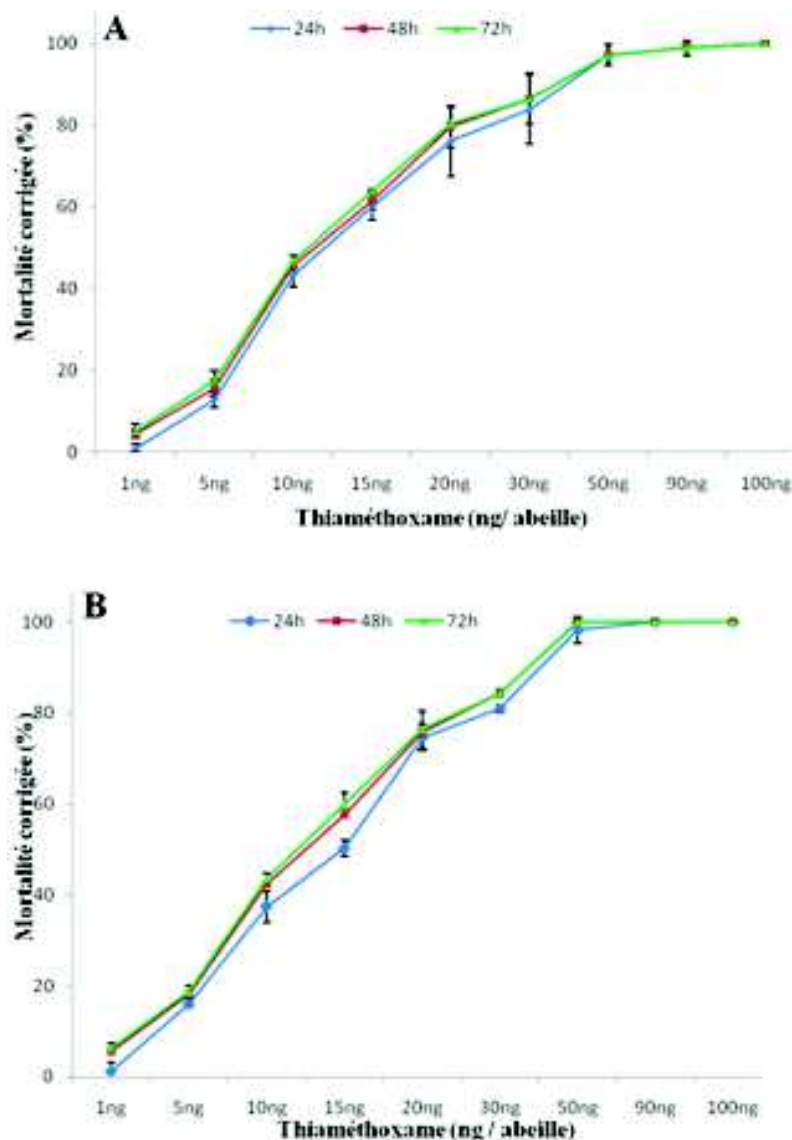
La relation dose–mortalité et la cinétique de la mortalité après l'intoxication par la voie orale sont suivies.

##### 2.1.1.2.1. – Relation dose–mortalité

Les résultats de toxicité aiguë par ingestion chez *A. m. intermissa* et *A. m. sahariensis*, sont représentés dans la figure 6 A et B. La mortalité augmente pour les deux races d'abeilles en fonction de la dose administrée. En effet, il existe une relation directement proportionnelle entre la dose de thiaméthoxame administrée et la mortalité observée. Le maximum de

**Evaluation de la toxicité d'un produit phytopharmaceutique sur les abeilles domestiques locales (*Apis mellifera intermissa* et *Apis mellifera sahariensis*) et diversité génétique.**

mortalité est atteint au bout de 24 heures après le traitement avec les doses qui dépassent 50 ng/abeille. En général, pour les doses inférieures à 50 ng/abeille le maximum de mortalité n'est atteint qu'au bout de 48 heures (Fig. 6). Pour les doses comprises entre 15 et 20 ng/abeille, les taux de mortalité signalés dépassent 50 % pour les deux races d'abeilles. Mais 100 % de mortalité sont atteints avec la dose de 100 ng/abeille pour *A. m. intermissa* après 24 heures et avec la dose de 50 ng/abeille pour *A. m. sahariensis* après 48 heures de traitement. Les doses de 5 et de 10 ng/abeille engendrent des taux de mortalité au sein de la population d'*A. m. intermissa* mise en expérience respectivement 13 % et 43 % au bout de 24 heures. De même pour *A. m. sahariensis* aux doses de 5 et de 10 ng/abeille les taux de mortalité engendrés sont de 16 % et 37% au bout de 24 heures. De petites variations pour ce qui est de la mortalité entre les répétitions sont observées comme en témoignent les faibles écarts types obtenus. En effet, il est à constater pour certaines expériences que le maximum de mortalité est atteint au bout de 24 heures de traitement. De ce fait les courbes de relation dose-mortalité sont superposées. Les résultats de l'analyse de la variance ANOVA ( $p < 0,0001$ ) montrent que l'effet traitement est hautement significatif pour ce qui est de la sensibilité au thiaméthoxame pour *A. m. intermissa* et *A. m. sahariensis*.





**Figure 6 - Relation dose mortalité après ingestion du thiaméthoxame**

**A** : *Apis mellifera intermissa* ; **B** : *Apis mellifera sahariensis* . La mortalité des abeilles est observée après 24 h, 48 h et 72 heures. Les données représentent la moyenne  $\pm$  erreur standard de 3 expériences réalisées en triplicat. L'absence de barre d'erreur correspond à un écart-type égale à 0. La mortalité des témoins est inférieure à 10 %.

**2.1.1.2.2. – Cinétiques de la mortalité**

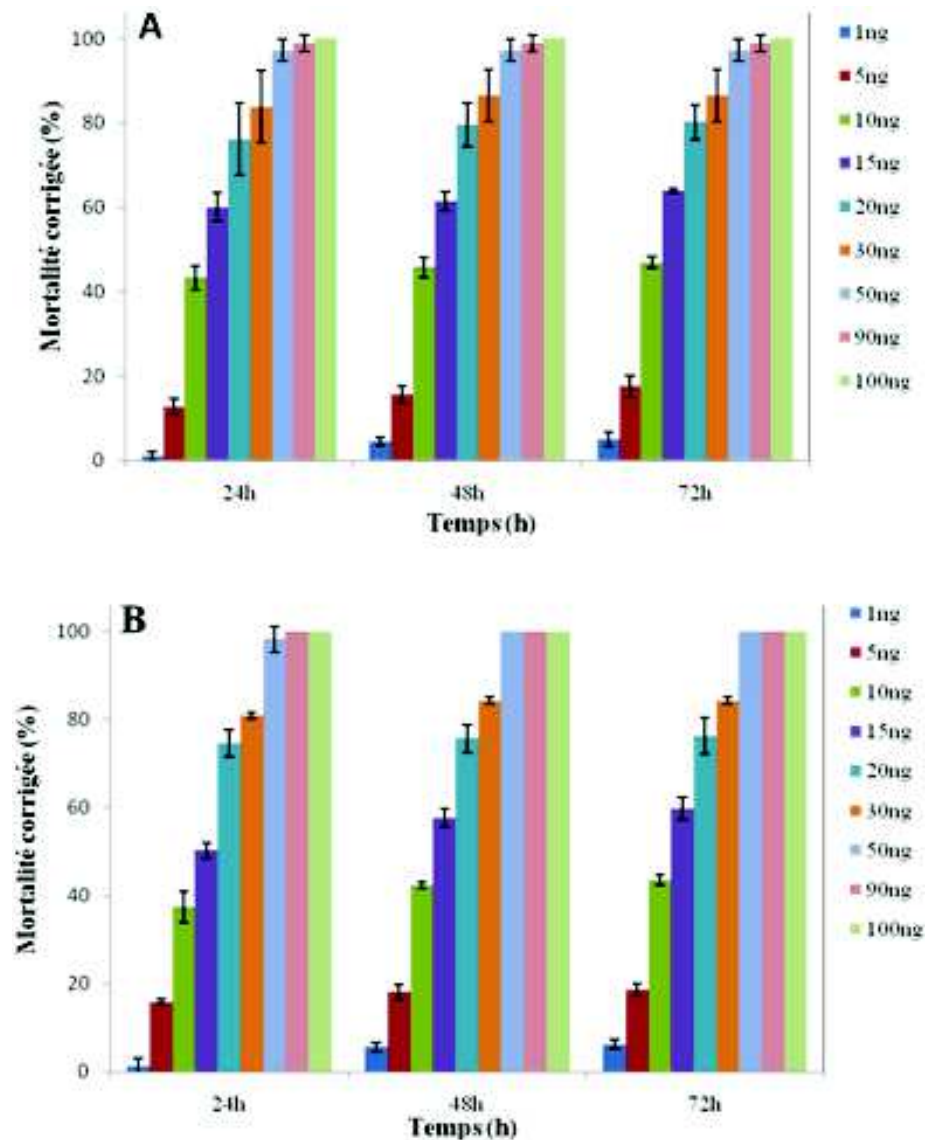
Les résultats de la cinétique de la mortalité sont représentés dans la figure 7 A et B. L'aspect de cette cinétique est classique. Plus la dose de thiaméthoxame est élevée et plus vite la mortalité apparaît. Pour *A. m. intermissa*, le maximum de mortalité est atteint 24 heures après ingestion du thiaméthoxame aux doses comprises entre 30 et 100 ng/ abeille (Fig.7). Pour *A. m. sahariensis* , 100 % de mortalité sont atteints au bout de 24 heures aux fortes doses de 90 et 100 ng/abeille alors que pour les doses comprises entre 20 et 50 ng/ abeille, le maximum de mortalité intervient 48 heures après l'ingestion du thiaméthoxame.

**2.1.1.3. – Toxicité de contact**

La relation dose–mortalité et la cinétique de la mortalité après l'intoxication par la voie topique sont développées.

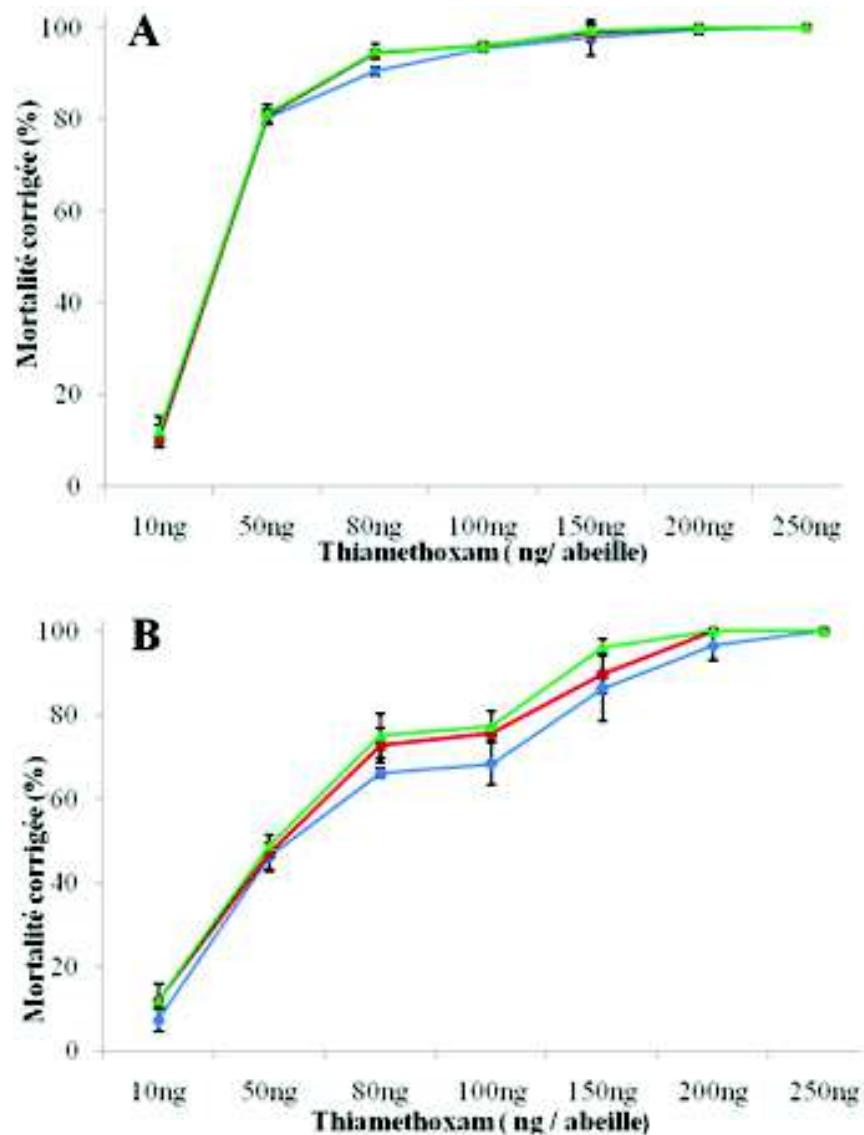
**2.1.1.3.1. - Relation dose- mortalité**

Les résultats de toxicité aigüe par l'application topique sont représentés dans la figure 8A et B . La mortalité augmente en fonction de la dose utilisée pour les deux races d'abeilles. En effet, la mortalité n'est pas retardée et le maximum de mortalité est atteint 24 heures après l'application topique du thiaméthoxame. Ce phénomène est beaucoup plus prononcé pour *A. m. intermissa.*, soit 100 % de mortalité au bout de 24 h (Fig.8). Par contre pour *A. m. sahariensis*, 100 % de mortalité sont engendrés avec une dose plus élevée, soit 200 ng/ abeille et après une plus grande durée (48 heures). Mais pour une plus forte dose, à 250 ng/ abeille, 100 % de mortalité interviennent au bout de 24 heures. Une faible dose de 10 ng/ abeille engendre de faibles mortalités au bout de 24 heures pour l'abeille tellienne (7,4 %) et pour l'abeille saharienne (11 %). La mortalité de *A. m. sahariensis* augmente atteignant 11,9 % au bout de 48 et de 72 heures. Pour *A. m. intermissa*, les taux de mortalité observés aux doses de 50 et 100 ng/abeille sont très élevés atteignant respectivement 81 et 96 %, alors que pour *A. m. sahariensis*, ces mêmes doses engendrent des taux de mortalité plus bas soit 48 % et 77 %. Les résultats de l'analyse de la variance ANOVA ( $p < 0,0001$ ) montrent



**Figure 7 - Cinétique de la mortalité après ingestion du thiaméthoxame**

**A :** *Apis mellifera intermissa* ; **B :** *Apis mellifera sahariensis* . La mortalité des pour les est observée pour des doses de 1ng, 5ng, 10ng, 15ng, 20ng, 30ng, 50ng, 90ng et 100 ng /abeilles. Les données représentent la moyenne  $\pm$  erreur standard de 3 expériences réalisées en triplicat. L'absence de barre d'erreur correspond à un écart-type égale à 0. La mortalité des témoins est inférieure à 10 %.



**Figure 8 - Relation dose-mortalité après contact topique avec le thiaméthoxame**

**A :** *Apis mellifera intermissa*. **B :** *Apis mellifera sahariensis*. La mortalité des abeilles est observée après 24 h, 48 h et 72 h. Les données représentent la moyenne  $\pm$  erreur standard des 3 expériences réalisées en triplicat. L'absence de la barre d'erreur correspond à un écart-type égal à 0. La mortalité des témoins est inférieure à 10 %.

un effet traitement hautement significatif pour ce qui est de la sensibilité au thiaméthoxame aussi bien pour *A. m. intermissa* que pour *A. m. sahariensis* aux différents temps d'observation.

### 2.1.1.3.2. – Cinétique de mortalité

Les résultats de la cinétique de mortalité sont représentés sur la figure 9A et B. L'aspect de cette cinétique est classique. Plus la dose de thiaméthoxame augmente et plus la mortalité s'élève. Chez *A. m. intermissa* le maximum de mortalité est atteint 24 heures après une application topique au thiaméthoxame, alors que pour *A. m. sahariensis* le maximum de mortalité est atteint au bout de 48 heures. Il est à signaler que 100 % de mortalité sont

atteints pour les deux races d'abeilles après 48 heures lorsque celles-ci sont soumises aux fortes doses (Fig. 9).

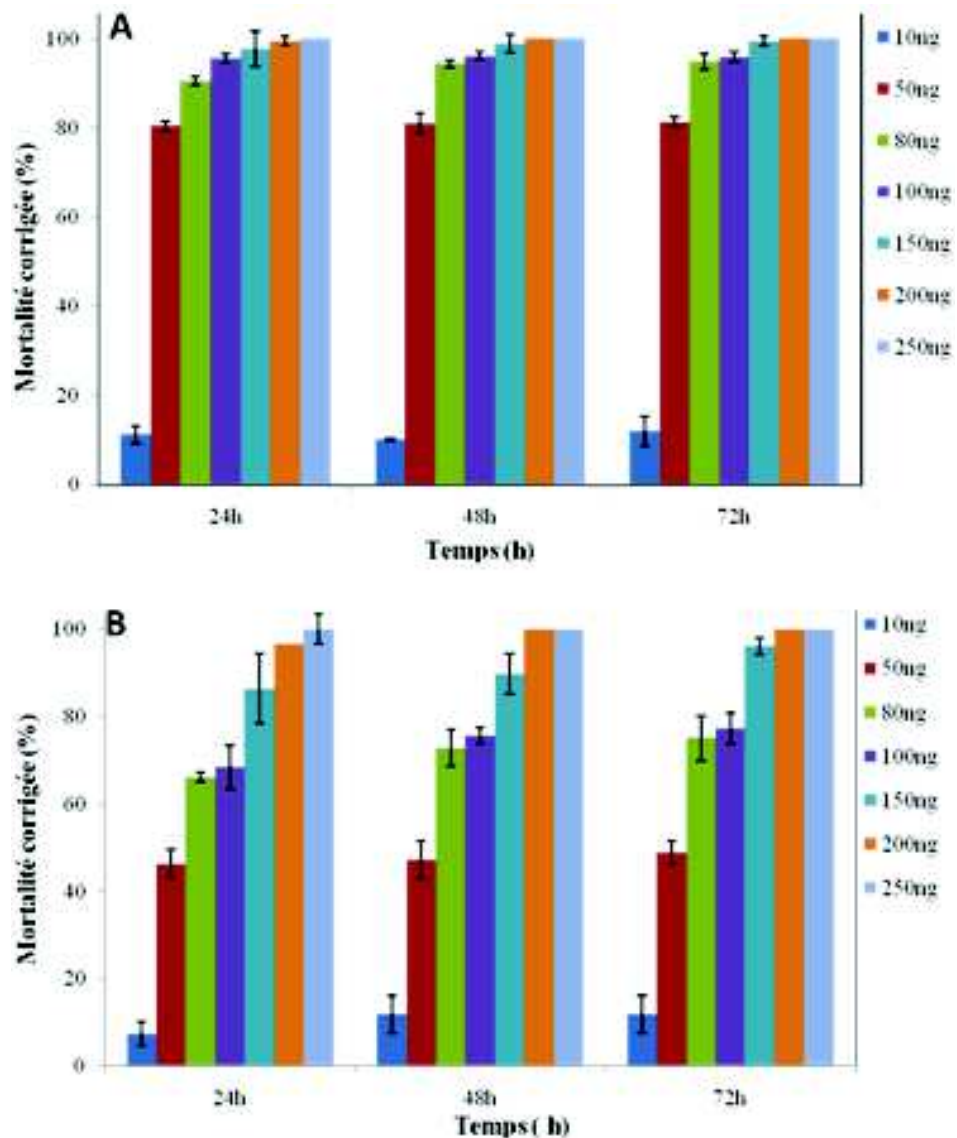
#### **2.1.1.4. - DL50 orale et de contact du thiaméthoxame**

Après intoxication des abeilles par la voie orale et par la voie topique avec le thiaméthoxame, la mortalité est contrôlée pendant 72 heures. Les valeurs de la DL50 sont déterminées à partir des droites de régression, obtenues par des transformations en Probit des pourcentages des mortalités corrigées, et des transformations en logarithme décimal des doses administrées. Les valeurs de la DL50 de thiaméthoxame pour *A. m. intermissa* et *A. m. sahariensis* sont regroupées dans le tableau 2.

	<b>DL50 orale (ng/abeille)</b>			
	<i>A.m. intermissa</i>		<i>A.m. sahariensis</i>	
	<b>Orale</b>	<b>Contact</b>	<b>Orale</b>	<b>Contact</b>
<b>24h</b>	<b>12,29</b> [10,22 – 14,36]	<b>26,01</b> [22,01 – 30,01]	<b>13,34</b> [11,26-15,40]	<b>44,33</b> [40,33 – 48,33]
<b>48h</b>	<b>11,12</b> [9,05 – 13,19]	<b>25,39</b> [21,53 – 29,52]	<b>11,76</b> [9,68 – 13,82]	<b>39,51</b> [35,51 – 43,51]
<b>72h</b>	<b>10,64</b> [8,37 – 12,51]	<b>24,33</b> [20,33 – 28,33]	<b>10,82</b> [8,75 – 12,89]	<b>36,84</b> [32,84 – 40,84]

**Tableau 2 - DL 50 de thiamethoxam chez *A. m. intermissa* et *A. m. sahariensis***

Les valeurs entre crochets représentent l'intervalle de confiance à 95 %.



**Figure 9 – Cinétique de la mortalité après contact topique avec le thiaméthoxame**

**A :** *Apis mellifera intermissa* ; **B :** *Apis mellifera sahariensis* . La mortalité des abeilles est observée pour des doses de 10ng, 50ng, 80ng, 150ng, 200ng, 250ng /abeilles. Les données représentent la moyenne  $\pm$  erreur standard de 3 expériences réalisées en triplicat. L'absence de barre d'erreur correspond à un écart-type égale à 0. La mortalité des témoins est inférieure à 10 %.

Les valeurs de DL50 de thiaméthoxame obtenues pour l'abeille domestique sont faibles. En effet, pour *A. m. intermissa*, les moyennes de valeurs de DL50 au bout de 24 heures sont respectivement égales à environ 12,3 et 26 ng /abeille par voie orale et topique (Tab. 2). Pour *A. m. sahariensis*, les moyennes de valeurs de DL50 au bout de 24 heures sont respectivement égales à environ 13,3 et 43,3 ng /abeille par voie orale et topique. Les valeurs de la DL50 sont identiques pour les deux races d'abeilles après l'application orale à 48 et à 72 heures. Pour *A. m. sahariensis*, les valeurs de la DL50 après l'application topique sont élevées par rapport à celles obtenues sur *A. m. intermissa*. L'analyse de la variance ANOVA ( $p < 0,0001$ ) indique une différence significative de sensibilité au thiaméthoxame entre *A. m. intermissa* et *A. m. sahariensis* après l'application topique.

## **2.1.2. - Variation de la toxicité aiguë orale du thiaméthoxame en fonction des volumes administrés pour l'abeille domestique locale**

---

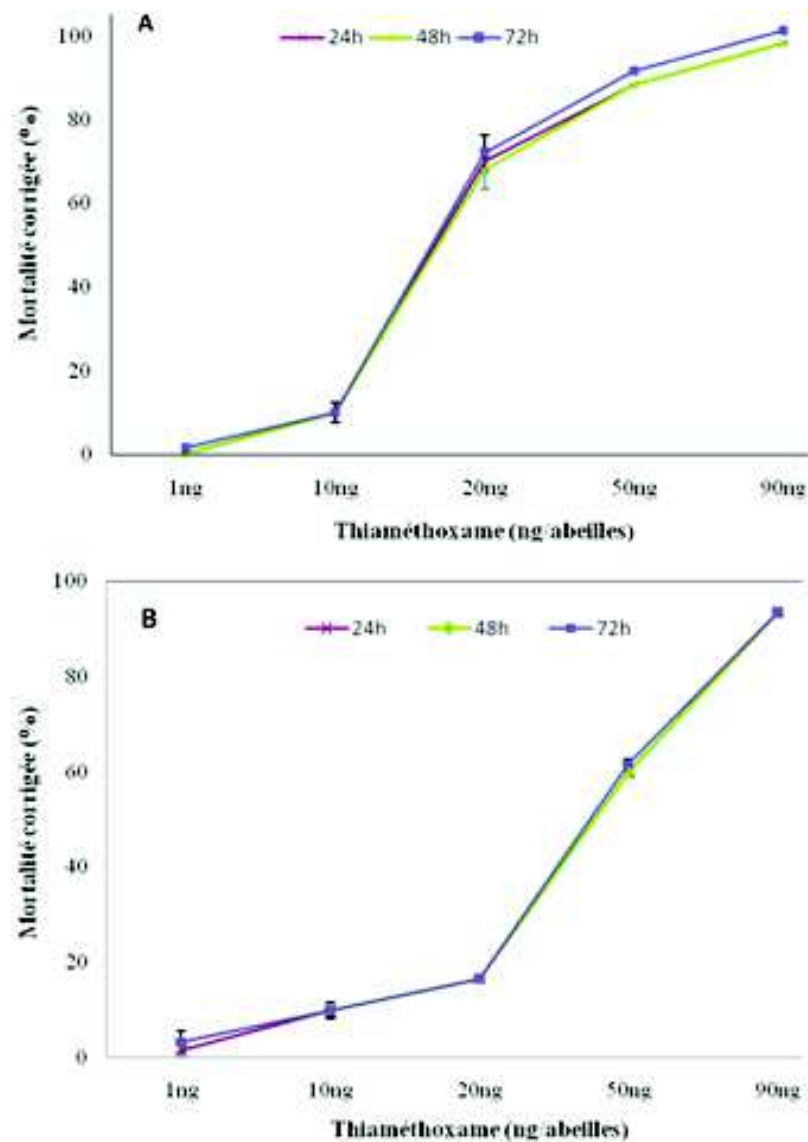
La toxicité aiguë orale du thiaméthoxame est étudiée à différents volumes administrés soit 5, 10, 25 et 50µl/ abeille.

### **2.1.2.1. - Observation des symptômes induits par le thiaméthoxame**

Les abeilles de chaque lot sont nourries à l'aide de 100, 200, 500 et 1000 µL, soit par abeille 5, 10, 25 et 50 µL de solution de saccharose contaminée par le thiaméthoxame. La mortalité des abeilles est suivie pendant 72 heures. Les mêmes symptômes de neurotoxicité décrits précédemment lors de la toxicité aiguë orale sont observés à la fois chez *A. m. intermissa* et *A. m. sahariensis*.

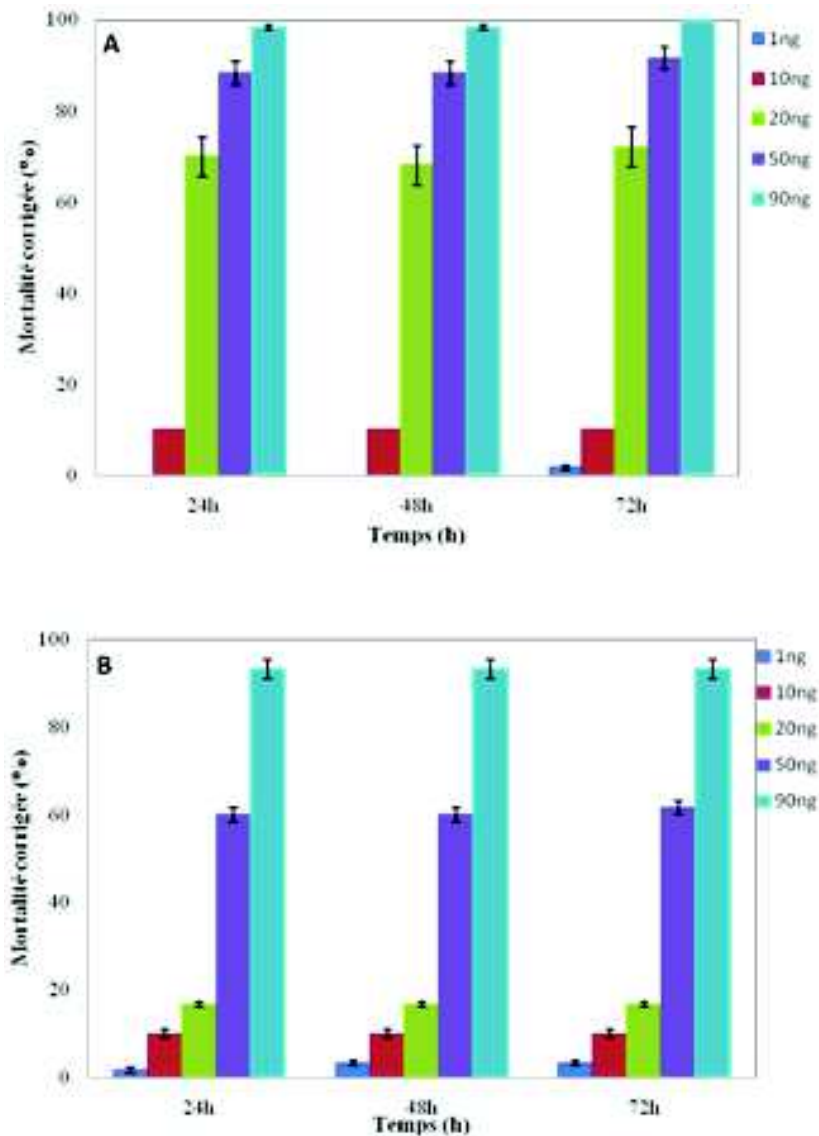
### **2.1.2.2. - Volume administré 5 µl/abeille**

Les abeilles préalablement laissées à jeun durant 2 heures, mettent près de 30 minutes pour ingérer la solution contaminée. Les premières abeilles mortes sont notées une heure après l'ingestion du toxique. Les résultats de la relation dose-mortalité et la cinétique de mortalité sont représentés sur les figures 10 et 11.



**Figure 10** – Relation dose-mortalité des abeilles domestiques locales après ingestion de 5µl de solution contaminée avec du thiaméthoxame

**A** : *Apis mellifera intermissa* . **B** : *Apis mellifera sahariensis* . La mortalité des abeilles est observée après 24 h, 48 h et 72 h. Les données représentent la moyenne  $\pm$  erreur standard des 3 expériences réalisées en triplicat. L'absence de la barre d'erreur correspond à un écart-type égal à 0. La mortalité des témoins est inférieure à 10 %.



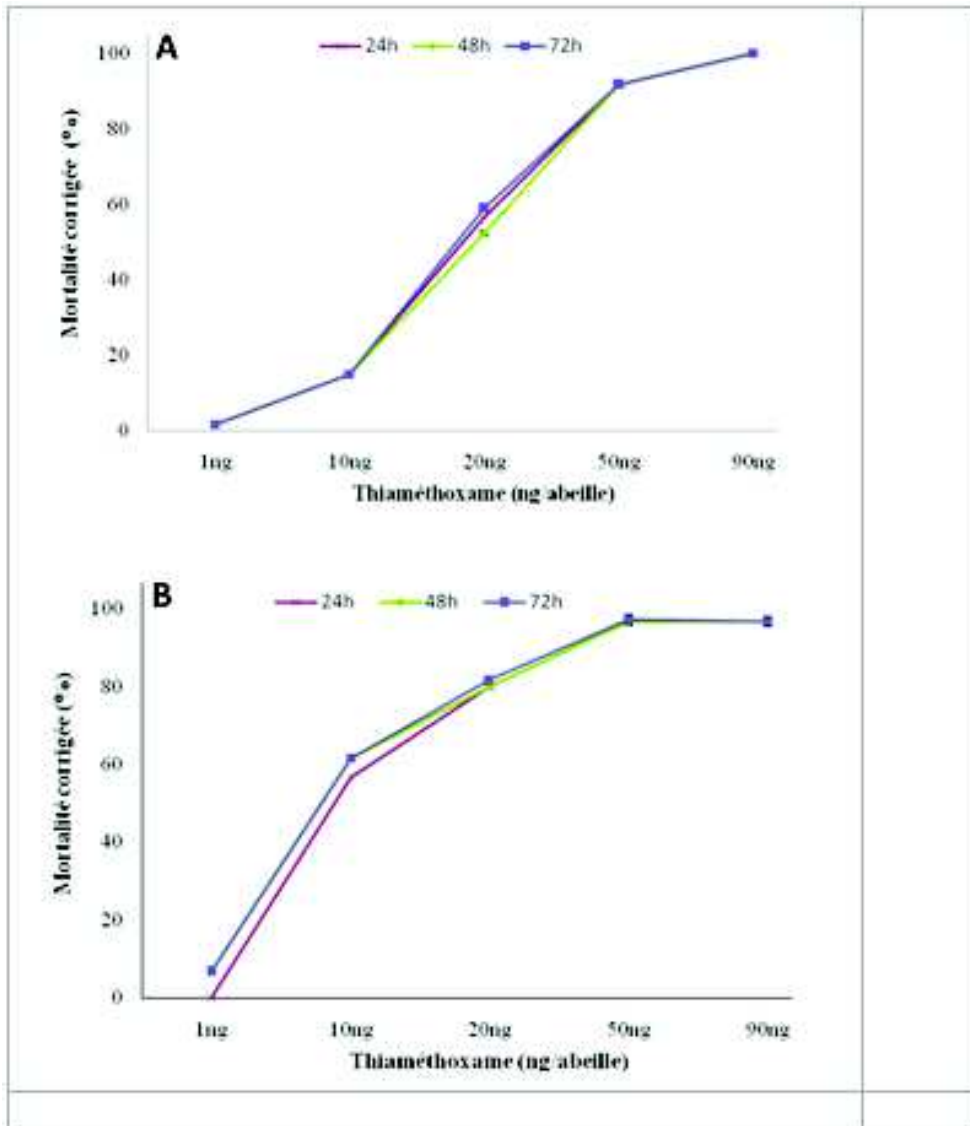
**Figure 11** – Cinétique de la mortalité des abeilles domestiques locales après ingestion de 5µl de solution contaminée avec du thiaméthoxame

**A** : *Apis mellifera intermissa* ; **B** : *Apis mellifera sahariensis* . La mortalité des abeilles est observée pour des doses de 1ng, 10ng, 20ng, 50ng, 90ng /abeille. Les données représentent la moyenne  $\pm$  erreur standard de 3 expériences réalisées en triplicat. L'absence de barre d'erreur correspond à un écart-type égale à 0. La mortalité des témoins est inférieure à 10 %.

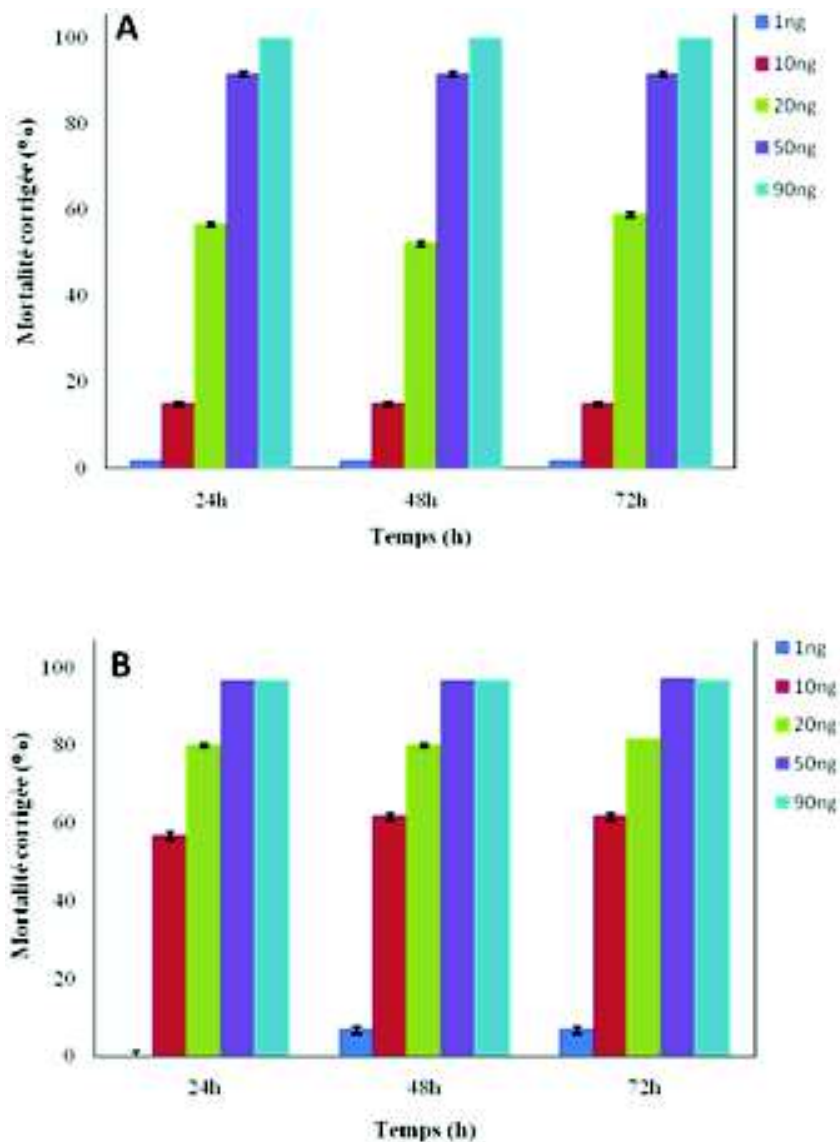
### 2.1.2.3 - Volume administré 10 µl/abeille

Les abeilles ont pris un temps de deux heures pour ingérer les solutions contaminées. Les résultats de la relation dose-mortalité et la cinétique de la mortalité sont représentés sur les figures 12 et 13.





**Figure 12 – Relation dose-mortalité des abeilles domestiques locales après ingestion de 10 µl de solution contaminée avec du thiaméthoxame**  
**A : *Apis mellifera intermissa*. B : *Apis mellifera sahariensis***

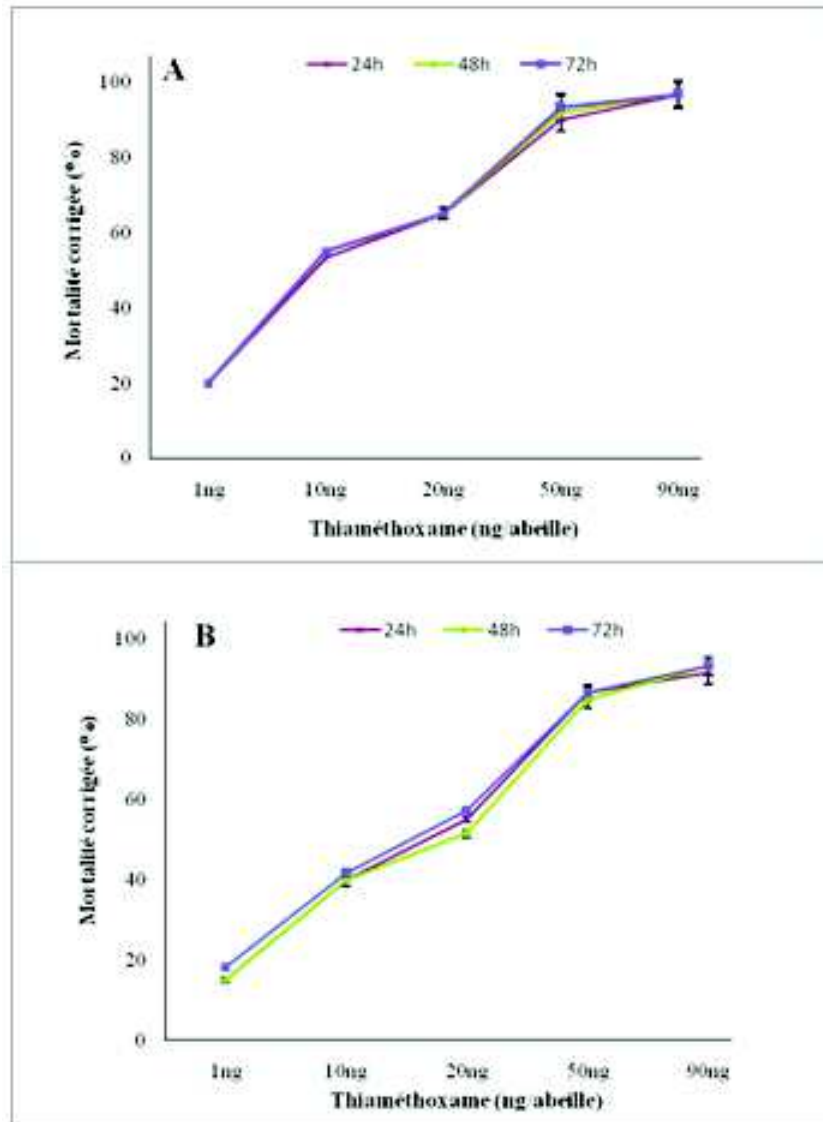


**Figure 13** – Cinétique de la mortalité des abeilles domestiques locales après ingestion de 10 µl de solution contaminée avec du thiaméthoxame

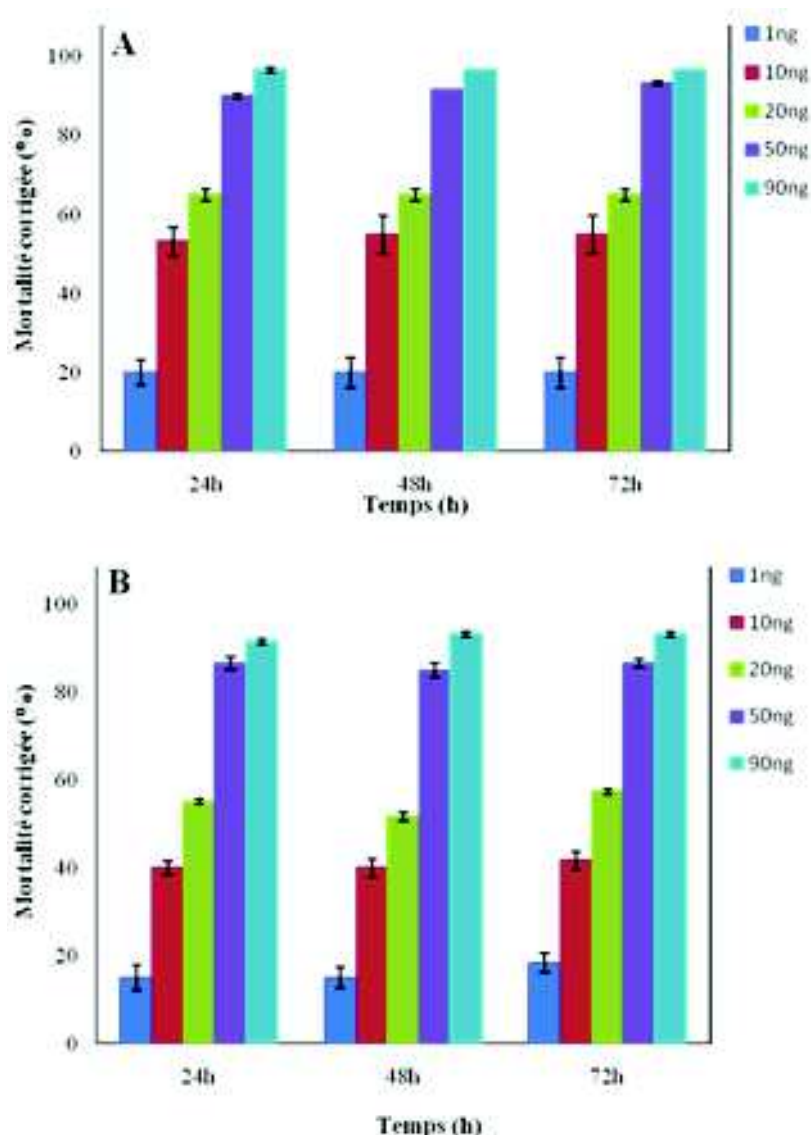
**A** : *Apis mellifera intermissa* ; **B** : *Apis mellifera sahariensis* . La mortalité des abeilles est observée pour des doses de 1ng, 10ng, 20ng, 50ng, 90ng /abeille. Les données représentent la moyenne ± erreur standard de 3 expériences réalisées en triplicat. L'absence de barre d'erreur correspond à un écart-type égale à 0. La mortalité des témoins est inférieure à 10 %.

#### 2.1.2.4 - Volume administré 25µl/abeille

Trois heures ont été nécessaires pour que les abeilles puissent ingérer les solutions contaminées. Les résultats de la relation dose-mortalité et la cinétique de mortalité sont représentés sur les figures 14 et 15.



**Figure 14** – Relation dose-mortalité des abeilles domestiques locales après ingestion de 25µl de solution contaminée avec du thiaméthoxame  
**A** : *Apis mellifera intermissa*. **B** : *Apis mellifera sahariensis*.

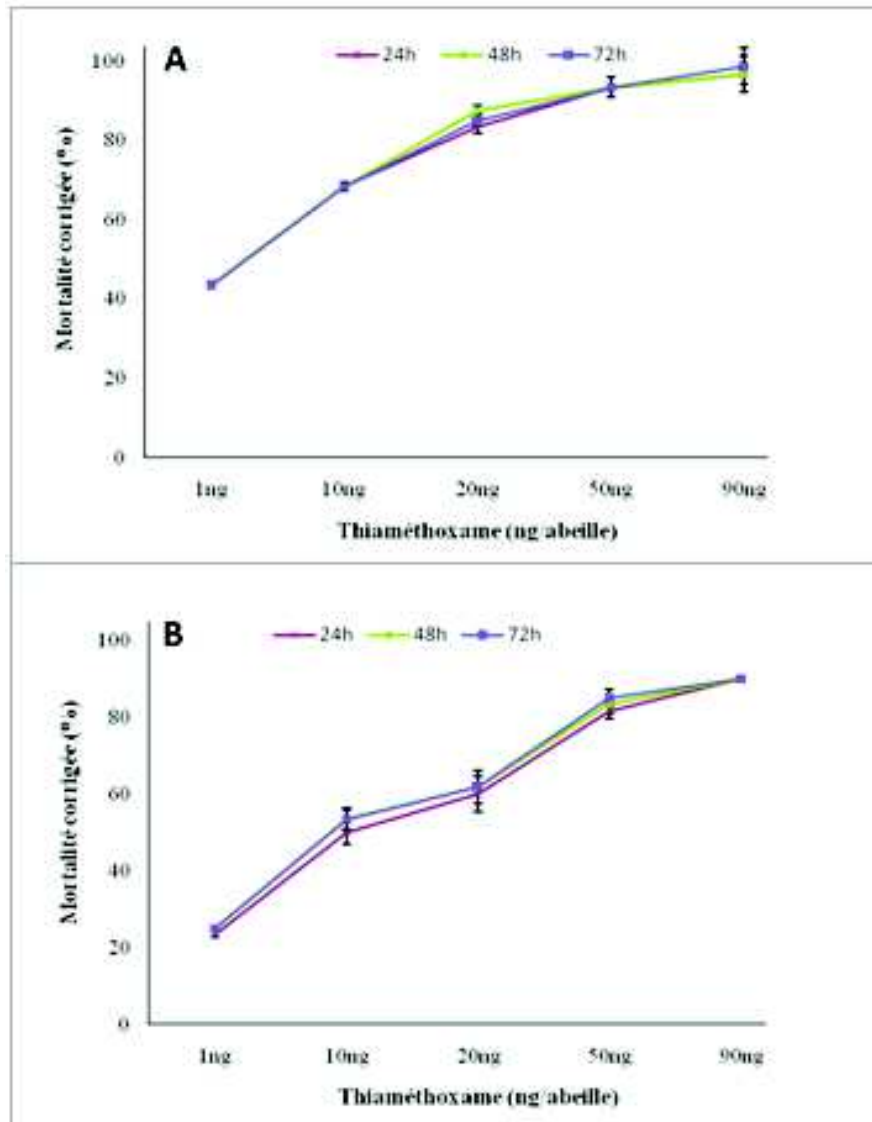


**Figure 15** – Cinétique de la mortalité des abeilles domestiques locales après ingestion de 25 µl de solution contaminée avec du thiaméthoxame

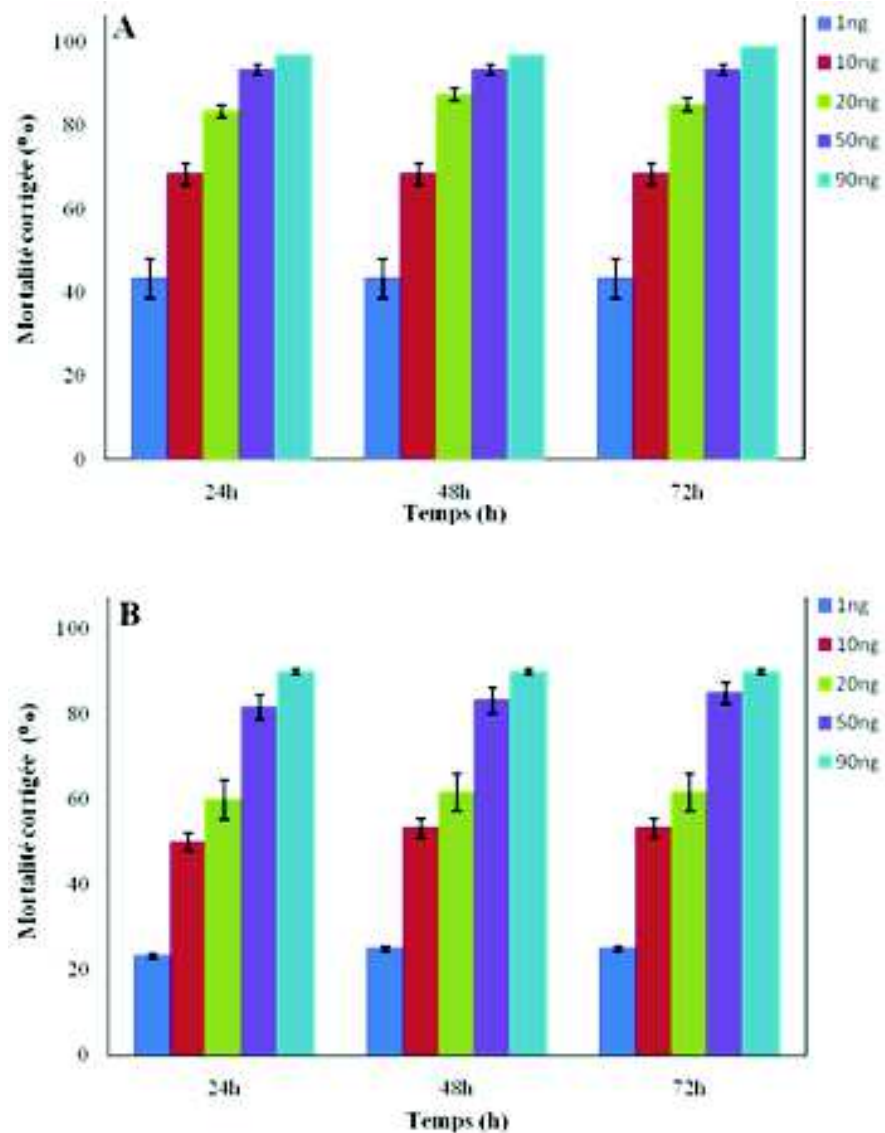
**A** : *Apis mellifera intermissa* ; **B** : *Apis mellifera sahariensis* . La mortalité des abeilles est observée pour des doses de 1ng, 10ng, 20ng, 50ng, 90ng /abeille. Les données représentent la moyenne ± erreur standard de 3 expériences réalisées en triplicat. L'absence de barre d'erreur correspond à un écart-type égale à 0. La mortalité des témoins est inférieure à 10 %.

#### 2.1.2.5 - Volume administré 50µl/abeille

Il a fallu cinq heures pour que les abeilles ingèrent les solutions contaminées. Les résultats de la relation dose-mortalité et la cinétique de la mortalité sont représentés dans les figures 16 et 17.



**Figure 16** – Relation dose-mortalité des abeilles domestiques locales après ingestion de 50 µl de solution contaminée avec du thiaméthoxame  
**A** : *Apis mellifera intermissa*; **B** : *Apis mellifera sahariensis*



**Figure 17** – Cinétique de la mortalité des abeilles domestiques locales après ingestion de 50 µl de solution contaminée avec du thiaméthoxame

**A** : *Apis mellifera intermissa* ; **B** : *Apis mellifera sahariensis* . La mortalité des abeilles est observée pour des doses de 1ng, 10ng, 20ng, 50ng, 90ng /abeille. Les données représentent la moyenne  $\pm$  erreur standard de 3 expériences réalisées en triplicat. L'absence de barre d'erreur correspond à un écart-type égale à 0. La mortalité des témoins est inférieure à 10 %.

Les courbes de mortalité en fonction de la dose pour les différents volumes administrés chez les abeilles domestiques *A. m. intermissa* et *A. m. sahariensis* (Fig. 10, 12, 14, et 16) montrent que plus la dose augmente, plus la mortalité s'élève. Par conséquent il existe une relation directement proportionnelle entre la dose de thiaméthoxame administrée et la mortalité observée. De plus, il est à noter que la mortalité évolue au cours du temps jusqu'à atteindre son maximum pour chaque dose au bout de 24 heures. 5µl contenant la plus forte dose de 90 ng ingéré par l'abeille engendre chez elle des taux de mortalité de 98,4 % (*A. m. intermissa*) et 93,3 % (*A. m. sahariensis*). Par contre, la dose de 1ng/abeille provoque des pourcentages de mortalité très faibles de l'ordre de 1,7 % (*A. m. intermissa*) et de 3,3%

(*A. m. sahariensis*). De même, l'ingestion de 10 µl de solution contaminée à la dose 90 ng par abeille provoque des taux de mortalité de 100 % alors que la faible dose soit 1 ng/abeille s'accompagne de faibles taux de mortalité de 1,7 % (*A. m. intermissa*) et 0 % (*A. m. sahariensis*).

La même forte dose présente dans 25 et 50 µl de solution contaminée administrée par abeille engendre toujours des taux de mortalité très élevés dépassant 90 % pour les deux races d'abeille. La faible dose, soit 1 ng/abeille provoque des pourcentages de mortalité variant entre 20 % et 43,4 % pour *A. m. intermissa* et entre 18,4 % et 25 % pour *A. m. sahariensis*. En effet, il est à constater que plus le volume ingéré par l'abeille dépasse 10µl, plus les faibles doses engendrent des taux de mortalité élevés. L'analyse de la variance ANOVA ( $p < 0,0001$ ) indique une différence significative de sensibilité au Thiaméthoxame chez *A. m. intermissa* et chez *A. m. sahariensis* après application orale quel que soit le volume ingéré.

La cinétique de mortalité après intoxication par voie orale est suivie car c'est la voie d'intoxication des abeilles par Actara 25WG. Cette étude est réalisée à la fois chez *A. m. intermissa* et chez *A. m. sahariensis* pour comparer la cinétique de mortalité chez les deux races d'abeilles. Les figures 11, 13, 15, et 17 représentent la cinétique de la toxicité orale du thiaméthoxame chez *A. m. intermissa* et *A. m. sahariensis*. L'aspect de cette cinétique est classique. Plus la dose de thiaméthoxame est élevée, plus la mortalité apparaît rapidement. Pour *A. m. intermissa*, le maximum de mortalité est atteint 24 heures après l'ingestion de thiaméthoxame pratiquement pour toutes les doses utilisées. Il est observé que pour les doses de 70 et de 90 ng/abeille, le maximum de mortalité est noté 4 heures après l'intoxication alors que pour les autres doses le maximum de mortalité est atteint au bout de 24 heures.

### 2.1.2.6. - DL50 de thiaméthoxame

Les variations de DL50 obtenues à partir des volumes administrés pour les deux races d'abeilles *A. m. intermissa* et *A. m. sahariensis* sont représentées dans le tableau 3.

	DL50 orale (ng/abeille)							
	<i>A. m. intermissa</i>				<i>A. m. sahariensis</i>			
	5µl	10µl	25µl	50µl	5µl	10µl	25µl	50µl
24h	19,7	11,89	6	1,98	31,51	11,47	10,02	7,15
48h	19,7	11,89	5,77	1,58	30,93	10,86	9,74	6,25
72h	14,2	11,89	5,67	1,54	30,49	10,86	8,57	6,11

**Tableau 3** - Variation des valeurs de DL50 en fonction des volumes administrés chez *A. m. intermissa* et *A. m. sahariensis*.

Pour *A. m. intermissa*, les DL50 obtenues varient en fonction des volumes administrés. En effet, pour le volume 5µl, la DL50 est de 19,7 ng/abeille aussi bien après 24h qu'à 48h, et de 14,2 ng/abeille après 72h (Tab. 3). Pour un volume de 10µl, la DL50 est de 11,9 ng/abeille aux différents temps d'observation. Pour des volumes plus élevés, soit 25 et 50 µl par abeille (Tab. 3) la DL50 est inférieure à 10 ng/abeille aux différents temps d'observation. Il en est de même pour *A. m. sahariensis*, la DL50 est voisine de 31,5 ng pour un volume de 5µl et de 11,4 ng/abeille pour un volume de 10 µl par abeille. Par contre, cette DL50 est inférieure à 10 ng/abeille aux volumes de 25 et 50 µl. Il ressort que, les valeurs de la

DL50 diminuent avec l'augmentation du volume. Ainsi, il existe une relation inversement proportionnelle entre les DL50 obtenues et les volumes administrés. Il est à constater que la DL50 pour le volume de 5 µl /abeille est de 10 fois plus grande que la DL50 obtenue avec un volume de 50 µl /abeille. Les DL50 obtenues pour l'abeille saharienne sont en général plus élevées que les DL50 obtenues chez l'abeille tellienne. Ces variations de DL50 entre les deux races sont significatives. De ces résultats, il ressort que *A. m. sahariensis* est moins sensible que *A. m. intermissa* mais la toxicité du thiaméthoxame est extrêmement élevée.

### **2.1.3. - Variation de la toxicité aiguë orale de thiaméthoxame en fonction des saisons**

---

chez l'abeille domestique locale

Afin de comparer la sensibilité saisonnière de l'abeille domestique locale à l'égard du thiaméthoxame, la toxicité aiguë orale est étudiée au printemps et en été.

#### **2.1.3.1. - Toxicité aiguë orale au printemps**

La relation dose–mortalité et la cinétique de la mortalité après l'intoxication par la voie orale sont suivies.

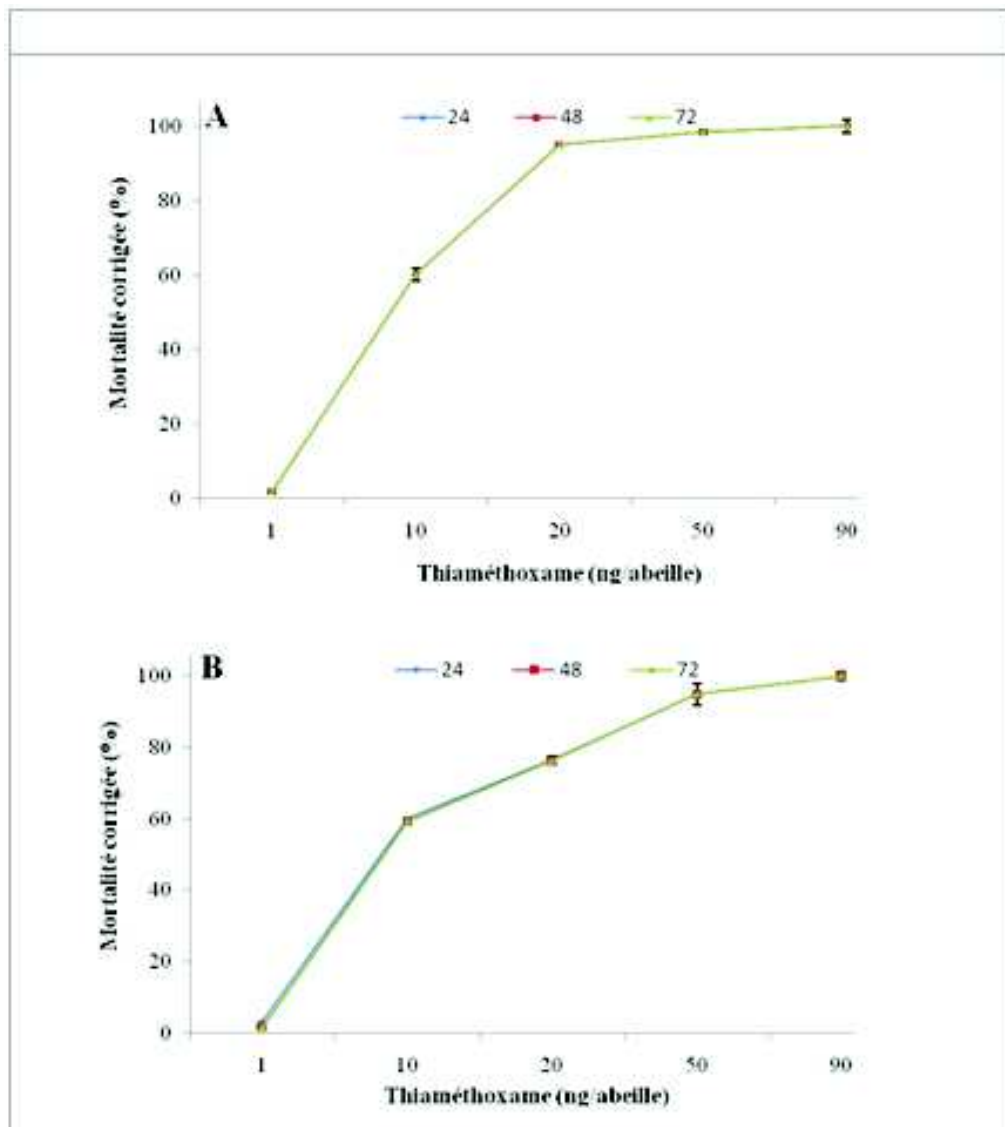
##### **2.1.3.1.1. – Relation dose–mortalité**

Les résultats de la toxicité aiguë orale chez *A. m. intermissa* et *A. m. sahariensis*, sont représentés dans les figures 18. La mortalité augmente en fonction de la dose utilisée pour les deux races d'abeilles. Il est à constater que le maximum de la léthalité est obtenu au bout de 24 heures avec toutes les doses administrées et pour les deux races d'abeilles. Ainsi, les courbes de la relation dose–mortalité sont superposées. Il est à noter que 100 % de mortalité sont obtenus avec la forte dose de 90 ng / abeille. Mais à 20 ng/ abeille, les taux de mortalité observés sont de 76,6 % pour l'abeille tellienne et 95 % pour l'abeille saharienne. Les autres doses utilisées provoquent les mêmes taux de mortalité pour les deux races d'abeille. Les résultats de l'analyse de la variance ANOVA ( $p < 0,0001$ ) montrent que l'effet traitement est hautement significatif pour ce qui est de la sensibilité au thiaméthoxame pour *A. m. intermissa* et *A. m. sahariensis*.

##### **2.1.3.1.2. – Cinétiques de la mortalité**

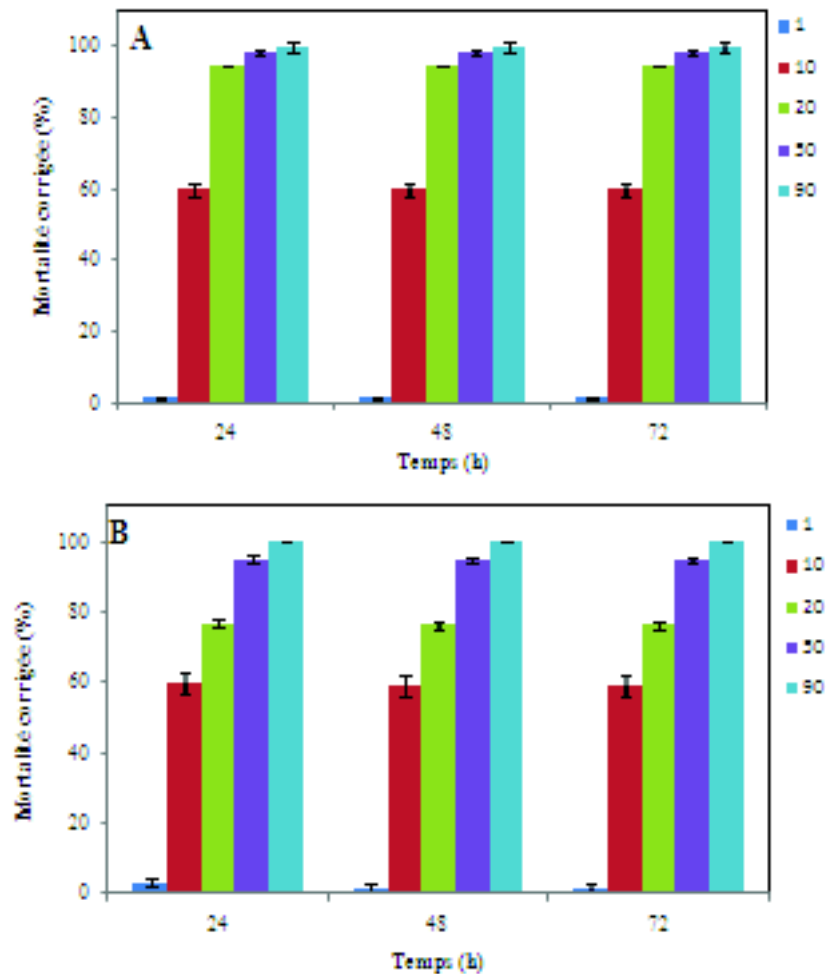
Les résultats de la cinétique de la mortalité sont représentés dans la figure 19. L'aspect de cette cinétique est classique en ce sens que plus la dose du thiaméthoxame est élevée et plus vite la mortalité intervient. Le thiaméthoxame ne provoque pas de mortalité retardée. En effet, le maximum de mortalité est atteint au bout de 24 heures pour les deux races d'abeille.





**Figure 18 - Relation dose- mortalité des abeilles domestiques locales après ingestion du thiaméthoxame au printemps**

**A** : *Apis mellifera intermissa* ; **B** : *Apis mellifera sahariensis* . La mortalité des abeilles est observée après 24 h, 48 h et 72 heures. Les données représentent la moyenne  $\pm$  erreur standard de 3 expériences réalisées en triplicat. L'absence de barre d'erreur correspond à un écart-type égale à 0. La mortalité des témoins est inférieure à 10 %.



**Figure 19 - Cinétique de la mortalité des abeilles domestiques locales après ingestion du thiaméthoxame au printemps**

**A :** *Apis mellifera intermissa* ; **B :** *Apis mellifera sahariensis* . La mortalité des pour les est observée pour des doses de 1ng, 10ng, 20ng, 50ng, 90 ng /abeilles. Les données représentent la moyenne  $\pm$  erreur standard de 3 expériences réalisées en triplicat. L'absence de barre d'erreur correspond à un écart-type égale à 0. La mortalité des témoins est inférieure à 10 %.

### 2.1.3.2.- Toxicité aigue en été

La relation dose–mortalité et la cinétique de la mortalité après l'intoxication par la voie orale sont développées.

#### 2.1.3.2.1. - Relation dose–mortalité

Les résultats de la toxicité aigüe orale chez *A. m. intermissa* et *A. m. sahariensis*, sont représentés dans les figures 20 A et B. De même la mortalité augmente en fonction de la dose employée pour les deux races d'abeilles. Effectivement le maximum de la mortalité est obtenu au bout de 24 heures pour les fortes doses soit 50 et 90 ng/abeille et au bout de 48 heures pour les autres doses. Lorsque 20 ng/ abeille sont appliqués, au bout de 24 heures, 71,6 % des individus en expérimentation meurent et au bout de 48 et 72 heures, 73,3 % des abeilles sahariennes succombent. Il en est de même, pour l'abeille tellienne, des taux

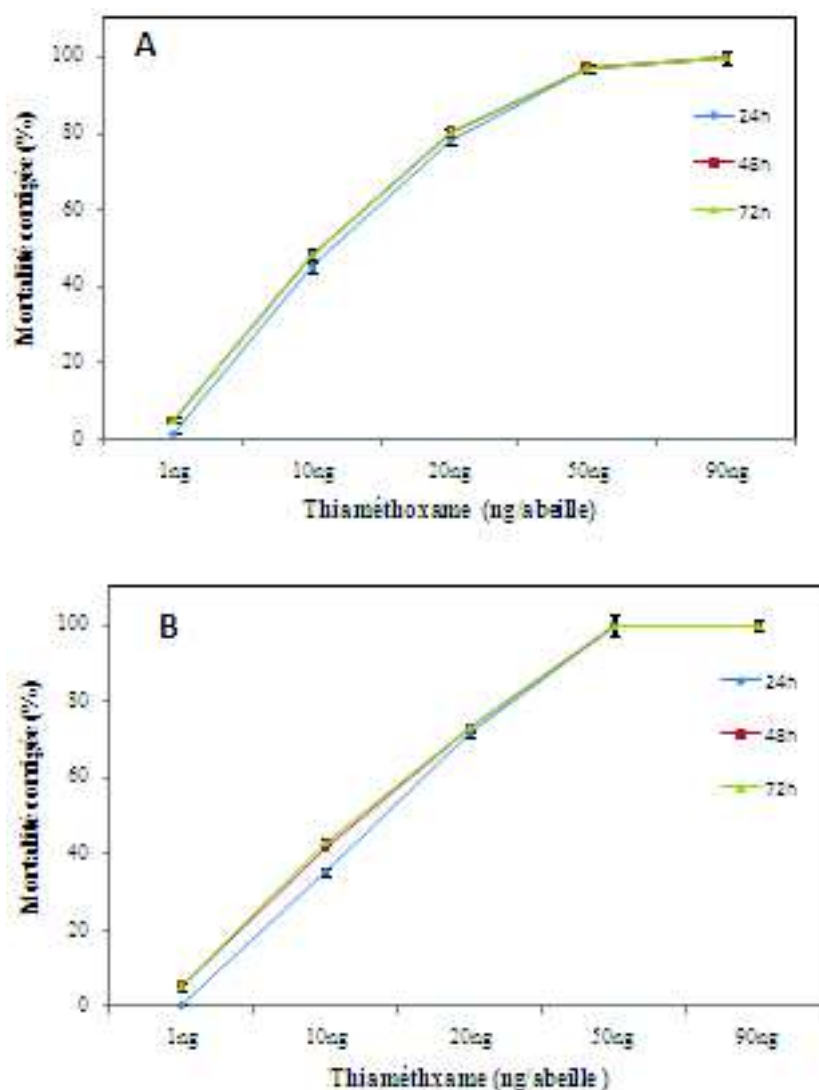
de mortalité de 78,3 % interviennent au bout de 24 heures, et de 80 % , 48 et 72 heures plus tard. Les résultats de l'analyse de la variance ANOVA ( $p < 0,0001$ ) montrent que l'effet traitement est hautement significatif pour ce qui est de la sensibilité au thiaméthoxame pour *A. m. intermissa* et *A. m. sahariensis* .

#### **2.1.3.2.2. – Cinétique de la mortalité**

Les résultats de la cinétique de la mortalité sont représentés dans les figures 21 A et B. L'aspect de cette cinétique est classique. Plus la dose de thiaméthoxame est forte et plus vite la mortalité est constatée. En effet, Le maximum de mortalité est atteint au bout de 24 heures pour les fortes doses, et au bout de 48 heures pour les doses inférieures à 50 ng/abeille pour deux races d'abeille.

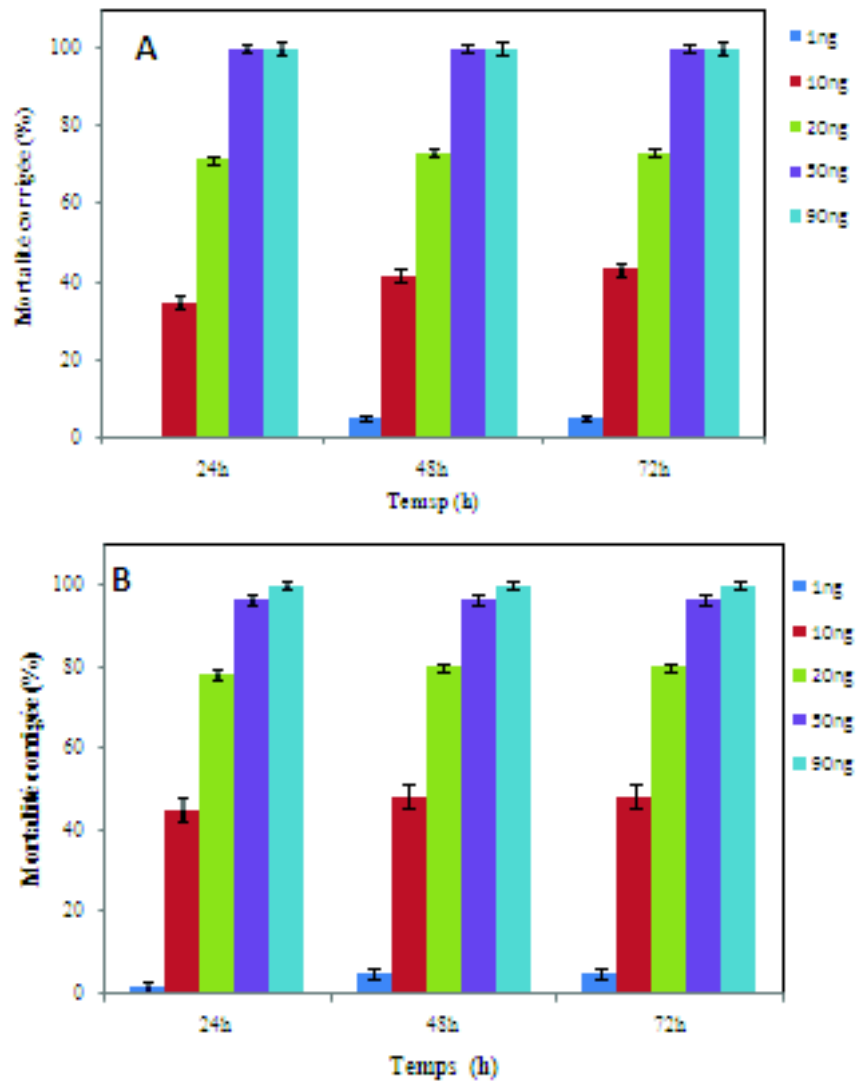
#### **2.1.3.3. - DL50 de Thiaméthoxame au printemps et en été**

Les valeurs des DL50 sont déterminées à partir des droites de régression, obtenues par des transformations en Probit des pourcentages des mortalités corrigées, et des transformations en logarithme décimal des doses administrées. Les valeurs de la DL50 de thiaméthoxame pour *A. m. intermissa* et *A. m. sahariensis* sont regroupées dans le tableau 4.



**Figure 20** - Relation dose- mortalité des abeilles domestiques locales après ingestion du thiaméthoxame en été

**A** : *Apis mellifera intermissa* ; **B** : *Apis mellifera sahariensis* . La mortalité des abeilles est observée après 24 h, 48 h et 72 heures . Les données représentent la moyenne  $\pm$  erreur standard de 3 expériences réalisées en triplicat. L'absence de barre d'erreur correspond à un écart-type égale à 0. La mortalité des témoins est inférieure à 10 %.



**Figure 21-** Cinétique de la mortalité des abeilles domestiques locales après ingestion du thiaméthoxame en été

**A :** *Apis mellifera intermissa* ; **B :** *Apis mellifera sahariensis* . La mortalité des pour les est observée pour des doses de 1ng, 10ng, 20ng, 50ng, 90 ng /abeille. Les données représentent la moyenne  $\pm$  erreur standard de 3 expériences réalisées en triplicat. L'absence de barre d'erreur correspond à un écart-type égale à 0. La mortalité des témoins est inférieure à 10 %

	DL50 orale (ng/abeille)			
	<i>A. m. intermissa</i>		<i>A. m. sahariensis</i>	
	Printemps	Été	Printemps	Été
24h	6,55 [4,25 – 8,84]	12,25 [9,15 – 13,74]	7,26 [5,18 – 10,10]	13,58 [10,24 – 14,83]
48h	6,55 [4,25 – 8,84]	11,08 [9,15 – 13,74]	8,09 [5,18 – 10,10]	13,23 [10,24 – 14,83]
72h	6,55 [4,25 – 8,84]	11,01 [9,15 – 13,74]	8,09 [5,18 – 10,10]	10,82 [10,24 – 14,83]

**Tableau 4** - Détermination de la DL 50 du thiaméthoxame pour *A. m. intermissa* et *A. m. sahariensis*

Les valeurs entre crochets représentent l'intervalle de confiance à 95%.

Les valeurs de la DL50 du thiaméthoxame obtenues pour l'abeille domestique durant le printemps sont faibles par rapport à celles de la saison estivale. Au printemps, *A. m. intermissa*, est très sensible car la valeur de la DL50 obtenue au bout de tous les temps d'observation est de 6,6 ng/abeille (Tab.4). De même, pour *A. m. sahariensis*, la valeur de la DL50 notée au bout de 24 heures est de 7,3 et de 8,1 ng/abeille respectivement 48 et 72 heures après. Les valeurs de DL50 enregistrés en été sont 24 heures plus tard de 12,2 ng/abeille pour *A. m. intermissa* et 13,6 ng/abeille pour *A. m. sahariensis*. L'analyse de la variance ANOVA ( $p < 0,0001$ ) indique une différence significative de sensibilité au thiaméthoxame chez *A. m. intermissa* et *A. m. sahariensis*.

## 2.2.1. – Evaluation de la toxicité subchronique

Pour comparer les effets sublétaux induits par le thiaméthoxame, la toxicité réitérée et la toxicité subchronique sont étudiées pour les deux races de l'abeille domestique, *Apis mellifera intermissa* et *Apis mellifera sahariensis*.

### 2.2.1.1.- Toxicité réitérée

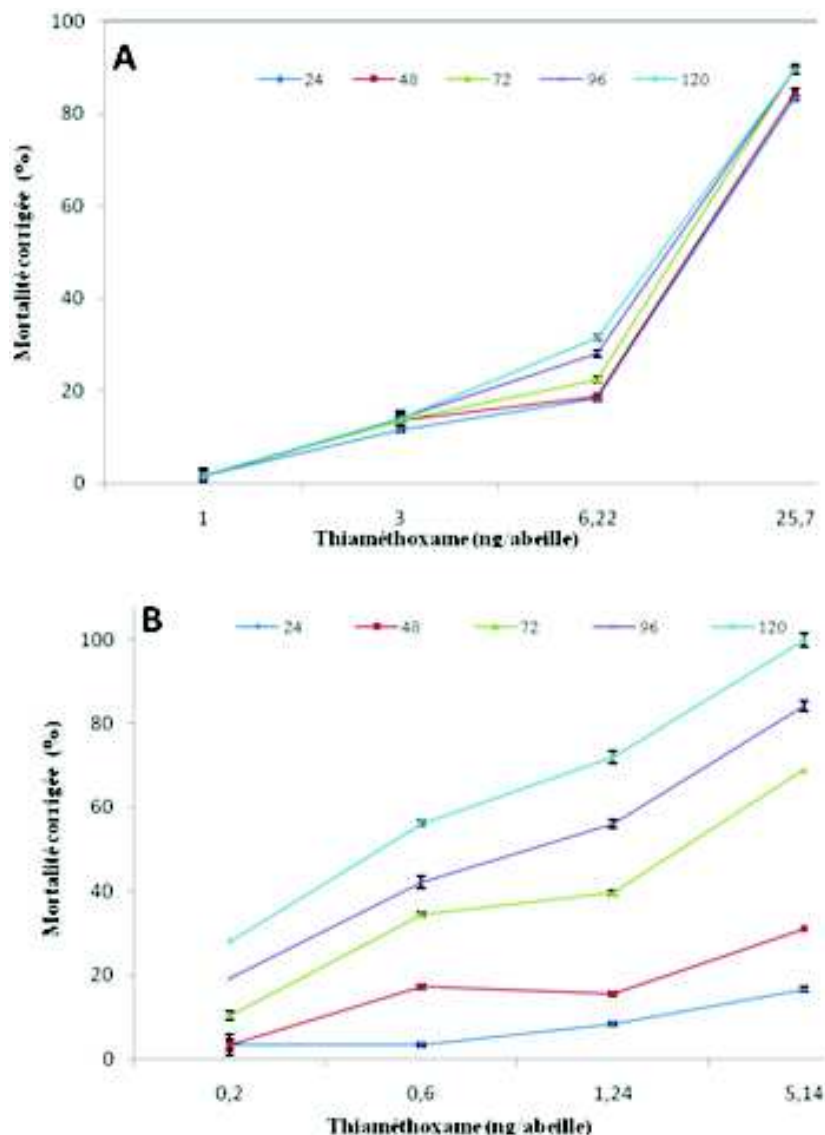
La relation dose–mortalité et la cinétique de la mortalité des doses uniques et doses réitérées sont suivies.

#### 2.2.1.1.1. - Relation dose–mortalité

Les résultats sur la relation dose-mortalité de la toxicité obtenue par les doses uniques et par les doses utilisées en réitérées sont représentés dans les figures 22 A et B et 23 A et B. Le thiaméthoxame appliqué en doses élevées ou en doses faibles induit toujours des relations doses-mortalités. Il existe toujours une relation proportionnelle entre la dose du thiaméthoxame appliqué et la mortalité enregistrée. Pour *A. m. intermissa*, les doses uniques fortes qui sont la DL 80 (25,7 ng/abeille), la DL20 (6,2 ng/abeille) engendrent respectivement des mortalités de 83,4% et 18,4% après 24 heures. Quant aux deux doses faibles qui sont sublétales (3 ng et 1 ng/abeille) elles induisent des taux léthaux respectivement de 11,7% et 1,7% au bout de 24 heures. Mais 120 heures plus tard, les taux de mortalités atteignant respectivement 89,5 % et 31,6 % pour les deux doses uniques fortes et 14,1 % et 1,8 % pour les doses uniques sublétales (Fig. 22A). De même pour *A. m. sahariensis* les doses uniques élevées soit 24,33 ng/abeille et 18,2 ng/abeille provoquent

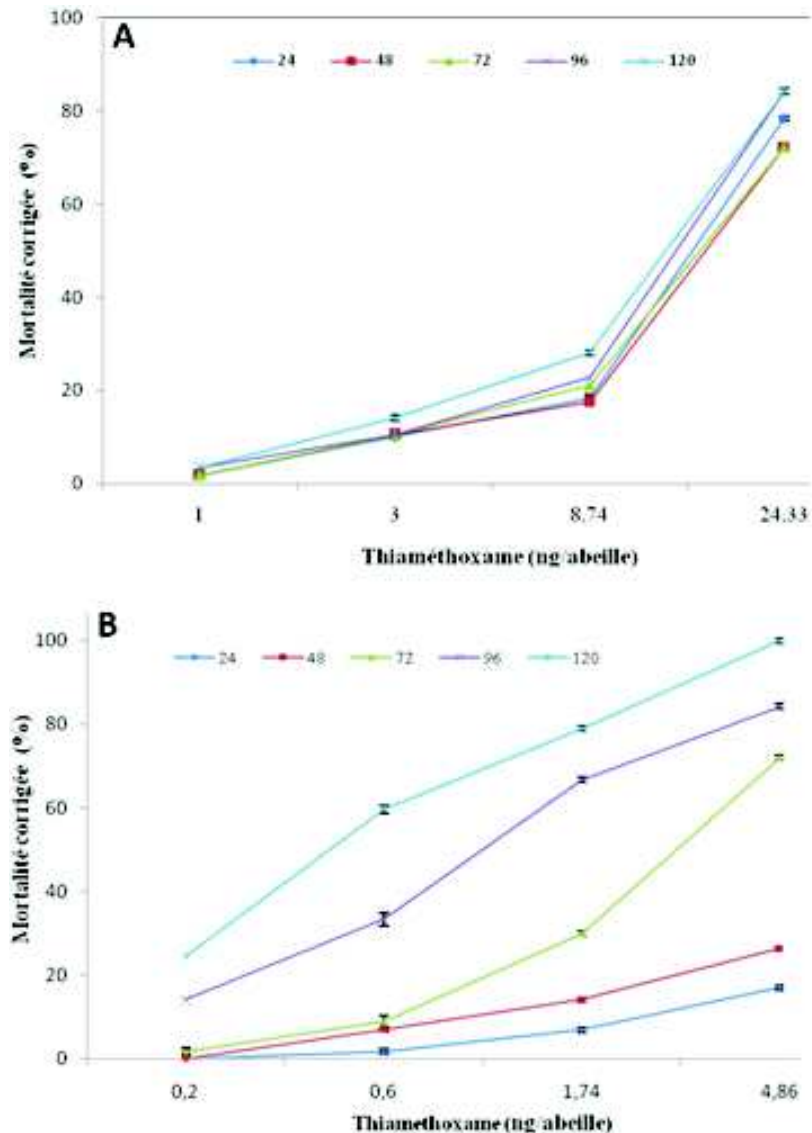
des taux de mortalités de 78,4 % et 18,2 % après 24 heures de traitement. Les doses uniques basses de 3 ng/abeille et de 1 ng/abeille impliquent des taux léthaux de 10 % et 1,7 % 24 heures plus tard. Au bout de 120 heures, les taux de mortalités enregistrés atteignent respectivement 84,2% et 28% pour les deux doses les plus élevées (Fig. 23A). Par contre ces taux ne sont que de 14% et 3,5% respectivement pour les doses les plus faibles.

Cependant les doses réitérées induisent des pourcentages de mortalité faibles au bout de 24 et de 48 heures pour les deux races d'abeilles. Au-delà de 72 heures, les taux léthaux ne cessent d'augmenter. Plus tard, au bout de 120 heures pour *A. m. intermissa*, les doses réitérées de 5,14 ng et 1,24 ng/abeille donnent des taux de mortalité de 100 % et de 71,9 % (Fig. 22 B). Mais celles de 0,6 ng et de 0,2 ng/abeille aboutissent respectivement avec des taux de mortalité de 56,2 % et 28 %. De même, pour *A. m. sahariensis*, les doses réitérées de 4,86 ng et de 1,74 ng/abeille induisent après 5 jours (120 h) des pourcentages de mortalités respectivement de 100 % et de 78,9 % (Fig. 23B). Mais celles de 0,6 ng et de 0,2 ng/abeille impliquent des taux léthaux un peu plus faibles soit respectivement 59,6 % et 24,6 % 5 jours après le traitement. Ainsi, au-delà de 72 heures les taux de mortalité engendrés par les doses réitérées dépassent largement ceux enregistrés avec les doses uniques.



**Figure 22 - Relation dose- mortalité de la sous espèce *Apis mellifera intermissa* après ingestion du thiaméthoxame**

**A : Doses uniques, B : Doses réitérées.** La mortalité des abeilles est observée après 24 h, 48h, 72h, 96h et 120 heures. Les données représentent la moyenne  $\pm$  erreur standard de 3 expériences réalisées en triplicat. L'absence de barre d'erreur correspond à un écart-type égale à 0. La mortalité des témoins est inférieure à 10 %.



**Figure 23 - Relation dose- mortalité de la sous espèce *Apis mellifera sahariensis* après ingestion du thiaméthoxame**

**A : Doses uniques, B : Doses réitérées.** La mortalité des abeilles est observée après 24 h, 48h, 72h, 96h et 120 heures. Les données représentent la moyenne  $\pm$  erreur standard de 3 expériences réalisées en triplicat. L'absence de barre d'erreur correspond à un écart-type égale à 0. La mortalité des témoins est inférieure à 10 %.

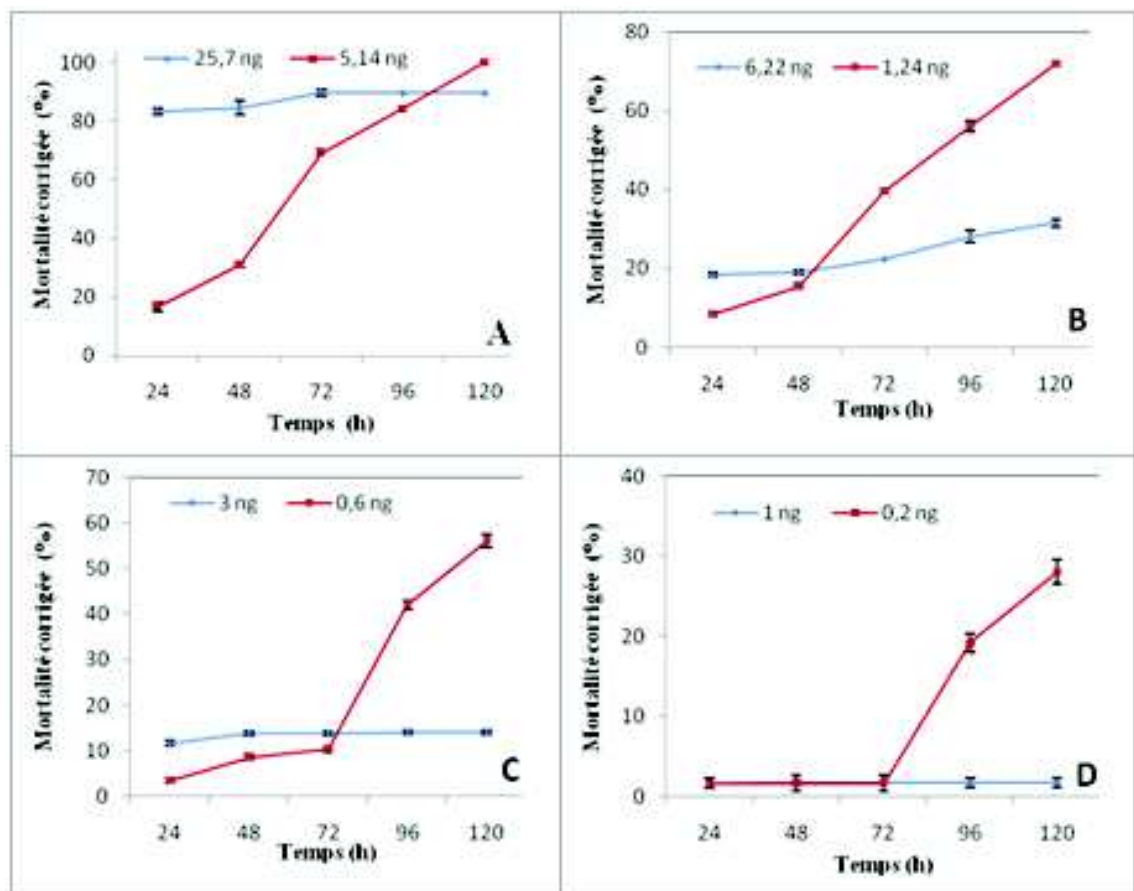
#### 2.2.1.1.2. – Cinétiques de mortalités



---

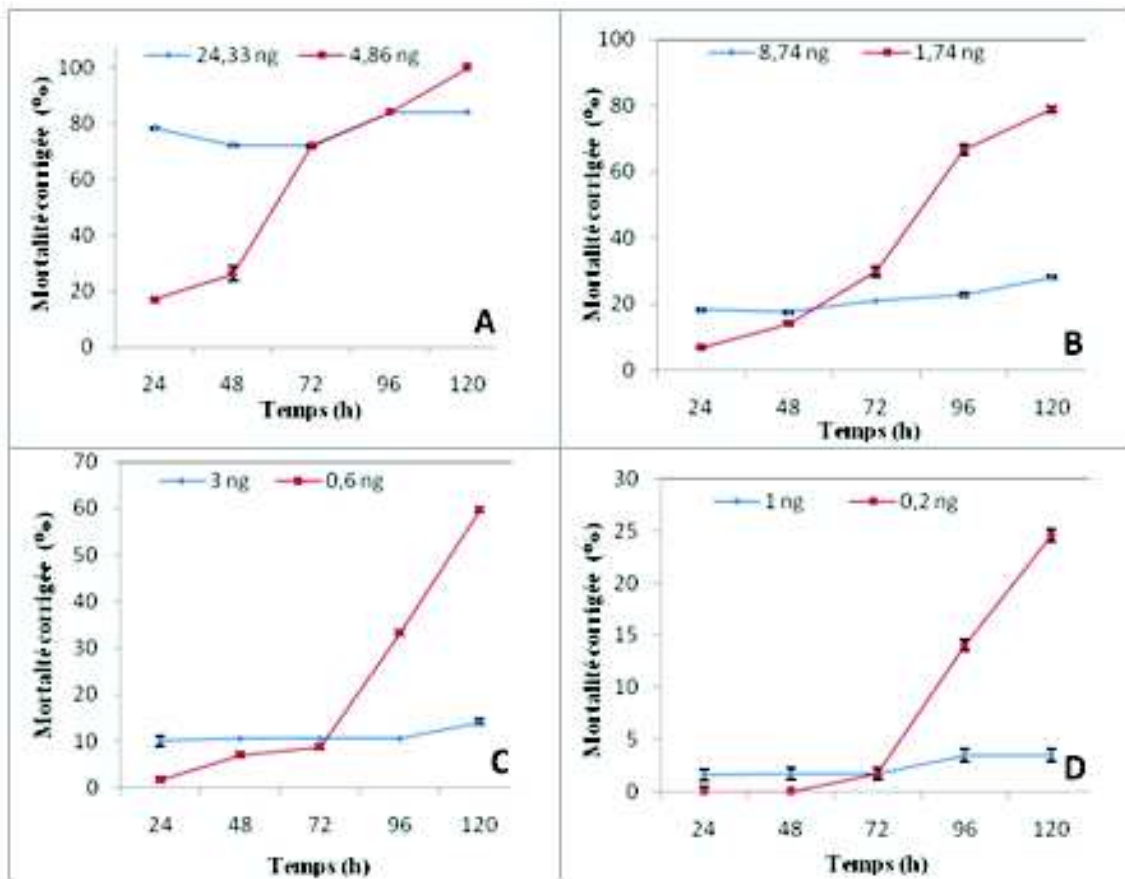
Les résultats de la comparaison de la cinétique de mortalité entre les doses uniques et les doses répétées sont représentés dans les figures 24 et 25.

Pour *A. m. intermissa*, la DL 80 soit 25,7 ng /abeille donne des pourcentages de mortalité qui varient de 83,4 % à 89,5 % entre le premier et le cinquième jour. En revanche, la DL80 fragmentée au cours des 5 jours soit 5,14 ng/abeille provoque de faibles taux de mortalité de 16,6 % et de 31% respectivement au bout de 24 et de 48 heures. Ces taux de mortalité ne cessent d'augmenter et atteignent 100 %, 120 heures après le traitement (Fig. 24A). Les pourcentages de mortalité observés pour la DL 20 soit 6,22 ng/abeille sont de l'ordre de 18,6 % au bout de 24 heures et 31,6 % au bout de 120 heures. Par contre, les mortalités observées à la dose 1,24 ng /abeille (DL20 fragmentée sur 5 jours) sont faibles au bout de 48 heures. Au-delà de ce temps, la mortalité ne cesse d'augmenter jusqu'à être double de celle notée à la DL20 (Fig. 24B). Les taux de mortalité observés aux deux doses uniques sublétales demeurent basses ne dépassant pas 14 % pour 3 ng / abeille et 1,7 % pour 1 ng / abeille au bout de 120 heures. Les doses répétées de 0,6 ng et 0,2 ng/ abeille provoquent des taux de mortalités très faibles au bout de 48 heures. Plus tard au bout de 120 heures, les mortalités s'élèvent rapidement atteignant des pourcentages de 56,1 % pour la dose de 0,6 ng/abeille et de 28 % pour la dose 0,2 ng/abeille (Fig. 24C et D). Il en est de même pour *A. m. sahariensis*, pour laquelle la DL 80 soit 24,3 ng /abeille provoque des taux de mortalité qui varient de 78,4% à 84,2% entre le premier et le cinquième jour. Par contre, la DL80 divisée sur 5 jours soit 4,86 ng/abeille provoque des taux de mortalités de 16,9 % et 71,9 % respectivement au bout de 24 et 72 heures. Au bout de 96 heures la dose unique de 24,3 ng/abeille et la dose répétée de 4,86 ng/abeille enregistrent le même taux de mortalité égal à 84,2 %. Mais après 120 heures, 100 % de mortalité sont atteints pour la dose de 4,86 ng/abeille (Fig. 25A). Les pourcentages de mortalité remarquables pour la DL20 soit 8,74 ng/abeille ne dépassent pas 20% au bout de 48 heures alors que ceux-ci pour la dose répétée de 1,74 ng/abeille apparaissent faibles. Plus tard au bout de 120 heures, les taux de mortalité ne cessent d'augmenter pour atteindre 28 % pour la DL 20 et 78,9 % pour la dose 1,74 ng/abeille (Fig.25B). Les doses uniques sublétales 3 ng et 1 ng/ abeille donnent des taux de mortalités bas. De même, pour les doses répétées de 0,6 ng et de 0,2 ng/abeille, les pourcentages de mortalité restent faibles au bout de 72 heures. Au-delà de ce temps, les mortalités interviennent avec des taux de 59,6 % pour la dose de 0,6 ng/abeille et de 25,6 % pour la dose de 0,2 ng/abeille au bout de 120 heures (Fig. 25C et D).



**Figure 24** - Comparaison entre la cinétique de la mortalité des doses uniques et des doses réitérées pour *Apis mellifera intermissa*.

- A- Cinétique de mortalité de doses 25,7 ng et 5,14 ng/ abeille.
- B- Cinétique de mortalité de doses 6,22 ng et 1,24 ng/abeille.
- C- Cinétique de mortalité de doses 3 ng et 0,6 ng/ abeille
- D- Cinétique de mortalité de doses 1 ng et 0,2 ng/ abeille.

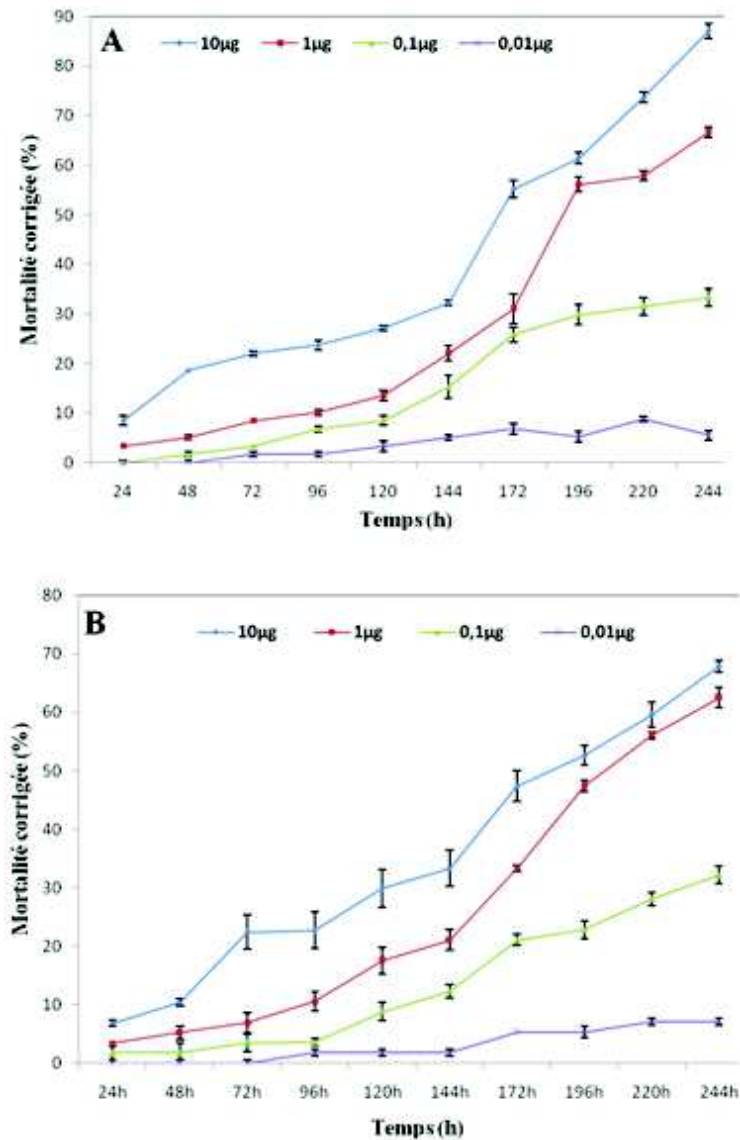


**Figure 25** - Comparaison entre la cinétique de la mortalité des doses uniques et des doses réitérées pour *Apis mellifera sahariensis*

- A- Cinétique de mortalité de doses 24,33 ng et 4,86 ng/ abeille.
- B- Cinétique de mortalité de doses 8,74 ng et 1,74 ng/abeille.
- C- Cinétique de mortalité de doses 3 ng et 0,6 ng/ abeille
- D- Cinétique de mortalité de doses 1 ng et 0,2 ng/ abeille

### 2.2.1.2.- Toxicité subchronique

Les cinétiques de la mortalité des abeilles nourries avec une solution contenant du thiaméthoxame à des concentrations de 10 µg, 1µg, 0,1µg, 0,01 µg/L sont prises en considération. Les résultats sont représentés dans la figure 26A et B.



**Figure 26 -** Cinétique de la mortalité chez les abeilles domestiques locales après une intoxication subchronique par le thiaméthoxame

**A :** *Apis mellifera intermissa*; **B :** *Apis mellifera sahariensis*.

Les abeilles sont intoxiquées en discontinue pendant 10 jours avec des solutions contaminées par le thiaméthoxame à des concentrations de 0,01 µg, 0,1 µg, 1 µg et 10 µg/L.

Les données représentent la moyenne ± erreur standard de 2 expériences réalisées en triplicat. L'absence de barre d'erreur correspond à un écart-type égale à 0. La mortalité des témoins est inférieure à 10 %.

De très faibles mortalités des abeilles sont enregistrées au bout de 24 heures pour les doses de 10 µg et de 1 µg/L pour les deux races d'abeilles. Les premières mortalités provoquées par la concentration 0,1 µg/L sont notées au bout de 24 heures pour *Apis mellifera sahariensis* et au bout de 48 heures pour *Apis mellifera intermissa*. Pour la plus faible concentration 0,01 µg/L, les premières abeilles mortes sont enregistrées au bout de 48 heures pour *Apis mellifera intermissa* et après 72 heures pour *Apis mellifera sahariensis*, avec des taux très faibles qui ne dépassent pas 2 %. Il a fallu 7 jours d'intoxication par

le thiaméthoxame avec la concentration de 10 µg/L pour induire 55,2 % de mortalité et de 8 jours pour provoquer 56,2 % avec la concentration de 1 µg/L chez *Apis mellifera intermissa*. Par contre, pour *Apis mellifera sahariensis*, 8 jours d'intoxication avec la forte concentration (10 µg/L) induisent 52,7 % de mortalité. Davantage, 9 jours sont nécessaires pour obtenir 56% de mortalité. Les pourcentages de mortalité observés au bout de 10 jours pour les deux races d'abeilles ne dépassent pas 7 % et 33 % respectivement pour les deux concentrations de 0,01 µg et de 0,1µg/L. La consommation moyenne journalière de solution de saccharose contenant du thiaméthoxame est estimée à 12 µl. Chaque abeille appartenant à un même lot ingère soit 120, 12, 1,2 ou soit 0,12 pg de solution par jour pour des concentrations de thiaméthoxame respectivement égales à 10 µg, 1µg, 0,1µg, 0,01 µg/L. Ainsi pour *Apis mellifera intermissa*, 50 % de mortalité sont induits par 840 pg et 96 pg pour les concentrations respectives de 10 µg et de 1µg/L de thiaméthoxame. Pour *Apis mellifera sahariensis*, 50% de mortalité sont atteints avec 960 pg et 108 pg.

## 2.2. - Diversité génétique de l'abeille domestique locale et effet des facteurs anthropiques et biologiques

Les résultats sur la distribution de l'ADN mitochondrial, sur la diversité haplotypique ainsi que sur la diversité nucléaire sont abordés.

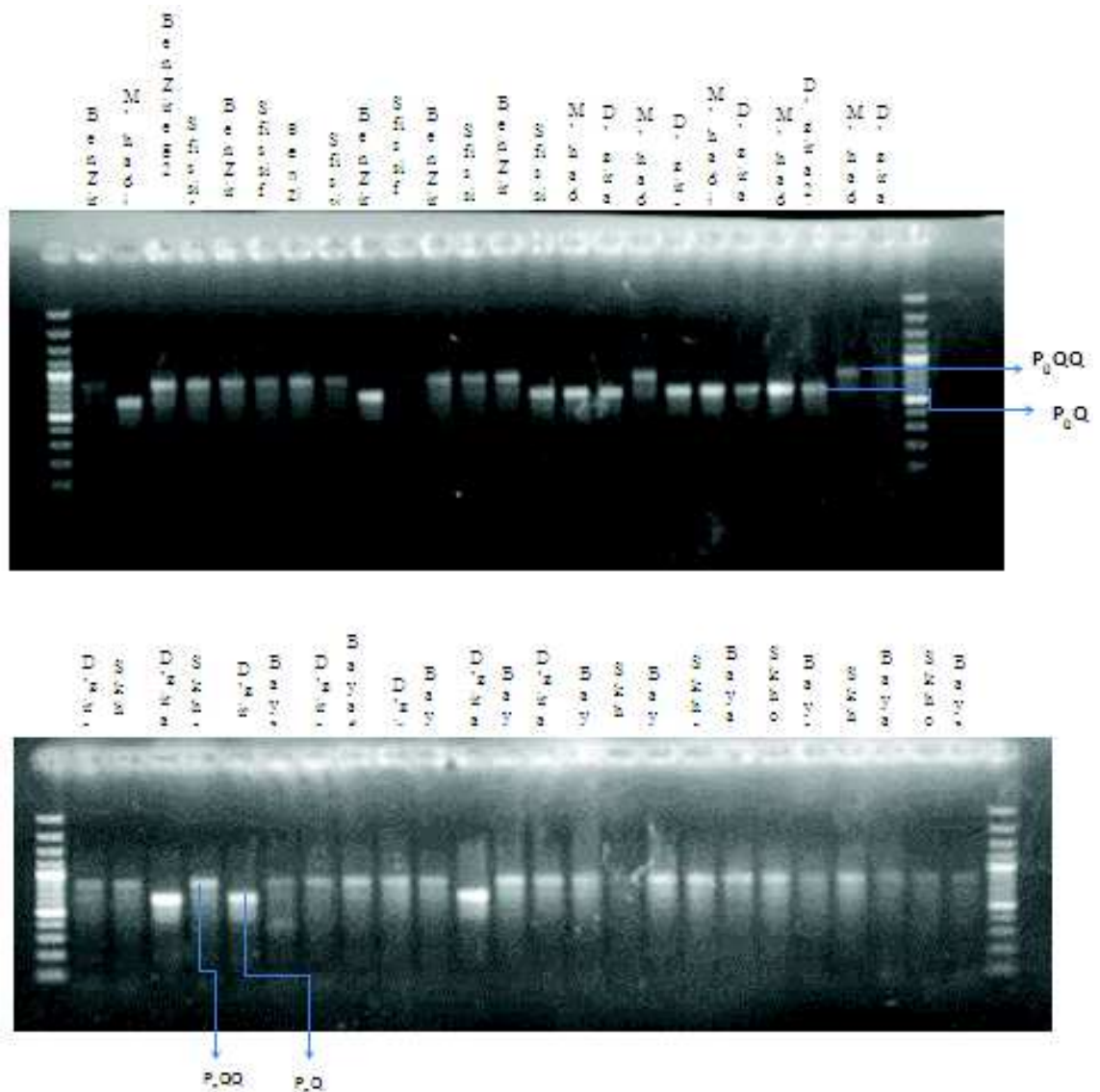
### 2.2.1 – Distribution de l'ADN mitochondrial

L'amplification de la région intergénique de l'ADN mitochondrial par la PCR a donné lieu à deux fragments d'une longueur de 830 et 630 paires de bases qui correspondent à quatre différentes combinaisons des séquences P<sub>0</sub> et Q (Tab. 5 et Fig. 27).

Quatre haplotypes différents sont trouvés A1, A2, A8, A9, sur la base du modèle de fragment de restriction de l'enzyme DraI. Tous les haplotypes appartiennent à la lignée africaine A, car ils portent la séquence P<sub>0</sub> de la région intergénique mitochondrial. Ces haplotypes ont une copie de la séquence Q pour les haplotypes A1 et A8 et deux répétitions de la séquence Q pour les haplotypes A2 et A9.

Taille des fragments de PCR (paires de base)	Type de séquence	Taille de fragments de restrictions (paires de base)	Haplotypes
630	P <sub>0</sub> Q	47 ; 108 ; 483	A1
830	P <sub>0</sub> QQ	47 ; 108 ; 784	A2
630	P <sub>0</sub> Q	47 ; 591	A8
830	P <sub>0</sub> QQ	47 ; 784	A9

**Tableau 5-** Taille des fragments de la région ARNtleu-CoxII amplifié par PCR. Les fragments résultants de la digestion avec l'enzyme DraI et les types de sequences des haplotypes correspondants



**Figure 27 -** Analyse de l'ADN mt de quelques échantillons de l'abeille saharienne

La taille des différents fragments amplifiés sur gel d'agarose à 1,5 %.

Les fréquences des haplotypes observés dans chaque localité et chaque population sont représentées dans les tableaux 6 et 7.

localités		Haplotypes			
Localités	N	A1	A2	A8	A9
Alger	3	0	0	0,67	0,33
Bejaia	3	0,67	0	0	0,33
Sétif	3	0,67	0	0,33	0
Skikda	3	0	0	0,67	0,33
Tlemcen	3	0,67	0	0	0,33
Mostaganem	3	0	0	0,67	0,33
Oran	3	0	0	0,33	0,67
Ténès	3	0,67	0	0,33	0
Batna	3	0,33	0	0,33	0,33
Tébessa	3	0	0	0,67	0,33
M'sila	3	0,33	0	0,67	0
Tiaret	3	0	0	1	0
Saida	3	0	0	1	0
Sidi-Bel-Abbès	3	0	0,67	0,33	0
Bechar	19	0,06	0,06	0,33	0,56
Ain-Sefra	19	0,37	0	0	0,63
Bayadh	12	0	0	0	1

**Tableau 6 - Fréquences et répartition des haplotypes mitochondriaux dans les différentes**

La répartition des quatre haplotypes trouvés en fonction des localités montre que le haplotype A9 et le haplotype A8 sont abondants presque dans toutes les localités. Toutefois, le haplotype A9 est plus abondant dans les localités d'El Bayadh ( $F = 1$ ), Oran ( $F = 0,67$ ), Ain Sefra ( $F = 0,63$ ) et Bechar ( $F = 0,56$ ). Pour les autres localités, une fréquence identique de 0,33 est notée pour Alger, Bejaia, Batna, Mostaganem, Skikda, Tébessa et Tlemcen. Par ailleurs, le haplotype A8 est le plus fréquent dans les localités de Saida ( $F = 1$ ) et Tiaret ( $F = 1$ ). Une fréquence identique est notée pour Alger ( $F = 0,67$ ), Boumerdes ( $F = 0,67$ ), Mostaganem ( $F = 0,67$ ), Skikda ( $F = 0,67$ ) et Tébessa ( $F = 0,67$ ). Pour les localités de Batna, Oran, Sétif, Sidi Bel Abbas, Bechar une fréquence de 0,33 est enregistrée. Le haplotype A2 est présent à Sidi Bel Abbas et Bechar avec respectivement des fréquences de 0,67 et de 0,06. Le haplotype A1 est noté avec une fréquence de 0,67 pour les localités de Bejaia, Sétif, Ténès et Tlemcen. Les fréquences des haplotypes observés dans chaque population sont représentées dans le tableau 7.

Region	Populations	N	Haplotypes			
			A1	A2	A8	A9
Tellienne	Littorale Ouest	12	0,33	0	0,33	0,33
	Littorale Est	12	0,33	0	0,42	0,25
	Plateau	18	0,11	0,11	0,67	0,11
	Total	42	0,24	0,05	0,5	0,21
Saharienne	Steppe	12	0	0	0	1
	Steppe subsaharienne	19	0,37	0	0	0,63
	Sahara	19	0,05	0,05	0,32	0,58
	Total	50	0,16	0,02	0,12	0,7

**Tableau 7-** Fréquences (F) et répartition des haplotypes mitochondriaux dans les différentes populations.

N : Nombre de colonies

Sur l'ensemble des échantillons étudiés, le haplotype A9 est présent dans toutes les populations algériennes de l'abeille domestique (Tab. 7). La fréquence la plus élevée est observée dans la région saharienne dont la fréquence globale est de 0,70. Quant à la présence de le haplotype A8, elle est notée dans toutes les populations de la région tellienne avec une fréquence globale  $F = 0,50$ , ainsi que dans la population du Sahara ( $F = 0,32$ ). Le haplotype A2 est présent seulement dans les populations des Hauts Plateaux et du Sahara respectivement avec des fréquences égales à 0,11 et à 0,05. Le haplotype A1 est présent dans toutes les populations à l'exception de celle de la steppe. Il est représenté par des fréquences globales de 0,24 pour la région tellienne et de 0,16 pour la région saharienne. Selon le test de Fisher et l'analyse correspondante, les haplotypes A1 et A8 sont significativement associés avec les colonies de l'abeille tellienne ( $P < 0,00001$ ), et le haplotype A9 avec les colonies sahariennes ( $P < 0,0001$ ).

Les fréquences des différents haplotypes dans les différentes localités et les populations analysées sont représentées dans les figures 28 et 29. Les histogrammes empilés, caractérisent le profil génétique des différentes populations et localités.



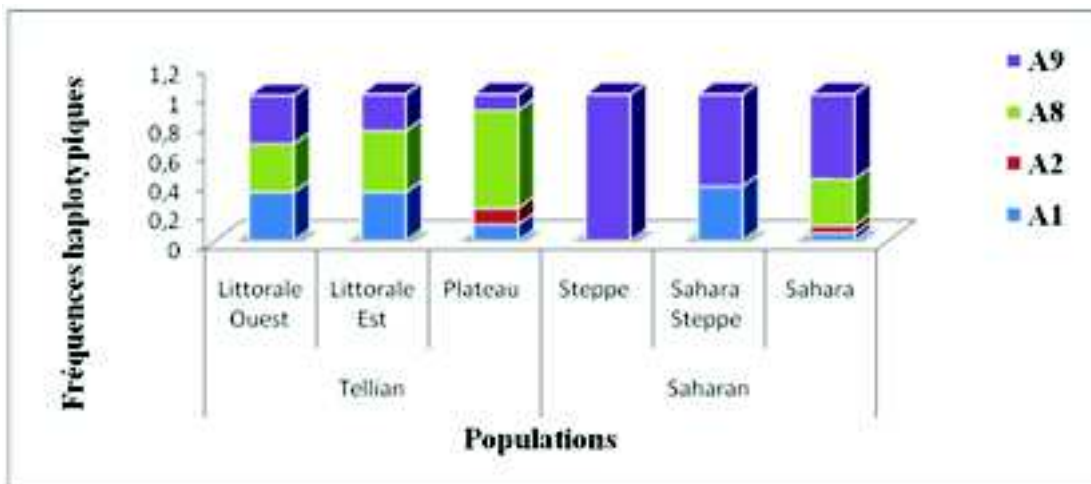


Figure 28 - Répartition des haplotypes mitochondriaux dans les différentes populations. A1, ...A9 : Haplotypes 1, ...9

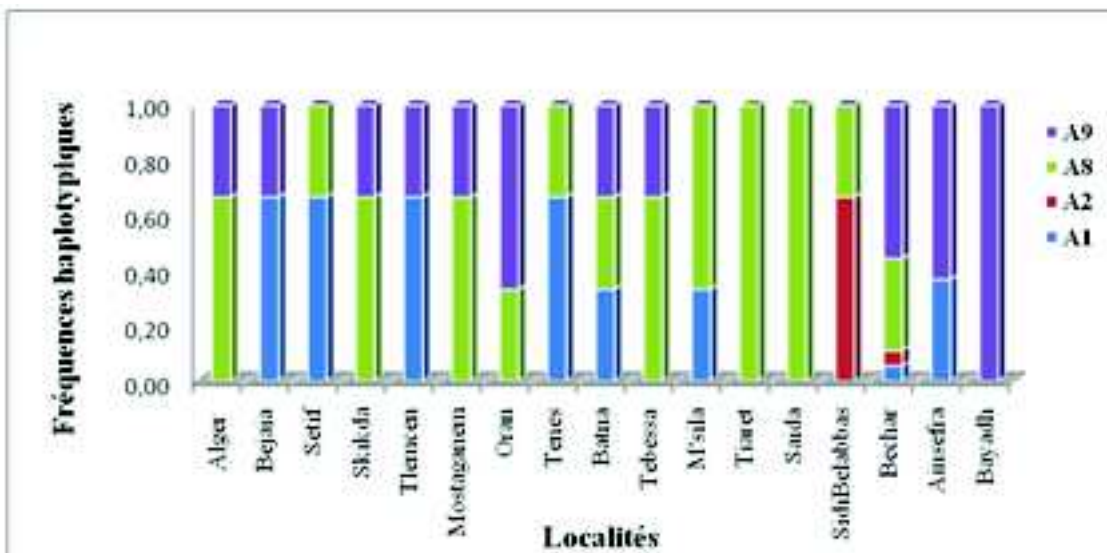


Figure 29 - Répartition des haplotypes mitochondriaux dans les différentes localités

### 2.2.2. - Diversité haplotypique mitochondriale

Les résultats sur la diversité haplotypique dans les populations et les localités algériennes sont représentés dans les figures 30 et 31.

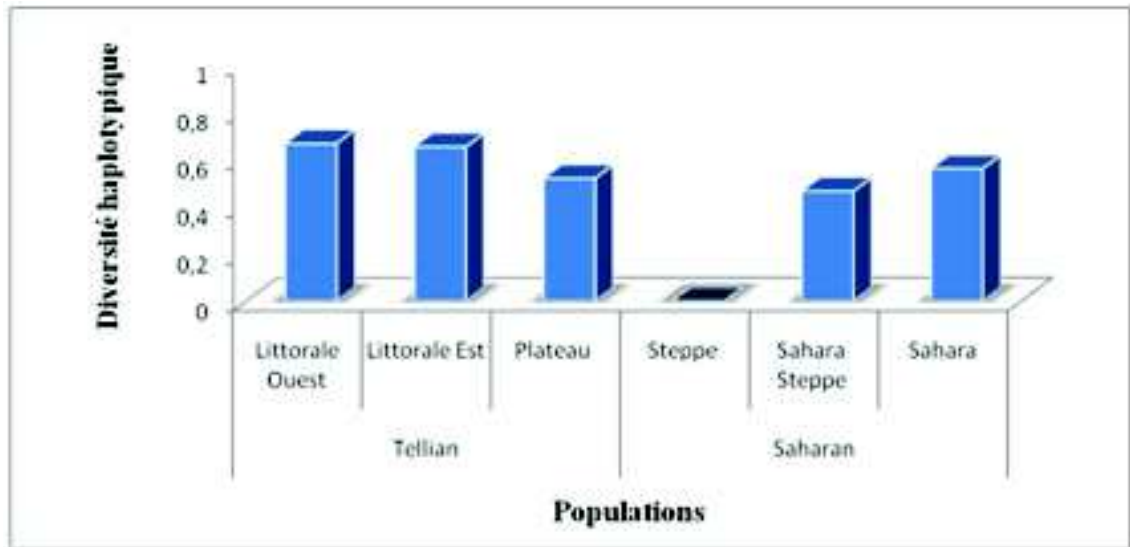


Figure 30 - Diversité haplotypique mitochondriales dans les différentes populations

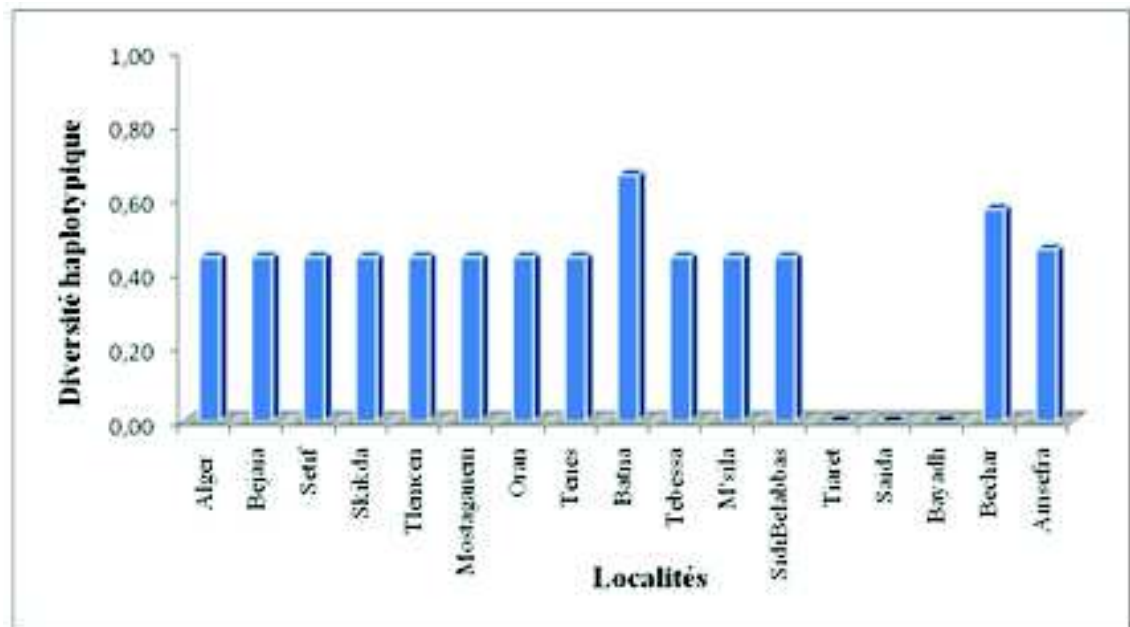


Figure 31 - Diversité haplotypique mitochondriales dans les différentes Localités

La diversité haplotypique à l'échelle de la population est de 0,645 et de 0,470 respectivement dans les régions tellienne et saharienne. Dans la région tellienne, la diversité haplotypique la plus élevée est notée dans la population du Littoral Est (0,667) et celle la plus faible est obtenue dans la population des Hauts Plateaux (0,519). De même, dans la région saharienne, la population de la steppe subsaharienne présente la diversité haplotypique la plus faible (0,465) alors que celle la plus élevée est obtenue au niveau de la population du Sahara (0,560). La population de la steppe possède une diversité haplotypique égale 0.

A l'échelle des localités, la diversité varie entre 0 et 0,670 dont la plus faible est observée au niveau des localités d'Alger, de Bejaia, de Sétif, de Tlemcen, de Mostaganem, d'Oran, de Tebessa, de M'sila et de Sidi Bel Abbas (0,444). Par contre la plus élevée est notée au niveau de la localité de Batna (0,670).

---

### 2.2.3. – Diversité nucléaire par l'analyse des microsatellites

---

L'analyse des microsatellites montre un polymorphisme remarquable, comme il est indiqué dans les tableaux 7. Les dix loci montrent un nombre variable d'allèles dans les populations d'abeilles étudiés. Ce nombre est compris entre 15 (locus B124) et 2 (locus A8 et locus Ap274). L'hétérozygotie la plus élevée est obtenue avec le locus B124 pour les populations de la steppe subsaharienne (0,929), du Sahara (0,926) et de la steppe (0,924). L'hétérozygotie est forte également avec le locus Ap43 pour les populations du Littoral ouest (0,899), de la steppe (0,877) et de la steppe subsaharienne (0,862). Pour le locus Ap55, l'hétérozygotie la plus élevée est notée pour la population de la steppe (0,888) et la population de la steppe subsaharienne (0,866). Par contre, l'hétérozygotie la plus faible est obtenue avec le locus A8 pour la population du Littoral Est (0,330) et avec le locus A88 pour la population du Littoral Ouest (0,467). Dans le même sens, pour le locus Ap 274 l'hétérozygotie notée est faible pour toutes les populations étudiées. Elle varié entre 0,464 pour la population de la steppe et 0,585 pour la population du Sahara.

nombre d'allèles ( $N_a$ ) par locus microsatellites dans les différentes populations du Sahara

**Evaluation de la toxicité d'un produit phytopharmaceutique sur les abeilles domestiques locales (*Apis mellifera intermissa* et *Apis mellifera sahariensis*) et diversité génétique.**

	Populations					
	Littoral Est	Littoral Ouest	Hauts Plateaux	Steppe	Steppe Subsaharienne	Sahara
<b>Locus A7</b>						
N	12	12	18	12	19	19
Na	9	9	9	7	8	7
Ho	0,250	0,809	0,769	0,774	0,799	0,715
He	0,837	0,844	0,790	0,808	0,821	0,734
<b>Locus A8</b>						
N	12	12	18	12	19	19
Na	2	5	5	5	4	5
Ho	0,250	0,694	0,622	0,628	0,619	0,672
He	0,330	0,723	0,640	0,656	0,656	0,690
<b>Locus A79</b>						
N	12	12	18	12	19	19
Na	8	7	8	9	10	9
Ho	0,500	0,792	0,846	0,788	0,781	0,777
He	0,813	0,826	0,870	0,822	0,802	0,798
<b>Locus A88</b>						
N	12	12	18	12	19	19
Na	4	5	9	5	5	5
Ho	0,500	0,448	0,718	0,597	0,640	0,709
He	0,642	0,467	0,738	0,623	0,657	0,728
<b>Locus Acl1</b>						
N	12	12	18	12	19	19
Na	6	6	9	5	7	9
Ho	0,917	0,680	0,738	0,705	0,627	0,796
He	0,743	0,668	0,759	0,732	0,644	0,818
<b>Locus Ag43</b>						
N	12	12	18	12	19	19
Na	11	10	10	9	9	9
Ho	0,667	0,861	0,827	0,840	0,839	0,758
He	0,778	0,899	0,851	0,877	0,862	0,778
<b>Locus Ag55</b>						
N	12	12	18	12	19	19
Na	5	5	7	8	8	9
Ho	0,583	0,750	0,759	0,851	0,843	0,828
He	0,670	0,783	0,781	0,888	0,866	0,845
<b>Locus Ag224</b>						
N	12	12	18	12	19	19
Na	8	8	7	7	11	8
Ho	0,750	0,799	0,764	0,708	0,863	0,795
He	0,833	0,835	0,786	0,739	0,886	0,817
<b>Locus Ag274</b>						
N	12	12	18	12	19	19
Na	3	3	3	2	3	3
Ho	0,667	0,448	0,508	0,444	0,492	0,569
He	0,497	0,467	0,522	0,464	0,505	0,585
<b>Locus B124</b>						
N	12	12	18	12	19	19
Na	10	8	11	15	15	15
Ho	0,909	0,788	0,852	0,885	0,904	0,902
He	0,851	0,822	0,856	0,924	0,929	0,926

**Tableau 8 – Hétérozygoties observées (Ho) et attendues (He), nombre d'individus étudiés par locus (N) et nombre d'allèles (Na) par locus microsatellites dans les différentes populations**

De même, l'hétérozygotie moyenne et le nombre moyen des allèles de l'ensemble des locus microsatellites sont calculés (Tab.9).

Le nombre moyen d'allèles varie entre  $6,2 \pm 0,7$  dans la population du Littoral Ouest et  $8,0 \pm 1,1$  pour celle de la steppe subsaharienne. Il est encore plus élevé dans la région saharienne ( $10,2 \pm 1,5$ ) par rapport à la région tellienne ( $9,9 \pm 1,5$ ). La diversité génétique mesurée par hétérozygotie attendue (He) fluctue entre  $0,699 \pm 0,054$  au niveau de la population du Littoral Est et  $0,752 \pm 0,029$  dans la population du Sahara. Les valeurs totales sont plus élevées dans la région saharienne que dans l'aire tellienne. Mais elles ne sont pas significativement différentes (test T,  $P = 0,0523$ ).

Region	Population	N	Na	Pa	Ho	He	HWE
Tellioune	Littoral Ouest	12	6,2 ± 0,7	0,5 ± 0,2	0,675 ± 0,079	0,705 ± 0,047	*
	Littoral Est	12	6,6 ± 1,0	0,4 ± 0,2	0,599 ± 0,074	0,699 ± 0,054	***
	Hauts Plateaux	18	7,4 ± 0,8	0,6 ± 0,3	0,639 ± 0,050	0,738 ± 0,033	***
	Total	42	9,9 ± 1,5	2,2 ± 0,9	0,638 ± 0,055	0,744 ± 0,041	***
Saharioune	Steppe	12	7,0 ± 0,9	0,4 ± 0,2	0,633 ± 0,066	0,722 ± 0,043	Ns
	Steppe Saharienne	19	8,0 ± 1,1	0,8 ± 0,3	0,700 ± 0,068	0,741 ± 0,043	***
	Sahara	19	7,7 ± 1,0	0,5 ± 0,2	0,642 ± 0,060	0,752 ± 0,029	***
	Total	50	10,2 ± 1,5	2,5 ± 0,6	0,662 ± 0,058	0,760 ± 0,037	***

**Tableau 9** - Statistiques récapitulatives pour les dix loci microsatellites dans les populations analysées des régions telliennes et sahariennes

ns = non significatif, \* P < 0,05, \*\* P < 0,01, \*\*\* P < 0,001.

N = Nombre des abeilles ouvrières génotypées; Na = Nombre moyen d'allèles; Pa = Nombre moyen d'allèles privés; Ho = hétérozygotie observée; He = hétérozygotie attendue et HWE = Niveau de signification des tests de Hardy-Weinberg, (moyenne ± écart-type).

La diversité génétique est significativement différente entre toutes les populations étudiées (Anova, P < 0,01), ce qui entraîne des différences significatives entre les populations telliennes (Anova, P < 0,05), en particulier entre la population des Hauts Plateaux et celles du Littoral Est et du Littoral Ouest (test T, P < 0,05). Dans les populations sahariennes, la différence est non significative (Anova, P = 0,115). Pour ce qui concerne la fréquence des allèles privés, les populations d'abeilles de la région saharienne ont montré une fréquence plus élevée de l'ensemble des allèles privés par rapport à la région tellienne ( $2,5 \pm 0,6$ ), principalement en raison de la valeur élevée, observée dans la steppe saharienne ( $0,80 \pm 0,33$ ) mais pas significativement différente (test T, P = 0,0597). Cependant, la fréquence des allèles privés présente un effet significatif au niveau de toutes les populations (Anova, P < 0,001), suite aux différences significatives notées entre les populations sahariennes (Anova, P < 0,001). Les populations telliennes au contraire, ne présentent pas de différence significative (Anova, P = 0,108).

L'équilibre de Hardy-Weinberg testé indépendamment pour les 6 populations a montré que les populations des deux régions tellienne et saharienne ont montré un écart significatif en raison de la présence d'un excès d'hétérozygotes, sauf dans la steppe (P = 0,068) (Détail en annexe 3). Les résultats du test exact du Fisher sont mis dans le tableau 9. Les analyses de la différenciation des populations révèlent une valeur globale significative de 0,05 du test exact de Fisher entre les régions tellienne et saharienne. La comparaison entre la population du Littoral Ouest et la population du Sahara a donné la valeur la plus élevée (0,076). Les valeurs du FST (Test exact de Fisher) entre la population des Hauts Plateaux et celle du Littoral Est ne sont pas significatives. Par ailleurs, aucune comparaison par paires entre les populations dans la région saharienne n'est significative.

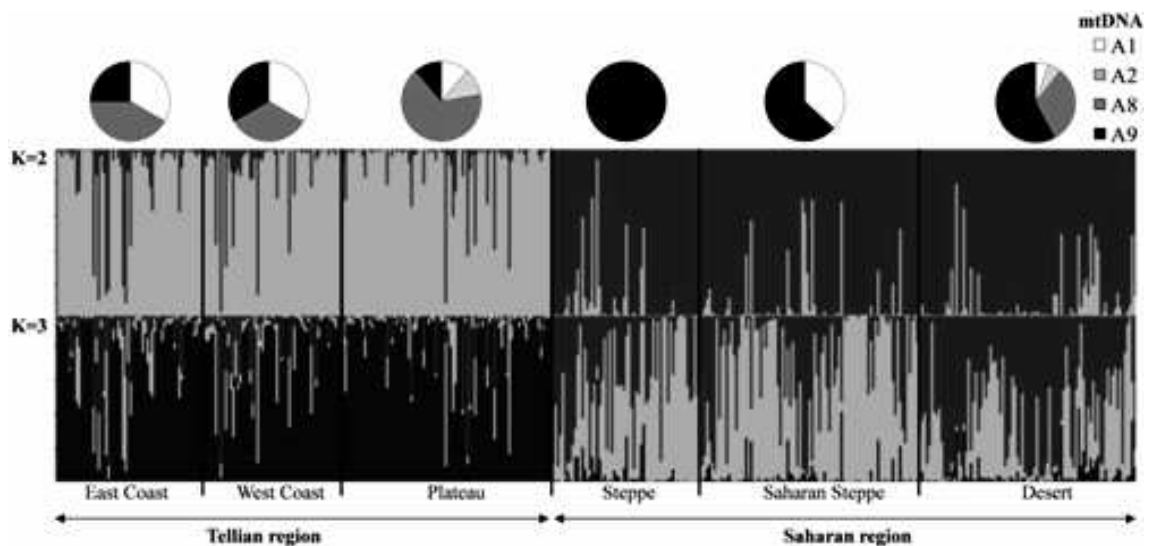
**Tableau 10** - Différenciation entre les populations de valeurs du test exact de Fisher (FST) par paires

**Evaluation de la toxicité d'un produit phytopharmaceutique sur les abeilles domestiques locales (*Apis mellifera intermissa* et *Apis mellifera sahariensis*) et diversité génétique.**

	Littoral Ouest	Littoral Est	Hauts Plateaux	Steppe	Steppe Subsaharienne	Sahara
Littoral Ouest	-	*	*	***	***	***
Littoral Est	0,0256	-	Ns	***	***	***
Hauts Plateaux	0,0225	0,0082	-	***	***	***
Steppe	0,0548	0,0490	0,0599	-	ns	ns
Steppe Subsaharienne	0,0542	0,0463	0,0527	0,0000	-	ns
Sahara	0,0761	0,0506	0,0567	0,0153	0,0117	-

ns = non significatif, \* P < 0,05, \*\* P < 0,01, \*\*\* P < 0,001

Les résultats de l'analyse de la structure ont montré que la plus grande probabilité à posteriori correspond à un modèle supposant deux populations différentes: les régions sahariennes et telliennes (Fig. 32). Le regroupement 1 est composé par 88 % d'abeilles provenant de populations telliennes alors que le regroupement 2 est intégré par 92 % d'abeilles de populations sahariennes. Toutefois, lorsque le modèle suppose trois populations (K = 3), le regroupement montre une division en deux groupes de populations originaires de la région saharienne. C'est la séparation des populations de la steppe et de la steppe subsaharienne par rapport à la population du Sahara.



**Figure 32 - Résultats de l'analyse en utilisant le mélange et la STRUCTURE allèle corrélée modèles de fréquences.**

Les individus sont représentés par des lignes verticales, regroupés par les populations inférées (k = 2, mais aussi K = 3). Division des individus dans le segment de couleur représente la probabilité d'affectation de cet individu pour chacun des K groupes, Fréquences haplotypes dans chaque population sont indiquées dans la partie supérieure.

#### **2.2.4.- Introgression et la conservation des populations sahariennes**

Le rucher établi pour la conservation de *A. m. sahariensis* dans la zone de steppe ne montre aucun signe d'introgression maternelle du fait que toutes les colonies portent l'haplotype A9, ce qui pourrait être considéré statistiquement comme un marqueur spécifique à cette sous-espèce. Cette population a également montré les valeurs les plus faibles de la diversité

génétique au sein de la région saharienne, en accord avec son isolement par rapport aux ruchers voisins. L'équilibre de Hardy-Weinberg observée dans cette population pourrait être une indication montrant que les pratiques apicoles dans ces colonies sont appropriés pour la conservation de *A. m. sahariensis*. Par conséquent, les efforts visant à préserver et à élargir ces populations "pures" doivent être pris en charge si cette sous-espèce doit être conservée.

D'autre part, l'examen des colonies d'*A. m. sahariensis* situées dans le Sahara, fait ressortir un pourcentage élevé soit 32% de l'haplotype A8, qui est étroitement associé aux colonies de la sous-espèce *A. m. intermissa*. L'explication la plus probable de cette constatation est que les colonies de cette sous-espèce sont ramenées depuis le Nord de l'Algérie dans les années 1960, pour rétablir les populations décimées par des pesticides utilisés dans le cadre de la lutte antiacridienne.

## 2.3. - Biométrie de l'abeille

Pour déterminer les caractéristiques biométriques des abeilles *A. m. sahariensis* et *A. m. intermissa* échantillonnées d'Algérie et du Maroc et celle d'Espagne *A. m. iberiensis*, la moyenne arithmétique, l'écart type standard et les valeurs minimale et maximale sont calculés.

### 2.3.1. – Caractérisation biométrique des abeilles échantillonnées d'Algérie

Les paramètres morphométriques de l'abeille saharienne sont développés. Ceux-ci sont comparés d'abord avec ceux d'*Apis mellifera sahariensis* du Maroc, puis avec les abeilles telliennes du centre algérien et marocaines. La dernière comparaison est faite avec *Apis mellifera iberiensis* (Tab.11, 12, 13,14 et 15, annexe 5).

#### 2.3.1.1. -- Caractères biométriques de l'abeille saharienne d'Algérie

Les différentes populations de l'abeille saharienne étudiées, celles de la steppe, de la steppe subsaharienne et du Sahara sont développées. Les résultats de l'analyse morphométrique d'*A. m. sahariensis*, sont représentés dans le tableau 12 mis en annexe5.

##### 2.3.1.1.1. - Population de la steppe

Il ressort que la population de la steppe représentée par une seule localité de Bayadh (N = 120 abeilles) et qui constitue le rucher de conservation sera bien détaillé. La valeur minimale de la longueur de la langue est de 6,17 mm et la maximale est de 6,47 mm, donnant une amplitude de 0,30 mm. La valeur de la moyenne est de  $6,27 \pm 0,076$  mm. Les valeurs extrêmes de la longueur de du flagelle antennaire sont de 2,93 mm (minima) et de 3,07 mm (maxima). La longueur moyenne est de  $2,98 \pm 0,047$  mm.

Les mesures du fémur se situent entre 2,44 et 2,61 mm, correspondant à une moyenne égale à  $2,51 \pm 0,051$  mm. Pour celles du tibia, elles fluctuent entre 2,84 et 3,18 mm (moyenne =  $3,01 \pm 0,104$  mm). Les valeurs de la longueur du métatarse varient entre 1,95 et 2,11 mm (moyenne =  $2,01 \pm 0,048$  mm). Quant aux mesures de la largeur du métatarse, elles se retrouvent entre 1,11 et 1,17 mm (moyenne =  $1,15 \pm 0,017$  mm). Celles de la longueur

complète de la patte se situent entre 7,23 et 7,76 mm (moyenne =  $7,52 \pm 0,151$  mm). Les valeurs de la longueur de 3<sup>ème</sup> tergite sont comprises entre 2,22 et 2,33 mm (moyenne =  $2,28 \pm 0,032$  mm). Celles notées pour le 4<sup>ème</sup> tergite fluctuent entre 2,13 et 2,31 mm (moyenne =  $2,21 \pm 0,044$  mm). Les mesures de la largeur du 3<sup>ème</sup> tergite se retrouvent entre 8,97 et 9,47 mm (moyenne =  $9,21 \pm 0,180$  mm). Celles de la largeur de 4<sup>ème</sup> tergite varient entre 7,72 et 8,77 mm (moyenne =  $8,55 \pm 0,294$  mm). Les valeurs de la longueur du 3<sup>ème</sup> sternite appartiennent à la fourchette 2,67 - 2,82 mm (moyenne =  $2,73 \pm 0,046$  mm). Celles de la longueur du miroir à cire oscillent entre 1,32 et 1,46 mm (moyenne =  $1,37 \pm 0,042$  mm). Les mesures de la largeur du miroir à cire se retrouvent entre 2,12 et 2,40 mm (moyenne =  $2,21 \pm 0,073$  mm). Celles de la distance entre les deux miroirs à cire font partie de l'intervalle allant de 0,33 à 0,50 mm (moyenne =  $0,39 \pm 0,045$  mm). Les valeurs de la longueur du 6<sup>ème</sup> sternite varient entre 3,01 et 3,24 mm (moyenne =  $3,12 \pm 0,069$  mm). Celles de la largeur fluctuent entre 2,46 et 2,60 mm (moyenne =  $2,52 \pm 0,044$  mm). Les mesures de la longueur de l'aile se situent entre 9,05 et 9,34 mm (moyenne =  $9,19 \pm 0,095$  mm). Celles de la largeur font partie de la fourchette limitée par 2,99 et 3,12 mm (moyenne =  $3,06 \pm 0,038$  mm). Les valeurs de la longueur de la nervure **A** oscillent entre 0,52 et 0,60 mm (moyenne = 0,56 mm). Celles de la nervure **B** se situent entre 0,22 et 0,26 mm (moyenne =  $0,24 \pm 0,014$  mm). L'angle **A4** mesure entre 29,63 ° et 34,58° (moyenne =  $31,36 \pm 1,476$  °). L'angle **B4** est compris entre 98,72 ° et 105,50 ° (moyenne =  $102,32 \pm 2,485$  °). Les valeurs de l'angle **D7**, sont comprises entre 97,51 ° et 102,19 ° (moyenne =  $100,17 \pm 1,402$  °). Celles de l'angle **E9** appartiennent à la fourchette allant de 18,83 ° à 20,31 ° ( $19,54 \pm 0,405$ °). Les valeurs de l'angle **G18** sont de 98,86° (minima) et de 99,85° (maxima) (moyenne =  $99,28 \pm 0,327$  °). Celles de l'angle **I10** oscillent entre 45,65° et 50,70° (moyenne =  $47,74 \pm 1,423$ °). Les mesures de l'angle **I16** sont de 80,06° (minima) et 90,78° (maxima) (moyenne =  $84,85 \pm 3,390$  °).

Les valeurs de l'angle **K19** se situent entre 71,53 ° et 79,96 ° (moyenne =  $74,79 \pm 2,354$ °). Les mesures de l'angle **L13** oscillent entre 15,14 ° et 17,08° (moyenne =  $16,05 \pm 0,587$ °). Celles de l'angle **N23** se retrouvent entre 73,95° et 84,82° (moyenne =  $80,78 \pm 3,089$ °). Les valeurs de l'angle **O26** appartiennent à l'intervalle 35,08°- 40,94° (moyenne =  $37,84 \pm 1,821$ °). Les mesures de la longueur de l'aile postérieure font partie de la fourchette allant de 6,32 à 6,76 mm (moyenne =  $6,55 \pm 0,143$  mm). Celles de la largeur sont comprises entre 1,74 et 1,85 mm (moyenne =  $1,79 \pm 0,038$  mm). Pour estimer la taille du corps de l'abeille saharienne la somme des longueurs des 3<sup>ème</sup> et 4<sup>ème</sup> tergites est calculée. Les valeurs obtenues oscillent entre 4,35 et 4,59 mm (moyenne =  $4,49 \pm 0,065$  mm). L'indice cubital (A/B), l'indice de la longueur /largeur du sternite 6 et l'indice longueur /largeur du métatarse de la patte métathoracique sont calculés. Les valeurs de l'indice cubital se retrouvent dans l'intervalle allant de 2,11 à 2,75 (moyenne =  $2,35 \pm 0,195$ ). Celles du rapport de la longueur à la largeur du 6<sup>ème</sup> sternite renseignent sur la minceur de l'abeille, sont comprises entre 0,79 et 0,83 (moyenne =  $0,81 \pm 0,011$ ). Les valeurs de l'indice métatarsal se situent dans l'intervalle allant de 0,55 à 0,59 (moyenne =  $0,57 \pm 0,010$ ).

### **2.3.1.1.2.- Population de la steppe subsaharienne**

La population de la steppe subsaharienne (Ain Sefra) est représenté par 3 localités soit Skhouna, Dzira 1 et Dzira 2. La moyenne de la longueur de la langue la plus faible est obtenue dans la localité de Skhouna (6,07 mm) et celle la plus élevée est noté dans la



localité de Dzira 2 (6,14 mm). Quant à la longueur du fémur, la valeur moyenne la plus basse est estimée à 2,5 mm (Skhouana) et la plus importante est évaluée à 2,54 mm (Dzira2). Pour ce qui concerne les mesures du tibia, la longueur la plus faible atteint 2,93 mm (Skhouana), la plus élevée étant égale à 3,01 mm (Dzira 2). Pour la longueur du métatarse, la moyenne la plus faible est obtenue à Skhouana (1,97 mm) et la plus élevée à Dzira 1 et à Dzira 2 (2,01 mm). Quant à sa largeur, elle est plus faible à Skhouana (1,11 mm). Mais celle de Dzira 2, est plus élevée (1,15 mm). Les valeurs obtenues pour la longueur complète de la patte sont de 7,40 mm (Skhouana) et de 7,56 mm (Dzira 2). Une même valeur moyenne de la longueur de 3<sup>ème</sup> tergite égale à 2,26 mm est notée dans les trois localités. Quant à sa largeur, ses valeurs extrêmes sont de 9,03 mm (Dziar1) et de 9,19 mm (Dzira 2). Pour la longueur moyenne du 4<sup>ème</sup> tergite, la plus faible est enregistrée à Skhouana (2,17 mm) et la plus élevée à Dzira 2 (2,19 mm). Les valeurs extrêmes de sa largeur sont de 8,46 mm (Skhouana) et de 8,57 mm (Dzira 2). Les valeurs extrêmes de la longueur de 3<sup>ème</sup> sternites sont de 2,71 mm (Skhouana et Dzira 2) et de 2,72 mm (Dzira 1). Celles notées pour la longueur du miroir à cire oscillent entre 1,36 mm (Skhouana) et 1,41 mm (Dzira 1). Quant à la largeur du miroir à cire, ses valeurs extrêmes sont de 2,18 mm (Skhouana) et de 2,20 mm (Dzira 1 et 2). Pour ce qui est de la distance entre les deux miroirs à cire, la valeur faible est notée à Skhouana et Dzira 1 (0,34mm) et celle élevée est obtenue à Dzira 2 (0,35 mm). Les valeurs extrêmes de la longueur du 6<sup>ème</sup> sternite sont de 3,09 mm (Skhouana) et de 3,16 mm (Dzira 1). Celles obtenues pour la largeur sont de 2,47 mm (Skhouana) et de 2,52 mm (Dzira 1). Pour les ailes antérieures, les valeurs moyennes extrêmes de la longueur et de la largeur, de celles de la longueur de la nervure **A** et **B** ainsi que les 11 angles sont notés. Pour la longueur de l'aile, elles sont de 8,91 mm (Skhouana) et de 9,04 mm (Dzira 1). Celles mesurées pour la largeur sont de 2,93 mm (Skhouana) et de 3,02 mm (Dzira 2). Les valeurs extrêmes de la longueur de la nervure **A** sont de 0,54 mm (Dzira 1) et de 0,56 mm (Dzira 2). Celles enregistrés pour la nervure **B** oscillent entre 0,22 mm (Skhouana) et 0,24 mm (Dzira1et 2). Les valeurs moyennes extrêmes de l'angle **A4** sont de 30,50° (Skhouana) et de 31,11° (Dzira1). Pour l'angle **B4**, la valeur de 102,75° est notée à Dzira 1 et la valeur de 104,51° est obtenue à Skhouana. Quant à l'angle **D7**, les valeurs extrêmes se situent entre 99,58° (Skhouana) et 100,23° (Dzira 2). Pour ce qui concerne l'angle **E9**, les valeurs extrêmes notées sont de 19,46 ° pour Dzira1 et 19,85 ° pour Dzira 2. Les valeurs extrêmes enregistrées pour l'angle **G18** sont de 89,79 ° (Dzira 1) et de 92,69 ° (Dzira 2). Pour l'angle **I10**, les valeurs obtenues oscillent entre 46,33 °(Dzira1) et 47,72° (Dzira2). Les valeurs extrêmes notées pour l'angle **I16** sont de 78,36 ° (Dzira1) et de 80,99 ° (Dzira2). Les valeurs moyennes extrêmes pour l'angle **K19** sont de 70,90 ° à Dzira1 et de 72,03 ° à Dzira2. Quant aux valeurs extrêmes de l'angle **L13**, elles sont de 15,10 ° (Dzira1) et de 15,54 ° (Dzira2). Pour l'angle **N23**, les valeurs obtenues se situent entre 76,47 °(Dzira1) et 80,35 ° (Dzira2). Elles atteignent 39,12 ° (Dzira1) et 39,90 ° (Skhouana) pour l'angle **O26**. Les longueurs de l'aile postérieure se situent dans l'intervalle compris entre 6,19 mm (Skhouana) et 6,54 mm (Dzira2). Celles notées pour la largeur se retrouvent entre 1,75 mm (Skhouana) et 1,78 mm (Dzira1). La somme des longueurs des 3<sup>ème</sup> et 4<sup>ème</sup> tergites atteint comme valeurs extrêmes 4,43 mm (Skhouana) et 4,45 mm (Dzira2). Pour l'indice cubital les valeurs notées oscillent entre 2,33 (Dzira1) et 2,51 (Skhouana). Quant à l'indice correspondant au rapport de la longueur à la largeur du 6<sup>ème</sup> sternite, une même valeur moyenne de 0,80 est remarquée dans les 3 localités. Il en est de même pour l'indice métatarsal, une valeur identique de 0,57 est obtenue pour les 3 localités.

### 2.3.1.1.3. - Population du Sahara

La population du Sahara (Bechar) est représentée aussi par 3 localités soit celles de Benzireg, M'Hadjeb et Sfissifa. La longueur moyenne de la langue la plus basse est obtenue dans la localité de Benzireg (6,20 mm) et la plus élevée est observée dans celle de Sfissifa (6,25 mm). Quant aux valeurs moyennes extrêmes de la plus grande dimension du fémur, elles oscillent entre 2,47 mm (Sfissifa) et 2,55 mm (M'hadjeb). Pour ce qui concerne la longueur du tibia, la valeur obtenue est de 2,95 mm dans les 3 localités. Pour la longueur du métatarse, la moyenne la plus faible obtenue est de 2,00 mm (M'hadjeb) et la plus élevée de 2,02 mm notée à Benzireg. Quant à sa largeur, elle oscille entre 1,14 mm (M'hadjeb et Sfissifa) et 1,15 mm (Benzireg). Les valeurs obtenues pour la longueur complète de la patte appartiennent à la fourchette allant de 7,51 mm à M'hadjeb à 7,72 mm à Sfissifa. Pour ce qui est des valeurs extrêmes de la longueur de 3<sup>ème</sup> tergite, elles oscillent entre 2,21 mm (Benzireg et M'hadjeb) et 2,22 mm (Sfissifa). Quant aux valeurs extrêmes de sa largeur, elles sont de 8,78 mm (Sfissifa) et de 9,02 mm (M'hadjeb). Pour la longueur moyenne du 4<sup>ème</sup> tergite, la plus faible est enregistrée à M'hadjeb (2,14 mm) et la plus élevée à Sfissifa (2,20 mm). Les valeurs extrêmes de sa largeur sont de 8,50 mm (M'hadjeb) et de 8,75 mm (Sfissifa). Il est à noter que les valeurs de la longueur de 3<sup>ème</sup> sternites fluctuent entre 2,71 mm (Benzireg et M'hadjeb) et 2,74 mm (Sfissifa). Celles remarquées pour la longueur du miroir à cire oscillent entre 1,37 mm (Sfissifa) et 1,37 mm (Benzireg et M'hadjeb). Quant aux valeurs extrêmes de la largeur du miroir à cire, elles atteignent 2,17 mm (M'hadjeb) et 2,20 mm (Sfissifa). Pour ce qui est de la distance entre les deux miroirs à cire, la plus faible valeur est soulignée à Benzireg et à M'hadjeb (0,32mm), la plus élevée étant obtenue à Sfissifa (0,37 mm). Les valeurs extrêmes de la longueur du 6<sup>ème</sup> sternite sont de 3,12 mm (Benzireg et Sfissifa) et de 3,16 mm (M'hadjeb). Celles de la largeur sont de 2,51 mm (Sfissifa) et de 2,53 mm (M'hadjeb). Les mesures moyennes de la longueur de l'aile, se situent entre 9,02 mm (Benzireg) et 9,06 mm (M'hadjeb et Sfissifa). Celles de la largeur sont de 3,05 mm (Benzireg et Sfissifa) et de 3,06 mm (M'hadjeb). Les valeurs extrêmes de la longueur de la nervure **A** sont de 0,55 mm (M'hadjeb) et de 0,57 mm (Sfissifa). Celles enregistrés pour la nervure **B** oscillent entre 0,24 mm (Benzireg et Sfissifa) et 0,25 mm (M'hadjeb). Pour ce qui concerne l'angle **A4** ses valeurs moyennes extrêmes sont de 30,61 ° (Sfissifa) et de 31,45 ° (M'hadjeb). La fourchette des valeurs de l'angle **B4** est limitée par 102,99 ° à M'hadjeb et 105,77 ° à Benzireg. Quant aux valeurs extrêmes de l'angle **D7**, elles se retrouvent entre 98,22 ° (M'hadjeb) et 100,16 ° (Sfissifa). Pour ce qui concerne l'angle **E9**, les valeurs extrêmes notées sont de 19,69° pour M'hadjeb et de 20,91° pour Benzireg.

Les valeurs extrêmes enregistrées pour l'angle **G18** sont de 90,62 ° (M'hadjeb) et de 96,20 ° (Benzireg). Pour l'angle **I10**, les valeurs obtenues oscillent entre 47,78 ° (M'hadjeb) et 50,92 ° (Sfissifa). Les valeurs extrêmes notées pour l'angle **I16** sont 79,28 ° (Benzireg) et 83,04 ° (Sfissifa). La valeur moyenne la plus faible pour l'angle **K19** est de 71,37 ° (Sfissifa) et la plus élevée est de 73,63 ° (M'hadjeb). Quant à celles de l'angle **L13**, les valeurs extrêmes sont de 15,41 ° (M'hadjeb) et de 16,54 ° (Benzireg). Les valeurs obtenues pour l'angle **N23** se situent entre 74,98 ° (Benzireg) et 78,43 ° (Sfissifa). Les mesures extrêmes enregistrées pour l'angle **O26** sont de 38,86 ° (M'hadjeb) et de 39,64 ° (Sfissifa). Celles de la longueur de l'aile postérieure se retrouvent dans l'intervalle allant de 6,51 mm (Sfissifa) à 6,62 mm (Benzireg). Celles notées pour la largeur se situent entre 1,77 mm (Sfissifa) et 1,82 mm (Benzireg). La somme des longueurs du 3<sup>ème</sup> et du 4<sup>ème</sup> tergite est calculée. Les valeurs extrêmes obtenues sont de 4,34 mm (M'hadjeb) et de 4,42 mm (Sfissifa). Les

mesures extrêmes mentionnées pour l'indice cubital oscillent entre 2,28 (M'hadjeb) et 2,46 (Sfissifa). Quant à l'indice de longueur sur la largeur du 6<sup>ème</sup> sternite, il se situe entre 0,80 (M'hadjeb) et 0,81 (Benzireg et Sfissifa). De même pour l'indice métatarsal, il est compris entre 0,56 (Sfissifa) et 0,57 (Benzireg et M'hadjeb).

L'analyse en composantes principales (ACP) des valeurs des mensurations des caractères morphométriques a permis de séparer les populations étudiés en 5 groupes distincts. L'interprétation graphique des résultats de l'ACP est réalisée principalement en fonction du plan 1-2 parce qu'il fournit le maximum d'informations avec 59,4 % de contribution à la variation totale (32,4 % de contribution pour l'axe 1 et 27% pour l'axe 2).

Le tableau 16 présente les valeurs propres de la matrice de corrélations, les pourcentages et les pourcentages cumulés de la variance expliquée par chacune des composantes principales pour l'ensemble des données de la matrice.

**Tableau 16 - Valeurs propres, pourcentage et pourcentages cumulés des six premières composantes principales.**

	CP1	CP2	CP3	CP4	CP5	CP6
Valeurs propres	12,325	10,259	8,127	3,586	2,315	1,388
Pourcentages	32,434	26,998	21,387	9,437	6,091	3,652
Pourcentages cumulés	32,434	59,433	80,820	90,257	96,348	100,000

La première composante principale (CP1) prend en compte 32,4% de la variabilité. C'est la plus importante puisque les autres valeurs  $x$  sont plus faiblement notées ( $3,7 \% \leq x \leq 27 \%$ ) (Tab. 16).

**Tableau 17 - Matrices de corrélations entre les variables initiales et les 5 premières composantes principales**

**Evaluation de la toxicité d'un produit phytopharmaceutique sur les abeilles domestiques locales (*Apis mellifera intermissa* et *Apis mellifera sahariensis*) et diversité génétique.**

	CP1	CP2	CP3	CP4	CP5
Longueur de la langue	<b>0,893</b>	-0,139	-0,301	-0,103	-0,288
Longueur du fémur	<b>0,035</b>	<b>0,885</b>	-0,160	-0,145	<b>0,359</b>
Longueur du tibia	<b>0,626</b>	<b>0,172</b>	<b>0,574</b>	-0,098	<b>0,378</b>
Longueur du métatarse	<b>0,273</b>	-0,777	-0,310	<b>0,424</b>	-0,188
Largeur du métatarse	<b>0,870</b>	<b>0,277</b>	-0,161	<b>0,079</b>	<b>0,296</b>
Longueur du 3 <sup>ème</sup> tergite	<b>0,039</b>	-0,008	<b>0,985</b>	-0,059	<b>0,141</b>
Largeur du 3 <sup>ème</sup> tergite	<b>0,140</b>	<b>0,529</b>	<b>0,672</b>	-0,472	<b>0,159</b>
Longueur du 4 <sup>ème</sup> tergite	<b>0,415</b>	-0,628	<b>0,618</b>	<b>0,183</b>	<b>0,113</b>
Largeur du 4 <sup>ème</sup> tergite	<b>0,472</b>	-0,767	-0,304	<b>0,193</b>	<b>0,013</b>
Longueur du 3 <sup>ème</sup> sternite	<b>0,543</b>	-0,588	<b>0,314</b>	<b>0,251</b>	-0,224
Longueur du miroir à cire	<b>0,153</b>	<b>0,473</b>	<b>0,160</b>	<b>0,726</b>	<b>0,427</b>
Largeur du miroir à cire	<b>0,575</b>	-0,283	<b>0,664</b>	<b>0,244</b>	<b>0,242</b>
Distance entre les miroirs à cire	<b>0,492</b>	-0,555	<b>0,657</b>	<b>0,009</b>	-0,134
Longueur du 6 <sup>ème</sup> sternite	<b>0,288</b>	<b>0,640</b>	-0,219	<b>0,608</b>	-0,246
Largeur du 6 <sup>ème</sup> sternite	<b>0,706</b>	<b>0,351</b>	-0,338	<b>0,447</b>	-0,101
Longueur de l'aile antérieure	<b>0,956</b>	<b>0,099</b>	<b>0,233</b>	<b>0,053</b>	-0,104
Largeur de l'aile antérieure	<b>0,860</b>	<b>0,117</b>	-0,483	-0,016	-0,114
Longueur de la nervure A	<b>0,549</b>	-0,673	-0,266	-0,263	-0,158
Longueur de la nervure B	<b>0,843</b>	<b>0,405</b>	-0,231	<b>0,158</b>	-0,188
Longueur de l'aile postérieure	<b>0,771</b>	<b>0,320</b>	-0,388	<b>0,243</b>	<b>0,286</b>
Largeur de l'aile postérieure	<b>0,590</b>	<b>0,318</b>	-0,555	-0,114	<b>0,366</b>
Angle 31=A4	<b>0,610</b>	<b>0,751</b>	<b>0,108</b>	<b>0,068</b>	-0,218
Angle 32=B4	-0,336	-0,537	-0,648	-0,236	<b>0,345</b>
Angle 33=D7	<b>0,099</b>	-0,434	<b>0,586</b>	<b>0,389</b>	<b>0,528</b>
Angle 34=E9	<b>0,113</b>	-0,375	-0,761	-0,202	<b>0,472</b>
Angle 35=G18	<b>0,796</b>	-0,417	-0,005	-0,347	<b>0,182</b>
Angle 36=I10	<b>0,278</b>	-0,775	-0,544	-0,040	-0,088
Angle 37=I16	<b>0,706</b>	-0,473	<b>0,330</b>	-0,255	-0,307
Angle 38=K19	<b>0,627</b>	<b>0,328</b>	<b>0,075</b>	-0,638	-0,290
Angle 39=L13	<b>0,448</b>	-0,479	-0,438	-0,485	0,302
Angle 40=N23	<b>0,482</b>	-0,279	0,700	-0,100	-0,049
Angle 41=O26	-0,782	-0,403	-0,242	<b>0,182</b>	<b>0,136</b>
Longueur du flagelle	<b>0,603</b>	<b>0,726</b>	-0,250	-0,053	<b>0,134</b>
Longueur totale de la patte	<b>0,543</b>	-0,615	-0,256	<b>0,401</b>	<b>0,010</b>
Taille du corps	<b>0,237</b>	-0,328	<b>0,899</b>	<b>0,060</b>	<b>0,142</b>
Indice cubital	-0,521	-0,799	<b>0,144</b>	-0,248	<b>0,071</b>
Longueur/largeur du 6 <sup>ème</sup> sternite	<b>0,759</b>	-0,466	-0,264	-0,245	<b>0,240</b>
Indice métatarsal	<b>0,307</b>	<b>0,723</b>	<b>0,315</b>	-0,511	<b>0,012</b>

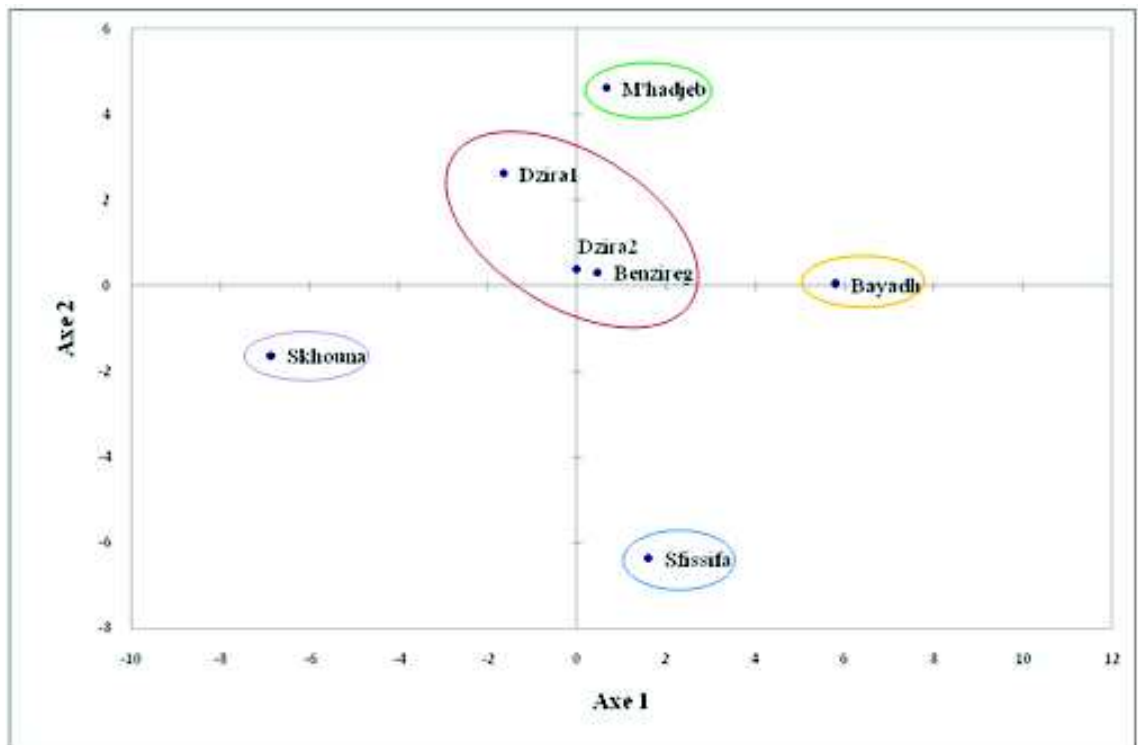
L'examen des corrélations des variables avec la première composante CP1 montrent que les variables biométriques sont positivement corrélées avec la première composante principale, sauf les angles 32 et 41 et l'index cubital qui sont négativement corrélés (Tab.17).

la 2<sup>ème</sup> composante principale (CP2) est corrélée positivement avec la longueur du fémur (Fe), la longueur du tibia (Ti), la largeur du métatarse (MT), la largeur du 3<sup>ème</sup> tergite (LT3), la longueur du miroir à cire (WL), la longueur du 6<sup>ème</sup> sternite (T6), la largeur du 6<sup>ème</sup> sternite (L6), la longueur de l'aile antérieure (LAA), la largeur de l'aile antérieure (AAA), la longueur de la nervure (b), la longueur de l'aile postérieure (LAP), la largeur de l'aile postérieure (AAP), les angles (31 et 38), la longueur du flagelle (flagellum) et l'indice métatarsal (MT/ML).

La 3<sup>ème</sup> composante principale (CP3) présente des corrélations positives avec la longueur du tibia (Ti), la longueur du 3<sup>ème</sup> tergite (AT3), la largeur du 3<sup>ème</sup> tergite (LT3), la longueur du 4<sup>ème</sup> tergite (AT4), la longueur du 3<sup>ème</sup> sternite (S3), la longueur du miroir à cire (WL), la largeur du miroir à cire (WT), la distance entre les miroirs à cire (WD), la longueur de l'aile antérieure (LAA), les angles (33, 37 et 38), la taille du corps (BS), l'indice cubital (a /b) et l'indice métatarsal (MT/ML).

La 4<sup>ème</sup> composante principale (CP4) est corrélée positivement avec la longueur du métatarse (ML), la largeur du métatarse (MT), la longueur du 4<sup>ème</sup> tergite (AT4), la largeur du 4<sup>ème</sup> tergite (LT4), la longueur du 3<sup>ème</sup> sternite (S3), la longueur du miroir à cire (WL), la largeur du miroir à cire (WT), la distance entre les miroirs à cire (WD), la longueur du 6<sup>ème</sup> sternite (T6), la largeur du 6<sup>ème</sup> sternite (L6), la longueur de l'aile antérieure (LAA), la longueur de la nervure A (a), la longueur de la nervure (b), les angles (31, 33 et 41), la longueur totale de la patte (CL) et la taille du corps (BS).

Enfin la 5<sup>ème</sup> composante est corrélée positivement avec la longueur du fémur (Fe), la longueur du tibia (Ti), la largeur du métatarse (MT), la longueur du 3<sup>ème</sup> tergite (AT3), la largeur du 3<sup>ème</sup> tergite (LT3), la longueur du 4<sup>ème</sup> tergite (AT4), la largeur du 4<sup>ème</sup> tergite (LT4), la longueur du miroir à cire (WL), la largeur du miroir à cire (WT), la longueur de l'aile postérieure (LAP), la largeur de l'aile postérieure (AAP), les angles (32, 33, 34, 35 et 41), la longueur du flagelle (flagellum), la longueur totale de la patte (CL), la taille du corps (BS), l'indice cubital (a /b), le rapport longueur/largeur du 6<sup>ème</sup> sternite L6/T6 et l'indice métatarsal (MT/ML) (Tab.17).



**Figure 33** - Projection des points moyens des colonies d'abeilles sur le premier plan factoriel d'une analyse en composantes principales.

Un premier groupe comprend les colonies d'abeilles de la localité de Skhouma. Un second groupe rassemble les colonies d'abeilles des localités de D'zira1, de D'zira2 et de Benzireg. Un troisième groupe est représenté par les abeilles provenant de la localité de Sfissifa. Un quatrième groupe comprend les colonies d'abeilles de la population de la steppe représentée par une seule localité de Bayadh qui constitue le rucher à conserver. Enfin le cinquième groupe est représenté par les colonies d'abeilles de la localité de M'hadjeb.

### 2.3.1.2. – Comparaison entre les abeilles algériennes et celles prises en référence

Les résultats des valeurs des moyennes et des écart-types standards des 38 caractères morphologiques mesurés des abeilles algériennes et les abeilles de référence sont rassemblés dans le tableau 18. Les différentes populations de l'abeille saharienne étudiées sont comparées avec celles du centre septentrional algérien, du Maroc et de l'Espagne.

L'interprétation graphique des résultats de l'ACP est réalisée principalement en fonction du plan 1-2 parce qu'il fournit le maximum d'informations avec 81 % de contribution à la variation totale (61,3 % de contribution pour l'axe 1 et 19,5 % pour l'axe 2).

	<i>A. m. sahariensis</i> Algérie (N= 520)	<i>A. m. sahariensis</i> Maroc (N=90)	<i>A. m. intermissa</i> Algérie (N= 240)	<i>A. m. intermissa</i> Maroc (N=50)	<i>A. m. iberiensis</i> Espagne (N=90)
Caractères	Moyenne = écart-type	Moyenne = écart-type	Moyenne = écart-type	Moyenne = écart-type	Moyenne = écart-type
Longueur de la langue	6,18 = 0,076	5,89 = 0,062	6,17 = 0,087	6,57 = 0,076	6,39 = 0,104
Longueur du fémur	2,52 = 0,028	2,44 = 0,016	2,56 = 0,024	2,59 = 0,032	2,66 = 0,042
Longueur du tibia	2,97 = 0,031	2,97 = 0,023	2,97 = 0,071	3,20 = 0,068	3,18 = 0,074
Longueur du métatarse	2,06 = 0,151	1,93 = 0,027	2,01 = 0,032	2,10 = 0,029	2,15 = 0,042
Largeur du métatarse	1,14 = 0,013	1,10 = 0,008	1,15 = 0,016	1,17 = 0,035	1,17 = 0,034
Longueur du 3ème tergite	2,24 = 0,029	2,14 = 0,020	2,29 = 0,033	2,24 = 0,001	2,37 = 0,027
Largeur du 3ème tergite	9,03 = 0,135	8,09 = 1,041	9,01 = 0,111	9,28 = 0,146	9,54 = 0,151
Longueur du 4ème tergite	2,18 = 0,026	2,74 = 0,930	2,21 = 0,044	2,18 = 0,011	2,32 = 0,048
Largeur du 4ème tergite	8,55 = 0,098	8,15 = 0,067	8,41 = 0,114	8,66 = 0,072	8,94 = 0,151
Longueur du 5ème sternite	2,72 = 0,013	2,57 = 0,037	2,67 = 0,084	2,71 = 0,010	2,76 = 0,068
Longueur du miroir à cire	1,38 = 0,016	1,29 = 0,052	1,42 = 0,033	1,37 = 0,044	1,43 = 0,045
Largeur du miroir à cire	2,19 = 0,016	2,08 = 0,045	2,19 = 0,072	2,25 = 0,005	2,19 = 0,067
Distance entre les miroirs à cire	0,35 = 0,023	0,41 = 0,020	0,25 = 0,057	0,34 = 0,022	0,29 = 0,066
Longueur du 6 <sup>ème</sup> sternite	3,12 = 0,027	2,92 = 0,062	3,16 = 0,063	3,16 = 0,022	3,34 = 0,039
Largeur du 6 <sup>ème</sup> sternite	2,51 = 0,022	2,36 = 0,033	2,52 = 0,021	2,51 = 0,055	2,66 = 0,037
Longueur de l'aile antérieure	9,04 = 0,081	8,76 = 0,030	8,99 = 0,202	9,28 = 0,181	9,38 = 0,137
Largeur de l'aile antérieure	3,03 = 0,032	2,99 = 0,009	3,05 = 0,032	3,15 = 0,042	3,11 = 0,044
Longueur de la nervure A	0,55 = 0,009	0,54 = 0,004	0,54 = 0,023	0,57 = 0,023	0,51 = 0,029
Longueur de la nervure B	0,24 = 0,007	0,21 = 0,017	0,24 = 0,017	0,22 = 0,008	0,23 = 0,010
Longueur de l'aile postérieure	6,50 = 0,144	6,31 = 0,029	6,61 = 0,041	6,65 = 0,139	6,57 = 0,118
Largeur de l'aile postérieure	1,78 = 0,022	1,75 = 0,016	1,79 = 0,021	1,82 = 0,014	1,83 = 0,041
Angle A4 =31	30,98 = 0,359	31,10 = 0,042	30,80 = 1,439	30,84 = 0,057	32,35 = 1,003
Angle B4 =32	103,83 = 1,265	104,69 = 1,151	105,05 = 2,572	106,25 = 0,520	103,18 = 2,961
Angle D7 =53	99,79 = 0,783	101,26 = 1,549	100,06 = 0,967	100,76 = 0,020	102,95 = 2,369
Angle E9 =34	19,91 = 0,519	20,00 = 0,911	19,84 = 0,573	19,56 = 0,097	18,36 = 0,544
Angle G18 =35	93,50 = 3,683	91,96 = 0,324	92,59 = 1,460	95,91 = 4,703	92,46 = 3,792
Angle I10 =36	48,14 = 1,437	49,75 = 0,081	47,53 = 1,740	49,46 = 0,417	45,31 = 1,463
Angle I16 =37	80,94 = 2,268	76,27 = 1,488	78,29 = 3,597	77,40 = 0,075	79,02 = 1,683
Angle K19 =38	72,46 = 1,355	75,20 = 1,014	74,46 = 1,350	80,10 = 2,284	79,49 = 3,623
Angle L13 =39	15,75 = 0,486	16,23 = 0,509	15,05 = 0,372	15,93 = 0,431	15,23 = 0,387
Angle N23 =40	77,77 = 2,166	73,48 = 0,045	75,75 = 1,735	73,08 = 0,676	74,03 = 2,139
Angle O26 =41	39,15 = 0,677	36,21 = 0,738	37,30 = 1,646	35,83 = 2,233	41,18 = 2,714
Longueur du flagelle	2,97 = 0,010	2,87 = 0,027	2,97 = 0,038	2,97 = 0,043	3,03 = 0,030
Longueur totale de la patte	7,53 = 0,099	7,34 = 0,065	7,53 = 0,081	7,89 = 0,129	7,99 = 0,109
Taille du corps	4,42 = 0,050	4,81 = 0,815	4,50 = 0,076	4,43 = 0,012	4,69 = 0,072
Indice cubital	2,39 = 0,077	2,63 = 0,211	2,24 = 0,222	2,67 = 0,008	1,84 = 0,134
Longueur / largeur du 6 <sup>ème</sup> sternite	0,80 = 0,004	0,81 = 0,006	0,81 = 0,013	0,79 = 0,012	0,80 = 0,007
Indice métatarsal	0,57 = 0,004	0,57 = 0,004	0,57 = 0,009	0,56 = 0,009	0,54 = 0,016

**Tableau 18– Valeurs des moyennes et des écart-types standards des 38 caractères morphologiques mesurés des abeilles algériennes et les abeilles de référence.**

Les mesures d'angle (A4-O26) sont données en degrés, le reste des mesures sont exprimées en mm.

Le tableau 19 présente les valeurs propres de la matrice de corrélations, les pourcentages de la variance expliquée par chacune des composantes principales pour l'ensemble des données de la matrice.

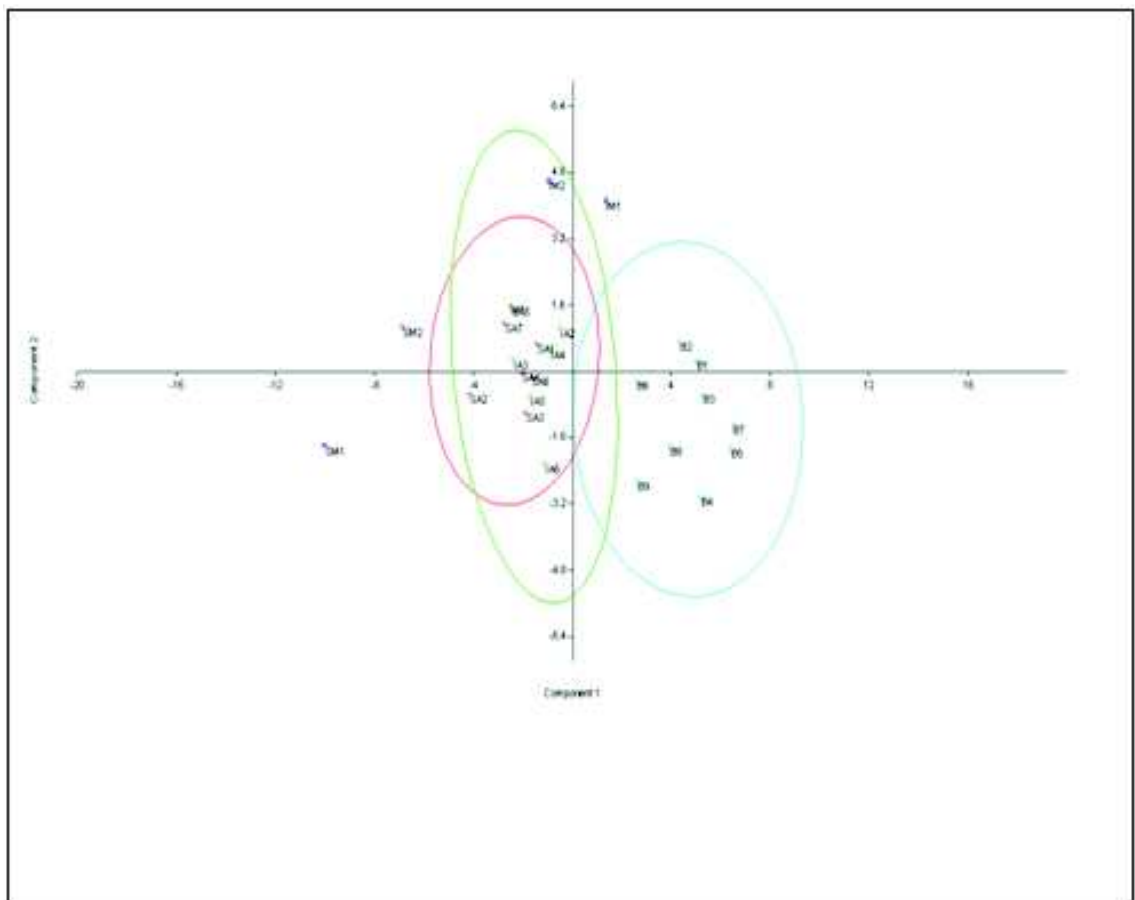
**Tableau 19- Valeurs propres, pourcentage et pourcentages cumulés des quatre premières composantes principales.**

	CP1	CP2	CP3	CP4
Valeur propre	23,298	7,39339	5,54449	1,76413
Pourcentage	61,31	19,456	14,591	4,6425

La première composante principale (CP1) prend en compte 61,31% de la variabilité. C'est la plus importante puisque les autres valeurs  $x$  sont plus faiblement notées ( $1,8 \% \leq x \leq 24 \%$ ) (Tab. 19).

La figure 34 montre la projection des points moyens des colonies sur le premier plan d'une ACP. Il est à constater une nette différenciation en 3 groupes distincts.

Un premier groupe comprend les colonies d'abeilles ibériques. Les échantillons avec des valeurs négatives pour le premier axe, correspondent à des échantillons du Nord-Ouest africain. Dans ce dernier groupe il y a encore deux sous-groupes, l'un constitué par l'ensemble des échantillons des abeilles de la sous espèce *A. m. intermissa*, quelle que soit son origine algérienne ou marocaine, ainsi que *A. m. sahariensis* d'origine algérienne, sauf pour les abeilles de la localité de Skhouna (Ain Sefra), l'autre formé par *A. m. sahariensis* du Maroc.



**Figure 34 - Projection des points moyens des colonies d'abeilles sur le premier plan factoriel d'une analyse en composantes principales.**



---

# Chapitre III - Discussions

Les discussions portent sur l'évaluation de la toxicité aiguë et de la toxicité subchronique du thiaméthoxame, de la diversité génétique ainsi que sur la biométrie de l'abeille domestique locale.

## 3.1. - Evaluation de la toxicité aiguë et de la toxicité subchronique du thiaméthoxame

Les résultats de l'évaluation de la toxicité aiguë, de la variation de la toxicité aiguë orale du thiaméthoxame en fonction des volumes administrés, ainsi que les résultats de la variation de la toxicité aiguë orale de thiaméthoxame en fonction des saisons chez l'abeille domestique locale sont discutés. Ensuite les résultats de la toxicité réitérée et de la toxicité subchronique sont abordés.

### 3.1.1. - Evaluation de la toxicité aiguë

---

Les résultats des toxicités aiguës orale et par contact sont discutés pour les deux races de l'abeille domestique, *Apis mellifera intermissa* et *Apis mellifera sahariensis*

#### 3.1.1.1. - Observation des symptômes induits par le thiaméthoxame

Les toxicités orale et de contact induisent rapidement des symptômes de neurotoxicité tels que des mouvements désordonnés, des tremblements et des convulsions, puis un comportement apathique. Les mêmes symptômes sont induits par l'imidaclopride chez *Apis mellifera mellifera* et *Apis mellifera caucasica* (SUCHAIL *et al.*, 2000 ; SUCHAIL *et al.*, 2003). Les insecticides néonicotinoïdes agissent comme des agents neurotoxiques et ils affectent la mobilité des abeilles en induisant des symptômes tels que des tremblements, une incoordination des mouvements et une hyperactivité (LAMBIN *et al.*, 2001; NAUEN *et al.*, 2001; SUCHAIL *et al.*, 2000, 2003; MEDRZYCKI *et al.*, 2003; COLIN *et al.*, 2004).. Ces symptômes sont faciles à observer à des niveaux d'exposition élevés, tandis que l'effet d'une dose plus faible est difficile à discerner.

#### 3.1.1.2. - Toxicités orale et par contact

La mortalité augmente pour les deux races d'abeilles en fonction de l'élévation de la dose administrée. En effet, il existe une relation directement proportionnelle entre la dose de thiaméthoxame administrée et la mortalité observée. Le maximum de la mortalité est atteint au bout de 24 heures après le traitement avec les doses qui dépassent 50 ng/ abeille pour la toxicité orale ainsi que pour des doses qui dépassent 200 ng/ abeille pour ce qui est de la toxicité de contact. De ce fait, la différence de sensibilité des abeilles au thiaméthoxame est liée à la voie de pénétration du toxique. Le thiaméthoxame est plus toxique par voie orale que par contact, ce qui est différent de l'action de la plupart des

insecticides utilisés. Les mêmes constatations sont signalées par SUCHAIL *et al.* (2000) avec l'imidaclopride. Par contre, d'autres insecticides sur l'abeille présentent une toxicité plus importante après application topique qu'après ingestion. L'application topique d'un pyréthrinamide de synthèse, la deltaméthrine, engendre une toxicité 16 fois supérieure à celle observée après ingestion (SMART et STEVENSON, 1982). De même, la toxicité des organophosphates, tel que le chlorpyrifos, apparaît 4 fois plus élevée par contact que par voie orale (MISHRA et VERMA, 1982). RAFALIMANANA (2003) constate après l'utilisation du chlorpyrifos, de la deltaméthrine et de la lambda cyhalothrine au laboratoire que l'abeille domestique est plus sensible à ces insecticides par application topique que par ingestion collective. GILBRET et WILKINSON (1975) cité par RAFALIMANANA (2003) rapportent que le produit ingéré passe dans les organes de détoxification, soit l'intestin et les tubes de Malpighi, avant d'être réparti dans tout le corps. Par contre, le produit appliqué sur le thorax traverse la cuticule au travers de canalicules cireux et la distribution s'effectue directement dans l'organisme, plus particulièrement dans les zones les plus lipophiles. Généralement, les néonicotinoïdes sont plus toxiques par voie orale que par mode de contact. La différence entre les toxicités orale et de contact peut être due à la faible hydrophobicité des néonicotinoïdes produisant une faible pénétration à travers la cuticule des insectes (DECOURTYE et DEVILLERS, 2010). Il est à constater que le maximum de mortalité est atteint au bout de 24 heures de traitement, ainsi les courbes de relation dose-mortalité sont superposées. Cette particularité de la toxicité de thiaméthoxame suggère l'implication de phénomènes métaboliques. En effet, le métabolisme du thiaméthoxame est largement étudié chez *Rhizobacterium Ensifer adhaerens*, la souris, les insectes et les plantes telles que le coton, l'épinard et la tomate. Dans ces organismes, le thiaméthoxame subit initialement une transformation par l'une des trois voies: soit la déméthylation à desméthyl-thiaméthoxame, ou bien la réduction de nitro à nitrosoimino (= N-NO) suivie par la transformation à l'imino (= NH) et d'urée (= O) pour les métabolites thiaméthoxame et du desméthyl-thiaméthoxam, ou soit le clivage du cycle oxadiazine qui va donner la clothianidine, un insecticide néonicotinoïde nouvellement commercialisé (NAUEN *et al.*, 2003; FORD et CASIDA, 2006, 2008; KARMAKAR *et al.*, 2009; CASIDA, 2011; ZHOU *et al.*, 2012). NAUEN *et al.* (2003) rapportent que le thiaméthoxame est métabolisé dans le corps de l'insecte en clothianidine qui est un insecticide hautement toxique pour l'abeille. En effet, ces auteurs notent que le dérivé N-desméthyle - thiaméthoxame, n'est pas significativement produit dans les chenilles des lépidoptères *Heliothis virescens* et *Spodoptera frugiperda* ou dans les cotonniers, même s'il est souvent mentionné comme un métabolite possible. Ces mêmes auteurs concluent aussi que le thiaméthoxame est susceptible d'être un précurseur des néonicotinoïdes pour la clothianidine. Il est fort possible qu'au cours des présents essais de toxicité, la mortalité cumulée au bout de 24 heures après traitement soit due à la clothianidine. Par contre, SUCHAIL *et al.* (2000), signalent des mortalités retardées avec l'utilisation de fortes doses de l'imidaclopride sur *A. m. mellifera* et *A. m. caucasica*. Cette particularité suggère aussi l'implication de phénomènes métaboliques. Jusqu'à présent, la plupart des études réalisées sur les métabolites de l'imidaclopride montrent que les 5-hydroxy - imidaclopride et l'oléfine sont plus toxiques par rapport à l'urée et à l'acide 6-chloronicotinique (NAUEN *et al.*, 2001). SUCHAIL (2001) rapporte que l'oléfine est deux fois plus toxique que l'imidaclopride alors que le 5- hydroxy – imidaclopride est près de 4 fois moins toxique. Une toxicité similaire élevée de l'imidaclopride et du thiaméthoxame est observée également chez le bourdon *Bombus terrestris* (MOMMAERTS *et al.*, 2010). Lors du traitement topique, les groupes contenant du nitro- néonicotinoïdes comme l'imidaclopride, la clothianidine, le thiaméthoxam, le nitenpyram et le dinotéfurane sont plus toxiques que les cyano-groupes contenant l'acétamipride et le thiaclopride (IWASA *et al.*, 2004; LAURINO

*et al.*, 2011). La faible toxicité des cyano-groupes néonicotinoïdes peut être attribué à leur biotransformation rapide (SUCHAIL *et al.*, 2004a, b; BRUNET *et al.*, 2005).

### 3.1.1.3. - DL50 orale et de contact du thiaméthoxame

La méthode standard pour évaluer la toxicité des insecticides qui peuvent potentiellement être en contact avec les abeilles implique le calcul d'une donnée de toxicité aiguë (DL50) suite aux lignes directives normalisées comme la directive du Conseil européen 91/414 d'une part et celle fédérale des Insecticides des fongicides et des rodenticides aux États-Unis d'autre part (BLACQUIERE *et al.*, 2012 ; DECOURTYE et DEVILLERS, 2010). Dans ce contexte, les essais biologiques au laboratoire sont menés pour déterminer la toxicité orale et de contact des abeilles domestiques locales. Les valeurs de la DL50 du thiaméthoxame obtenues pour les deux races d'abeilles sont faibles. En effet, pour *A. m. intermissa*, les moyennes de la DL50 au bout de 24 heures sont égales à 12,3 ng/abeille par voie orale et à 26 ng /abeille par voie topique. Pour *A. m. sahariensis*, les moyennes de la DL50 au bout de 24 heures atteignent 13,3 ng /abeille par voie orale et à 43,3 ng /abeille par voie topique. Ces valeurs confirment que le thiaméthoxame est plus toxique par ingestion que par application topique. De même, l'analyse de la variance Anova ( $p < 0,0001$ ) indique une différence significative de sensibilité au thiaméthoxame entre *A. m. intermissa* et *A. m. sahariensis* après application topique. IWASA *et al.* (2004) classent la toxicité des insecticides néonicotinoïdes en fonction de la DL 50 obtenue au bout de 24 heures après une application topique. Pour le groupe de nitro, les DL50 obtenues sont : l'imidaclopride (18 ng/abeille) > clothianidine (22 ng/abeille) > thiaméthoxame (30 ng/abeille) > dinotefuran (75 ng/abeille) > nitenpyram (138 ng/abeille) et celles obtenus pour le groupe de cyano sont : acetamipride (7µg/abeille) > thiaclopride (15µg/abeille). SUCHAIL *et al.* (2000) notent que les DL50 obtenues avec l'imidaclopride pour les deux applications orale et par contact sont comprises entre 4 et 24 ng /abeille. DECOURTYE et DEVILLERS, (2010) rapportent que les valeurs de DL50 de l'imidaclopride par la voie topique ne varient pas significativement d'un auteur à un autre, la variation peut être multipliée par le facteur 6. En utilisant la même voie d'application, STARK *et al.* (1995) montrent que les trois espèces d'abeilles soit *Apis mellifera*, *Megachile rotundata* et *Nomia melanderi*, sont également sensibles à l'imidaclopride ( DL50 = 0,04 µg / abeille au bout de 24 h). Des conclusions similaires sont également élaborées pour le thiaméthoxame avec une DL50 de 30 ng/abeille pour *A. mellifera* et 33 ng/ abeille pour *B. terrestris* (IWASA *et al.*, 2004; MOMMAERTS *et al.*, 2010). Les valeurs de la DL50 obtenues dans la présente étude pour *A. m. sahariensis* par la voie topique sont supérieures à celles mentionnées dans la littérature spécialisée. Par contre, celles mentionnées pour *A. m. intermissa* sont inférieures. Par ailleurs, les valeurs obtenues par ingestion sont supérieures par rapport à celles notées par plusieurs auteurs (DECOURTYE et DEVILLERS, 2010 ; LAURINO *et al.*, 2011). Il est constaté que les DL50 orales, montrent une grande variabilité au cours de différentes études réalisées avec les néonicotinoïdes (DECOURTYE et DEVILLERS, 2010; LAURINO *et al.*, 2011). Ainsi, la DL50 orale de l'imidaclopride peut varier de 1 à 20 fois. Cette variation est interprétée par NAUEN *et al.* (2001) par le processus de trophallaxie qui peut contribuer aux différences dans l'absorption et l'accumulation d'un insecticide par les ouvrières. Par contre, les fortes peuvent entraîner une réduction de la consommation d'eau sucrée. RAFALIMANANA, (2003) conclut que l'ingestion collective est la plus proche de la réalité chez les insectes sociaux et serait à recommander pour ne pas sous-estimer la toxicité des produits. D'autres études sur la variation de la toxicité mettent en cause d'autres facteurs tels que l'âge de l'abeille, la colonie et les sous-espèces utilisées (SUCHAIL *et al.*, 2000, 2001; NAUEN *et al.*, 2001; GUEZ *et al.*, 2003) et la santé de l'abeille avec une alimentation protéique optimale

(WEHLING *et al.*, 2009.). De même, l'infestation par la nosérose *Nosema ceranae* peut rendre les abeilles plus sensibles (ALAUX *et al.*, 2010; VIDAU *et al.*, 2011; AUFAUVRE *et al.*, 2012). Les valeurs de DL50 de néonicotinoïdes sont faibles vis-à-vis des abeilles par rapport aux plus anciennes familles d'insecticides tels que les organophosphorés, les pyréthroïdes et les carbamates qui présentent une toxicité très élevée (ATKINS *et al.*, 1981; STARK *et al.*, 1995). SUCHAIL *et al.* (2000) signalent que la toxicité des insecticides organophosphorés, tel que le chlorpyrifos, est quatre fois plus élevée par contact que par voie orale (DL50 par contact égale à 59 ng/abeille et par voie orale égale à 250 ng/abeille). De même, l'application topique de la bifenthrine (pyréthrianoïde) est sept fois plus puissante que l'application par voie orale (DL50 = 15 ng / abeille par contact; DL50 = 100 ng / abeille par voie orale). Quelles que soient les races ou les espèces d'abeilles utilisées, la toxicité du thiaméthoxame est extrêmement élevée. Des études au laboratoire et sur le terrain indiquent que le thiaméthoxame est très toxique pour les abeilles soit par contact ou soit par ingestion (RANCAN *et al.*, 2006). Ces résultats confirment le danger lié à cet insecticide qui ne doit pas être utilisé en pleine floraison, pour éviter les risques d'intoxications des abeilles.

### **3.1.2. - Variation de la toxicité aiguë orale du thiaméthoxame en fonction des volumes administrés pour l'abeille domestique locale**

---

Les courbes de mortalité en fonction des doses pour les différents volumes ingérés par les abeilles domestiques *A. m. intermissa* et *A. m. sahariensis* montrent que plus la dose augmente, plus la mortalité apparaît rapidement. Il existe une relation directement proportionnelle entre la dose du thiaméthoxame administrée et la mortalité observée. De plus, il est à noter que la mortalité évolue au cours de temps jusqu'à atteindre un maximum pour chaque dose au bout de 24 heures. Le thiaméthoxame induit les mêmes symptômes de neurotoxicité quel que soit le volume ingéré. Des symptômes d'empoisonnement similaires à ceux observés avec d'autres insecticides néonicotinoïdes sont remarqués (BORTOLOTTI *et al.*, 2003; MEDRZICKY *et al.*, 2003; MACCAGNANI *et al.*, 2008; DECOURTYE et DEVILLERS, 2010). Il ressort que les valeurs de la DL50 diminuent avec l'augmentation du volume. Il est à constater qu'il y a une relation inversement proportionnelle entre les DL50 obtenues et les volumes administrés. En effet, la DL50 pour le volume de 5 µl /abeille est de 10 fois plus grande que la DL50 obtenue avec un volume de 50 µl /abeille chez *A. m. intermissa*. Pour *A. m. sahariensis*, la DL50 obtenue avec un volume de 5 µl/abeille est de 5 fois plus grande que la DL50 observée avec un volume de 50 µl /abeille. Les mêmes constatations sont observées par MADOUNI et OUDNI (2010). Les DL50 obtenues pour l'abeille saharienne sont en général plus fortes que les DL50 notées chez l'abeille tellienne. Cette différence de sensibilité des abeilles au thiaméthoxame ne peut pas être due aux erreurs expérimentales car toutes les expérimentations sont réalisées de façon standardisée selon la méthode 95 de la Commission des essais biologiques (C.E.B., 1995). Cette différence de sensibilité entre les colonies pourrait être due à la variation de la capacité de détoxification du thiaméthoxame par les abeilles. En effet, dans la plupart des cas, lorsqu'un xénobiotique (substance étrangère à l'organisme pris en considération) pénètre dans un organisme, ce dernier essaie de l'éliminer en changeant sa structure moléculaire pour le rendre plus soluble et facile à éliminer. Cette métabolisation conduit en général à la formation de métabolites moins toxiques. Mais, elle peut aussi dans certains cas, aboutir à la formation de métabolites toxiques voire plus toxiques que le produit parent comme la clothianidine qui est plus toxique que le thiaméthoxame lui-même ( NAUEN *et al.*, 2003; FORD et CASIDA, 2006, 2008; KAMAKAR *et al.*, 2009; BENZIDANE *et al.*, 2010 ;CASIDA, 2011; ZHOU *et al.*, 2012). Les faibles doses contenues dans les volumes de 5 µl et 10

µl, provoquent de faibles taux de mortalités. Il est à constater que lorsque l'abeille ingère au-delà de 10 µl de solution à faibles doses les taux de mortalité apparaissent élevés. La mortalité induite par le thiaméthoxame à faibles doses pourrait être due à l'absence d'induction des enzymes de détoxification. Les faibles doses ne seraient pas suffisantes pour déclencher l'induction des enzymes de détoxification. Les enzymes induites entraînent l'augmentation de la vitesse de métabolisation et de l'excrétion de thiaméthoxame. Aux doses supérieures, l'augmentation de la mortalité est due à l'induction d'enzymes de détoxification qui aboutit à la formation de métabolites plus toxiques comme le clothianidine. Dans le cas de l'imidaclopride, SUCHAIL (2001) émet l'hypothèse que l'augmentation de la mortalité à fortes doses pourrait être due à la saturation des enzymes de détoxification, et que l'induction des enzymes de détoxification nécessite la formation de métabolites moins toxique que le produit parent.

### 3.1.3. - Variation de la toxicité aiguë orale du thiaméthoxame en fonction des saisons chez l'abeille domestique locale

L'étude de la toxicité aiguë du thiaméthoxame met en évidence une variabilité importante de la sensibilité des abeilles domestiques étudiées durant les différentes saisons de l'année. Les tests de la toxicité menés au laboratoire mettent en relief les mortalités cumulées au bout de 24 heures pour toutes les doses administrées aux deux races d'abeilles. Ainsi, les courbes de la relation dose-mortalité sont superposées. Ce phénomène est beaucoup plus accentué au printemps. Les DL50 obtenues pour les deux races de l'abeille domestique durant le printemps sont faibles par rapport à celles de l'été. Au printemps *A. m. intermissa* est très sensible car la valeur de la DL50 obtenue au bout des différents temps d'observation est de 6,6 ng/abeille. De même, pour *A. m. sahariensis*, la valeur de la DL50 notée au bout de 24 heures atteint 7,3 et 8,1 ng/abeille respectivement après 48 et 72 heures. AMIROU et HADDADOU (2009) notent au printemps des valeurs de la DL50 variant de 5,6 et 7,2 ng/abeille pour la tellienne. Il est à remarquer que CHAHBAR *et al.* (2009a) ont signalé des valeurs égales à 7,4 et à 8,2 ng/abeille chez *A. m. intermissa*. De même, CHAHBAR *et al.* (2009b) notent des valeurs 10,9 et 11,5 ng/abeille pour *A. m. sahariensis*. Les valeurs de la DL50 observées en été au bout de 24 heures sont de 12,2 ng/abeille pour *A. m. intermissa* et de 13,6 ng/abeille pour *A. m. sahariensis*. L'analyse de la variance Anova ( $p < 0,0001$ ) indique une différence significative de sensibilité au thiaméthoxame chez *A. m. intermissa* et chez *A. m. sahariensis*. Cette différence de sensibilité entre les saisons est expliquée par SMIRLE et WINSTON (1987) par l'activité de l'enzyme aldrine – époxydase qui se réduit régulièrement au cours du printemps. Cette diminution de l'activité enzymatique entraîne une augmentation de la sensibilité des abeilles aux toxiques. Cela pose un problème important car c'est à cette période que les abeilles commencent à butiner et donc à s'exposer aux toxiques. Quant à la différence de sensibilité au thiaméthoxame entre les sous espèces, elle peut être due à une variation de la capacité de désintoxication dans les colonies d'abeilles. SUCHAIL (2001) note que 5 facteurs peuvent être à l'origine de ces différences de sensibilité chez les abeilles. Ce sont l'âge, la saison, le statut social, la colonie et l'environnement. SMIRLE et WINSTON (1988) montrent que l'activité des aldrines-époxydases et des glutathion S-transférases chez l'ouvrière augmente durant les 3 à 7 premiers jours puis elle diminue lentement tout au long de la vie de l'ouvrière. L'environnement peut agir aussi sur les systèmes enzymatiques des abeilles, en particulier les xénobiotiques qui peuvent influencer leur activité (SUCHAIL, 2001).

### 3.1.4. – Evaluation de la toxicité subchronique

---

Les résultats de la toxicité réitérée et de la toxicité subchronique sont discutés pour les deux races de l'abeille domestique, *Apis mellifera intermissa* et *Apis mellifera sahariensis*

#### 3.1.4.1.- Toxicité réitérée

L'étude de la toxicité réitérée montre que le thiaméthoxame est toxique pour les deux races d'abeilles qu'il soit administré en doses uniques (toxicité aiguë) ou en doses fragmentées et échelonnées. Les DL80 appliquées en une seule fois provoquent au bout de 5 jours des taux de mortalités de 84,2 % pour l'abeille saharienne et de 89,5 % pour l'abeille tellienne. En revanche, les DL80 fragmentées au cours de 5 jours engendrent des mortalités qui ne cessent d'augmenter pour atteindre 100 % au bout de 120 heures pour les deux races d'abeilles. Les DL20 provoquent des pourcentages de mortalités ne dépassant pas 32 % au bout de 5 jours pour les deux races d'abeilles. Ces mêmes doses fragmentées au cours de 5 jours donnent des taux de mortalités doubles. Les mêmes constatations sont notées avec les deux doses sublétales. Les doses répétées ou cumulées augmentent davantage les mortalités par rapport aux doses uniques (toxicité aiguë). Les présents résultats concordent avec ceux obtenus par ALLILI et BOUTRIKA (2010) et avec ceux de CHAHBAR *et al.* (2011). FIEDLER (1987) suggère que la toxicité d'une substance active est plus élevée si elle est administrée en plusieurs fois que si elle est administrée en une seule fois. Ceci est dû à l'existence d'un seuil minimal nécessaire pour induire les enzymes de détoxification. En effet, au début de l'expérimentation les faibles mortalités induites par le thiaméthoxame à faibles doses pourraient être dues à l'absence d'induction des enzymes de détoxification. Les faibles doses ne seraient pas suffisantes pour déclencher l'induction des enzymes de détoxification. Les enzymes induites entraîneraient l'augmentation de la vitesse de métabolisation et de l'excrétion de thiaméthoxame. Lorsque les faibles doses sont répétées, elles se rapprochent des fortes doses et l'augmentation de la mortalité serait due à l'induction d'enzymes de détoxification qui aboutirait à la formation de métabolites plus toxiques comme le clothianidine. Aussi l'épuisement des abeilles et l'absence d'apport protéique dans leur alimentation constituée uniquement de candi pendant 5 jours peuvent influencer sur leur mortalité. ILLARIONOV (1991) cité par SUCHAIL (2001) a mis en évidence chez les abeilles, des différences considérables de toxicité pour une même dose d'insecticides organophosphates et de pyréthriinoïdes administrée en traitements uniques (toxicité aiguë) et en traitements multiples (toxicité réitérée). Cette étude montre que la toxicité chez les butineuses est plus élevée dans le cas d'ingestions multiples que dans le cas d'une ingestion unique de la substance active. Avec les organophosphates, les valeurs de la DL50 sont divisées par 220 et par 570, respectivement pour le volaton (Phoxime) et l'actellic (Pyrimiphos-methyl), entre les études de toxicité aiguë et les études de toxicité réitérée. Les importantes différences de toxicité des insecticides chez les abeilles suivant le mode d'ingestion unique ou répétée sont encore plus marquées avec les pyréthriinoïdes. En effet, les valeurs de la DL50 sont diminuées d'un facteur 150 pour l'alphaméthrine et jusqu'à un facteur 1500 pour la cyperméthrine entre la toxicité aiguë et subchronique

#### 3.1.4.2. - Toxicité subchronique

Les abeilles peuvent s'intoxiquer de façon répétée au cours de leur vie de butineuse, en ingérant du nectar et du pollen contaminés par de très faibles doses d'insecticides ou de métabolites dans le cas des insecticides systémiques comme le thiaméthoxame. L'étude de la toxicité subchronique montrent que le thiaméthoxame est toxique pour les deux races d'abeilles lorsqu'il est administré en réitérée en de faibles doses pendant 10 jours. Pour

la dose élevée, il ressort que 50 % de mortalité en moyenne sont obtenus après 7 jours d'exposition au toxique pour *A. m. intermissa* et après 8 jours pour *A. m. sahariensis*. Par contre ALIOUANE *et al.* (2009) signalent que l'exposition chronique des abeilles par voie orale pendant 10 à 11 jours à des doses de 0,1 et 1 µg/abeille d'acétamipride et de 0,1 et 1 ng/abeille de thiaméthoxame n'a pas induit de mortalité significative chez les ouvrières. Ces mêmes auteurs rapportent des pourcentages de mortalités causées par le thiaméthoxame de 10 % pour la dose de 0,1 ng/abeille et de 20 % pour la dose de 1 ng/abeille. Pour l'acétamipride, les taux de mortalité ne dépassent pas 31%. SUCHAIL *et al.* (2001) notent que 50 % de la mortalité sont obtenus après 8 jours d'exposition aux composés toxiques sachant que chaque abeille ingère environ 12 µl de solution contaminée par jour, à des concentrations de 0,1, de 1 et de 10 µg de composé toxique par litre. La dose totale cumulée ingérée par les abeilles dans l'intoxication chronique est de 60 à 6.000 fois inférieure (imidaclopride) aux doses nécessaires pour produire le même effet dans les tests d'intoxication aiguë. Toujours dans l'utilisation de l'imidaclopride DECOURTYE *et al.* (2001, 2003) font état de pertes très élevées en ouvrières après la consommation du pollen contaminé. DECOURTYE *et al.* (2005) constatent de très faibles mortalités lorsque les abeilles sont nourries pendant 11 jours avec des solutions de saccharose additionnées aux doses sublétales de 6 pesticides, soit la deltaméthrine, le prochloraz, l'endosulfan, le α-cyhalothrin, la cyperméthrine, le s-fluvalinate ou triazamate. Au contraire, le fipronil et le diméthoate présentent des taux de mortalité qui varient entre 40,6 et 91 % pour le fipronil et entre 9,3 et 28 % pour le diméthoate. Les résultats obtenus que ce soit dans le présent travail ou dans les études réalisées au laboratoire par les auteurs précédemment cités sont en désaccord avec ceux obtenus sur le terrain par les chercheurs suivants. Effectivement, SCHMUCK *et al.* (2001) ne signalent aucune mortalité accrue chez les ouvrières lorsque les ruches sont exposées pendant 39 jours au nectar de tournesol contaminé par une gamme de doses d'imidaclopride allant de 2 à 20 µg/kg. De même, FAUCON *et al.* (2005) et CRESSWELL (2011) concluent que l'exposition par voie orale à des aliments contaminés par de l'imidaclopride à des concentrations réelles de terrain n'ont entraîné aucune mortalité chez les ouvrières. Cette divergence entre les résultats des études au laboratoire et sur le terrain peut trouver une explication possible dans les différences de méthodologies expérimentales. En effet, l'effet toxique sur un individu peut dépendre de son état physiologique initial (DECOURTYE et DEVILLERS 2010). Les abeilles peuvent aussi intoxiquer toute la colonie en apportant dans la ruche du pollen et du nectar contaminé (BOS et MASSON, 1983; VILLA *et al.*, 2000). Il est à souligner le risque de transfert de produits chimiques dans la ruche est encore plus grand avec des insecticides systémiques (WALLER *et al.*, 1984). De plus, en comparaison avec la plupart des insecticides de l'ancienne génération, la toxicité de ces nouvelles molécules et de leurs métabolites est très élevée, même si celles-ci sont détectées dans les pollens et les nectars en de faibles concentrations (SCHMUCK *et al.*, 2001; BONMATIN *et al.*, 2003). Leur danger sur les abeilles pourrait ne pas être négligeable (RORTAIS *et al.*, 2005). EL HASSANI *et al.* (2008) et ALIOUANE *et al.* (2009) notent qu'une exposition subchronique au thiaméthoxam, contrairement à une exposition aiguë, conduit à une diminution de la mémoire olfactive et une perte de la valeur de la performance d'apprentissage. La cyperméthrine (pyréthrianoïde) et le fénitrothion (organophosphate) injectés aux abeilles à des doses sublétales induisent des réponses hypoglycémiques et hypotréalosémiques ainsi qu'une diminution des activités ATPases et acétylcholinestérases (BENDAHOU *et al.*, 1999).

## 3.2. - Diversité génétique de l'abeille domestique locale et effet des facteurs anthropiques et biologiques

Les aspects abordés dans la partie portant sur la diversité génétique concernent la distribution de l'ADN mitochondrial, la diversité nucléaire ainsi que l'introgression et la conservation des populations sahariennes.

### 3.2.1. - Distribution de l'ADN mitochondrial

---

L'analyse de l'ADN mitochondrial permet de déterminer l'origine maternelle des colonies, de réaliser une première estimation du niveau d'introgression à l'échelle de la population, ainsi que d'estimer le niveau de diversité de la population. Du fait de la transmission maternelle de l'ADN mitochondrial, tous les individus issus de la reine, ouvrières, mâles, et reines de la génération suivante, possèdent le même type mitochondrial (haplotype) (GARNERY, 2004). L'étude de l'organisation structurale de la région intergénique des populations algériennes montrent que les abeilles domestique naturellement distribuées en Algérie appartiennent à lignée africaine A. Quatre haplotypes soit A1, A2, A8 et A9 sont mis évidence. Cette constatation confirme celles issus des travaux précédents (GARNERY et al., 1993; GARNERY et al., 1995; FRANCK et al., 2001). Aucun signe d'abeilles introduites appartenant à d'autres lignées n'est détecté. Ainsi, les résultats obtenus sont en accord avec ceux de BAROUR et al. (2006) qui ont travaillé sur des populations du Nord-Est et le Sud algérien. Ces mêmes auteurs ont signalé la présence de trois haplotypes A1, A8 et A9. Dans le Nord-Est algérien, ACHOU (2007) fait état en plus des trois haplotypes A1, A8 et A9, de la présence des haplotypes de la lignée M (haplotype M4) et C (haplotype C7). Par contre, AYAD-LOUCIF (2009) a mis en évidence 7 haplotypes africains (A1, A2, A8, A9, A9', A10 et A13) et un haplotype de la lignée M (M4). L'effet des conditions locales sur le sort de colonies importées est noté par GARNERY et al. (1993, 1995) qui soulignent l'absence du haplotype M en Algérie en dépit des importations répétées depuis la France au cours des dernières décennies. Des introductions d'abeilles d'autre lignées évolutives sont connues dans les autres pays d'Afrique du Nord comme la Tunisie (LEBDIGRISSA et al. 1991), le Maroc (FRANCK et al., 2001), et la Libye (SHAIBI et al. 2009). Il en est de même au Soudan (EL-NIWEIRI et MORITZ, 2008). A la suite d'introductions répétées des abeilles mellifères européennes comme *A. m. carnica*, *A. m. ligustica* et *A. m. mellifera* dans ces pays, leur présence est détectée par l'analyse mitochondriale (MORITZ et al., 2005). La présence des haplotypes étrangers caractérisés par la composition particulière de la région intergénique RNAtleu-cox2 est mise en évidence. Les fréquences des haplotypes obtenues de la région tellienne sont A8 (0,50), A1 (0,24), A9 (0,21) et A2 (0,05). Celles enregistrées dans la région saharienne sont A9 (0,70), A1 (0,16), A8 (0,12) et A2 (0,02). BAROUR (2003) dans le Nord-Est de l'Algérie rapporte que les colonies d'abeilles analysées présentent le haplotype A1 avec un pourcentage de 52 % suivi par le haplotype A8 avec un taux de 43 % et enfin le haplotype A9 avec 5 %. Dans la même région, ACHOU (2007) note un pourcentage de 41,5 % pour le haplotype A1, 36,0 % pour le haplotype A9 et 19,5 % pour le haplotype A8. Par contre, AYAD-LOUCIF (2009) signale un taux de 38,17% pour le haplotype A8, 33,8 % pour le haplotype A9, 19,9 % pour A1 et 2,5 % pour A2. Les haplotypes A8 et A9 sont signalés dans les populations du Maroc (GARNERY et al., 1993 ; GARNERY et al., 1995 et DE LA RÚA et al., 2007 ). DE LA RÚA et al., (2007) rapportent que le haplotype A8 est retrouvé seulement dans les colonies d'*A. m. intermissa* alors que les haplotypes



A1 et A9 sont observés pour les deux races, la tellienne et la saharienne. MOHSSINE (1998) signale aussi les quatre haplotypes (A1, A2, A8 et A9) au Maroc. SHAIBI et al. (2009) détectent dans le Nord-Ouest de la Lybie près de la frontière tunisienne une colonie à haplotype A1 et quatre colonies à haplotype A8. Le reste des colonies appartiennent à la lignée O. Les quatre haplotypes A1, A2, A8 et A9 sont signalés par DE LA RÚA et al., (2004) en Andalousie occidentale. De même, HERNANDEZ-GARCIA (2010) les a détectés dans la région de Murcie. Le haplotype A1 est très fréquent dans les population du Sud du Maroc (GARNERY et al., 1995; FRANCK et al., 1998; MOHSSINE, 1998). Cet haplotype est retrouvé dans plusieurs populations insulaires dans les Îles Canaries (DE LA RÚA et al., 1998; 2001a), dans les Îles Baléares en Espagne (DE LA RÚA et al., 2001b) et avec une fréquence globale de 100 % dans celles de l'Océan Indien (*A. m. unicolor*) (FRANCK et al., 2001). Ce même haplotype est signalé dans les populations de la région de Murcie en Espagne (DE LA RÚA et al., 1999) et en Sicile (FRANCK et al., 2000a) et de Madère et des Açores (DE LA RÚA et al., 2006). Le haplotype A1 est détecté dans les abeilles africanisées dans la péninsule de Yucatan (CLARK et al., 2001), dans le Brésil et l'Uruguay (COLLET et al., 2006). L'origine de cet haplotype dans ces pays est attribuée à l'introduction d'essaims de *A. m. scutellata* au Brésil en 1956 (SMITH et BROWN, 1988). Le haplotype A2 est le plus commun dans plusieurs Îles méditerranéennes (GARNERY et al., 1993; FRANCK et al., 2000b), dans les Îles Baléares (DE LA RÚA et al., 2001b) et dans la Péninsule ibérique (DE LA RÚA et al., 2004; MIGUEL et al., 2007). Il est très intéressant de noter que le haplotype A2 est rare en Afrique du Nord (GARNERY et al., 1995; BAROUR et al., 2006; DE LA RÚA et al., 2007). Cependant, il est présent près de Sidi Bel Abbes et de Béchar avec des fréquences respectivement égales à 0,67 et à 0,06. Près de Béchar, ce haplotype est signalé à Sfisifa dans une seule colonie. Nous notons que l'apiculteur de Sfisifa fait beaucoup de transhumance entre les zones de Béchar et de Sidi Bel Abbes. LOUCIF-AYAD et al. (2008) signalent ce haplotype près d'Ain Sefra avec un pourcentage centésimal de 2,5 %. La présence de haplotype A2 en Algérie peut être interprétée d'après CANOVAS et al. (2007) par les importations au cours de la colonisation arabe depuis la péninsule ibérique entre les VIIIème et XVème siècles. En fait, c'est le mouvement humain avec l'expulsion massive de la population musulmane de l'Espagne vers l'Afrique du Nord aux XVIème et XVIIème siècles qui pourrait expliquer la présence du haplotype A2 en terre africaine. En effet, au cours de cette période, environ 300.000 personnes ont été forcées d'abandonner différentes régions d'Espagne pour s'installer en Afrique du Nord (LEA, 1968 cité par CANOVAS et al., 2007). A cette occasion, il est vraisemblable que quelques ruches aient traversé le Déroit de Gibraltar dans le sens nord-sud. La diversité haplotypique dans la lignée africaine est relativement importante (FRANCK et al., 1998; 2000b). Ceci est en accord avec les résultats obtenus pour les régions telliennes (0,645) et sahariennes (0,470). Nos résultats sont similaires à ceux obtenus par ACHOU (2007) qui note une diversité génétique comprise entre 0,627 et 0,675 pour les populations du Nord-Est algérien. De même, AYAD-LOUCIF (2009) signale une diversité haplotypique égale à 0,675 pour les populations du Nord et à 0,494 pour celles du Sud. Selon le test de Fisher et l'analyse correspondante, les haplotypes A1 et A8 sont significativement associés avec les colonies de l'abeille tellienne ( $P < 0,00001$ ), et le haplotype A9 avec les colonies de l'abeille saharienne ( $P < 0,0001$ ). Les analyses de la structure des populations montrent deux groupes bien définis. Compte tenu de la répartition géographique, ces deux groupes correspondent aux deux sous-espèces naturellement distribuées en Afrique du Nord, soit les populations telliennes de *A. m. intermissa* et celles situées au sud de l'Atlas qui se rapportent à *A. m. sahariensis*. Ce résultat doit être confirmé du fait, que l'identification des sous-espèces est basée principalement sur l'analyse morphométrique suite aux travaux de RUTTNER (1988).

Il est possible qu'il y ait prédominance du haplotype A8 dans la sous espèce *A. m. intermissa* et le haplotype A9 dans la sous espèce *A. m. sahariensis*. La valeur du test exact de Fisher (FST) par paire est significative entre les deux régions. Les prédominances des haplotypes reflètent une différenciation naturelle due au flux réduit de gènes entre les deux sous-espèces. Ainsi, la chaîne montagneuse de l'Atlas agit comme une barrière à la dispersion des colonies. Par conséquent, cet isolement par la distance n'a pas encore disparu malgré les mouvements accrus des colonies comme notamment les transhumances et les achats de reines au cours des dernières décennies.

Au niveau de la population, les valeurs du test exact de Fisher (FST) par paire révèlent une faible différenciation dans les populations d'*A. m. intermissa*. Les localités du Littoral oriental et des Hauts Plateaux ne montrent aucune différence significative compte tenu de la faiblesse de la distance géographique qui les sépare. Cette observation peut s'expliquer par l'essaimage saisonnier de cette sous-espèce dans son aire de répartition (RUTTNER, 1988). Il est également à noter que les populations d'*A. m. sahariensis* n'ont pas été significativement différenciées entre elles vu les faibles valeurs de FST, ce qui suggère que la distance géographique n'est pas un obstacle à la dispersion des gènes entre les colonies au sud de l'Atlas. Seule la population du désert présente des valeurs de FST supérieures à 0,01 comparée aux colonies de la steppe et de la steppe subsaharienne, ce qui peut indiquer un faible niveau de différenciation, même si ce résultat n'est pas soutenu par une analyse statistique significative.

### **3.2.2. - Diversité nucléaire**

---

La variation génétique chez les abeilles algériennes mise en évidence grâce à des marqueurs microsatellites est élevée. Ce fait est constaté ailleurs pour les populations d'abeilles du Moyen-Orient et pour les sous-espèces africaines (ESTOUP et al., 1995; FRANCK et al., 2001). L'hétérozygotie moyenne attendue ( $H_e$ ) obtenue varie entre 0,70 et 0,75.

Le nombre moyen d'allèles obtenu, fluctue entre 6 et 8 au niveau des populations. Il est encore plus élevé dans les régions sahariennes et telliennes (10). Ces valeurs sont comparables à celles observées dans les travaux de recherches d'ACHOU (2007) et de LOUCIF-AYAD et al. (2010a). Les mêmes constatations sont obtenues dans les populations marocaines, avec une hétérozygotie estimée à 0,78 pour *A. m. intermissa* et 0,79 pour *A. m. sahariensis* (FRANCK et al., 2001). De même, DE LA RÚA et al. (2007) rapportent des valeurs de la diversité génétique égale à  $0,79 \pm 0,03$  chez *A. m. intermissa* et  $0,82 \pm 0,02$  chez *A. m. sahariensis*. En Libye, SHABI et MORITZ (2010) notent des valeurs plus élevées dans les populations des régions côtières ( $0,72 \pm 0,11$ ) que chez celles des oasis ( $0,63 \pm 0,11$ ), ce qui peut indiquer des événements d'isolement à long terme dans les dernières populations citées. Cette grande variabilité génétique des populations d'abeilles africaines est expliquée comme une conséquence de la grande taille de l'effectif de la population à travers le temps, résultant du comportement migratoire prononcé et une tendance à l'essaimage de ces sous-espèces ainsi que leur fréquence plus élevée d'accouplement (FRANCK et al., 1998, 2001). Les populations d'*A. m. intermissa* montrent dans cette étude une grande diversité génétique comparable à celles citées par les auteurs précédents. Cette diversité pourrait aussi refléter les mouvements migratoires intenses. Au sein des populations d'*A. m. sahariensis*, elle peut également être due à l'introduction de reines d'abeilles provenant d'autres origines.

### 3.2.3. - Introgression et conservation des populations

La connaissance de la variabilité génétique à l'échelle des individus est particulièrement adaptée à la mise en évidence des événements d'introgression soit naturels comme les essaimages des populations soit liés aux pratiques humaines comme l'importation des reines et les transhumances des colonies (ACHOU, 2007). Ce même auteur montre que les introgressions notées à l'échelle mitochondriale sont anciennes et correspondent probablement à des F2 puisque 100 % des individus des populations algériennes étudiées sont bien classés dans leur lignée évolutive en utilisant les méthodes d'assignations. De même AYAD-LOUCIF (2009) estime au niveau nucléaire des pourcentages d'introgression de l'ordre de 0 % par rapport à celui trouvé avec l'ADN mitochondrial. Malheureusement aucune étude n'a été faite sur l'introgression de l'abeille saharienne. Malgré tout, la population du désert a montré un faible niveau de différenciation par rapport aux deux autres populations sahariennes, comme le montrent la valeur de  $F_{ST}$  et les analyses de la structure, où aucune introduction n'a eu lieu. La translocation de la colonie se reflète également dans les valeurs de la diversité génétique, alors que la population du Sahara correspond à la plus grande valeur ( $H_e = 0,752 \pm 0,029$ ), probablement en raison de l'introduction de nouveaux génotypes. Ces introductions sont également susceptibles d'être responsables du déséquilibre de Hardy-Weinberg observé dans le tableau 9. Ce déséquilibre est également remarqué dans les populations des zones où les introductions d'abeilles ou les mouvements migratoires sont fréquents (DE LA RÚA *et al.*, 2001, 2002, 2003; CÁNOVAS *et al.*, 2011; MUÑOZ *et al.*, 2012.). En conséquence, toutes les populations algériennes situées dans la région subsaharienne qui ressemblent à *A. m. sahariensis* sont adéquates pour la gestion des projets de conservation. Nous encourageons activement l'utilisation d'outils moléculaires pour garantir l'identification correcte des colonies à conserver.

### 3.3.- Biométrie de l'abeille

L'étude des caractères morphométriques effectués sur les abeilles domestiques a permis de définir les normes moyennes pour 38 d'entre eux mesurés. Pour ce qui est de la longueur de la langue obtenue pour *A. m. sahariensis*, la valeur moyenne est de  $6,18 \pm 0,076$  mm. Celle notée par RUTTNER (1975) est de 6,242 mm et celle trouvée par CORNUET *et al.* (1975) est petite, atteignant à peine 5,91 mm. La valeur moyenne mesurée sur *A. m. sahariensis* (N = 90) d'origine marocaine est encore plus petite, elle est de  $5,89 \pm 0,062$  mm. CORNUET *et al.*, (1988) ont enregistré dans le Sud – Est de l'Atlas du Maroc une valeur moyenne de  $6,228 \pm 0,115$  mm. Quant à la valeur moyenne obtenue pour *A. m. intermissa* elle est de  $6,17 \pm 0,087$  mm. Celle mesurée sur *A. m. intermissa* d'origine marocaine est égale à  $6,37 \pm 0,076$  mm. RUTTNER (1976) et CORNUET *et al.* (1975) enregistrent une valeur moyenne de 6,38 mm, alors que CORNUET *et al.* (1988) notent dans le Nord – Ouest de l'Atlas du Maroc une mesure moyenne de  $6,652 \pm 0,119$  mm. En Tunisie, GRISSA *et al.* (1990) font état d'une mensuration égale à  $6,40 \pm 0,117$  mm. Dans la région du centre algérien, la valeur moyenne la plus faible notée par BELAID (2011) atteint  $5,7 \pm 0,47$  mm alors que celle trouvée par BERKANI *et al.* (2005) est de  $6,38 \pm 0,23$  mm. Des différences raciales sont évoquées par plusieurs auteurs. PARAÍSO *et al.* (2011), rapportent des valeurs très basses de la longueur de la trompe des abeilles africaines de la race *A. m. adonsonii* qui varient entre  $2,67 \pm 0,07$  mm et  $3,07 \pm 0,09$  mm. Dans le Sud du Tchad, GADBIN *et al.* (1979) notent sur la même

race une valeur de 5,45 mm. Concernant les races européennes CORNUET *et al.* (1975) et TOULLEC (2008) obtiennent des valeurs qui varient entre 6,00 et 6,50 mm pour *A. m. mellifera* lesquelles demeurent inférieures à celles notées chez *A. m. ligustica* (6,50 mm), chez *A. m. carnica* (6,60 mm) et chez *A. m. caucasia* (7,00 mm).

La valeur moyenne du flagelle antennaire obtenue pour *A. m. sahariensis* est de  $2,97 \pm 0,010$  mm et celle mesurée sur *A. m. sahariensis* d'origine marocaine est de  $2,87 \pm 0,027$  mm. Pour ce qui des valeurs moyennes obtenues chez *A. m. intermissa*, elles sont de  $2,97 \pm 0,038$  mm pour les échantillons d'Algérie et de  $2,97 \pm 0,043$  mm pour ceux du Maroc. BEROUR (2003) et BELAID (2011) obtiennent pour *A. m. intermissa* une même valeur moyenne de 2,70 mm. Les valeurs mentionnées dans la présente étude apparaissent inférieures à celles obtenues par PARAÏSO *et al.* (2011) sur la race africaine *A. m. adonsonii*. Les derniers auteurs cités mentionnent des mesures qui fluctuent entre  $3,99 \pm 0,005$  mm et  $4,11 \pm 0,203$  mm.

La valeur moyenne de la longueur de l'aile antérieure droite mesurée sur *A. m. sahariensis* est de  $9,04 \pm 0,081$  mm. Celle notée pour la largeur atteint  $3,03 \pm 0,032$  mm. Ces valeurs sont plus élevées que celles trouvées sur *A. m. sahariensis* d'origine marocaine soit  $8,76 \pm 0,030$  mm pour la longueur et  $2,99 \pm 0,009$  mm pour la largeur. RUTTNER (1976) signale comme valeur moyenne de la longueur 8,948 mm et une valeur moyenne de la largeur comparable à celle notée dans la présente étude (3,033 mm). Les valeurs moyennes notées sur *A. m. sahariensis* et rapportées par SHAIPI *et al.* (2009) sont de  $8,96 \pm 0,08$  mm pour la largeur et de  $3,03 \pm 0,05$  mm pour la longueur. Pour ce qui est des valeurs moyennes enregistrées chez *A. m. intermissa*, elles sont de  $8,99 \pm 0,202$  mm pour la largeur et de  $3,05 \pm 0,032$  mm pour la longueur. Quant à celles mesurées sur *A. m. intermissa* d'origine marocaine, elles sont plus élevées soit  $9,28 \pm 0,081$  mm pour la longueur et de  $3,15 \pm 0,042$  mm pour la largeur. Les valeurs rapportées dans le présent travail se rapprochent de celles publiées par SHAIPI *et al.* (2009), soit de  $9,00 \pm 0,17$  mm pour la longueur et  $3,02 \pm 0,08$  mm pour la largeur. Les valeurs moyennes retrouvées par BELAID (2011) sont les plus faibles soit  $8,7 \pm 0,27$  mm pour la longueur et  $3 \pm 0,22$  mm. De même, BAROUR *et al.* (2005) mentionnent une valeur du même ordre de grandeur soit  $8,95 \pm 0,31$  mm pour la longueur et une largeur moyenne plus élevée égale à  $3,19 \pm 0,09$  mm. Ces valeurs sont mesurées sur l'abeille tellienne de l'Est algérien. Dans la même région, ACHOU (2007) fait état d'une mensuration moyenne encore plus faible soit 8,58 mm pour la longueur. Il est à remarquer que la largeur obtenue par ACHOU (2007) soit 3,05 mm est confirmée par la nôtre.

Pour les abeilles de la Lybie, SHAIPI *et al.* (2009) enregistrent des valeurs de  $8,93 \pm 0,15$  mm pour la longueur et de  $3,00 \pm 0,05$  mm pour la largeur. Des différences entre les races africaines sont évoquées par plusieurs auteurs. Les mensurations de l'aile antérieure des abeilles de sud africain (*A. m. scutellata*) sont très petites soit  $8,44 \pm 0,15$  mm pour la longueur et  $2,91 \pm 0,06$  mm pour la largeur (BUCO *et al.*, 1987). Au Bénin, PARAÏSO *et al.* (2011) enregistrent des valeurs qui varient entre  $8,52 \pm 0,038$  mm et  $8,70 \pm 0,066$  mm pour la longueur et entre  $3,00 \pm 0,008$  mm et  $3,15 \pm 0,196$  mm pour la largeur. La longueur moyenne de la nervure A mesurée sur *A. m. sahariensis* est de  $0,55 \pm 0,009$  mm et celle de la nervure B de  $0,24 \pm 0,007$  mm. Celles retrouvées sur *A. m. sahariensis* d'origine marocaine sont de  $0,54 \pm 0,004$  mm pour la nervure A et de  $0,21 \pm 0,017$  mm pour la nervure B. La valeur moyenne de la nervure A obtenue sur *A. m. sahariensis* dans la présente étude confirme celle notée par CORNUET *et al.* (1975) qui enregistrent une valeur moyenne égale à 0,536 mm. Celle concernant la nervure B (0,271 mm) apparaît plus élevée. CORNUET *et al.* (1988) notent dans le Sud-Est de l'Atlas du Maroc, des valeurs moyennes de  $0,518 \pm 0,043$  mm mesurées pour la nervure A et de  $0,222 \pm 0,023$  mm pour la nervure B. Pour la race *A.*

*m. intermissa*, des valeurs moyennes sont obtenues pour les nervures de l'aile antérieure droite soit  $0,54 \pm 0,023$  mm pour la nervure A et  $0,24 \pm 0,017$  mm pour la nervure B. Quant à l'abeille tellienne d'origine marocaine, les valeurs moyennes obtenues sont de  $0,57 \pm 0,023$  mm pour la nervure A et de  $0,22 \pm 0,008$  mm pour la nervure B. Celles obtenues dans la présente étude sont comparables à celles mentionnées par CORNUET *et al.* (1975). Ces auteurs notent chez *A. m. intermissa* des valeurs moyennes des nervures A et B égales respectivement à 0,544mm et à 0,236 mm. De même, CORNUET *et al.* (1988) notent dans le Nord –Ouest de l'Atlas du Maroc, des valeurs moyennes de  $0,544 \pm 0,045$  mm pour la nervure A et de  $0,216 \pm 0,024$  mm pour la nervure B. Dans l'Est algérien, BAROUR (2003) donne une longueur moyenne à peine plus élevée que la nôtre (0,54 mm) atteignant 0,56 mm pour la nervure A et une valeur moyenne identique de 0,24 mm pour la nervure B. Par contre, ACHOU (2007) note des valeurs plus faibles soit 0,50 mm pour la nervure A et 0,21 mm pour la nervure B. Les présents résultats sur la tellienne les valeurs moyennes apparaissent plus basses que celles de GRISSA *et al.*, (1990). Ces auteurs signalent en effet pour l'abeille tellienne tunisienne des valeurs moyennes élevées égales à 0,563 mm pour la nervure A et à 0,249 mm pour la nervure B. La valeur moyenne de l'index cubital obtenue pour *A. m. sahariensis* est de  $2,32 \pm 0,077$ . Celle notée chez *A. m. sahariensis* d'origine marocaine est plus élevée, atteignant  $2,63 \pm 0,211$ . RUTTNER (1975) note une valeur moyenne de 2,62 comparable à celle retrouvée chez l'abeille saharienne marocaine. Par contre, CORNUET *et al.* (1975) rapportent une valeur moyenne très basse de l'ordre de 2,01 sur *A. m. sahariensis*. Les valeurs moyennes enregistrées pour la race *A. m. intermissa* sont de  $2,24 \pm 0,222$  pour l'abeille algérienne et de  $2,67 \pm 0,008$  pour l'abeille marocaine. BAROUR (2003) note une valeur moyenne de 2,35. SHAIPI *et al.* (2009) font état de valeurs moyennes égales à 2,52 pour *A. m. sahariensis*, à 2,20 pour *A. m. intermissa* et à 2,27 pour les abeilles libyennes. Au Bénin, PARAÏSO *et al.* (2011) signalent une valeur moyenne de  $2,28 \pm 0,03$ . Une valeur moyenne calculée sur la race *A. m. scutellata* est de l'ordre de 2,37 (BUCO *et al.* 1987). DINIZ-FILHO *et al.* (1999) rapportent que les angles alaires sont génétiquement les caractères les plus conservés par rapport à la taille et à la coloration. Il est à rappeler qu'en Algérie aucune mensuration des angles alaires n'est faite auparavant en dehors des résultats réalisés par BELAID (2011) sur un effectif d'abeille très faible (20 abeilles).

La valeur moyenne de l'angle 31 ou A4 de l'aile antérieure obtenue pour *A. m. sahariensis* est de  $30,98 \pm 0,359$  °. Celle notée pour *A. m. sahariensis* d'origine marocaine est plus élevée, soit de  $31,10 \pm 0,042$  °. SHAIPI *et al.* (2009) enregistrent des valeurs de  $32,71 \pm 1,55$  ° sur *A. m. sahariensis* et de  $32,74 \pm 1,21$  ° sur les abeilles de la Lybie. Pour ce qui est des valeurs moyennes enregistrées chez *A. m. intermissa*, elles sont de  $30,80 \pm 1,439$  ° pour les échantillons d'Algérie et de  $30,84 \pm 0,057$  ° pour ceux du Maroc. Les valeurs rapportées dans le présent travail sont faibles de celles publiées par SHAIPI *et al.* (2009), soit de  $31,99 \pm 0,84$  ° mesurée sur *A. m. intermissa*. La valeur moyenne retrouvée par BELAID (2011) est identique à celle notée par SHAIPI *et al.* (2009). La valeur moyenne de l'angle 32 ou B4 obtenue pour *A. m. sahariensis* est de  $103,83 \pm 1,265$  °. Celle notée chez *A. m. sahariensis* d'origine marocaine est plus élevée, atteignant  $104,65 \pm 1,151$  °. Nos valeurs sont à peine élevées que celles rapportées par SHAIPI *et al.* (2009), et RUTTNER (1975). Les valeurs moyennes enregistrées pour la race *A. m. intermissa* sont de  $105,05 \pm 2,272$  ° pour l'abeille algérienne et de  $106,25 \pm 0,520$  ° pour l'abeille du Maroc. BELAID (2011) note une valeur moyenne de  $104,8 \pm 4,21$  °. Les valeurs moyennes notées par SHAIPI *et al.* (2009) sont faibles. Par contre, les valeurs données par RUTTNER (1975) se rapprochent des nôtres. Quant à la valeur moyenne de l'angle 33 ou D7 obtenue chez *A. m. sahariensis* est de  $99,79 \pm 0,783$  ° et celle notée sur l'abeille saharienne d'origine marocaine est de

101,26 ± 1,549°. SHAIBI et al. (2009) notent des valeurs moyennes de 100, 51 ± 1,77° pour *A. m. sahariensis* et de 96,09 ± 2,90° pour les abeilles de la Lybie. Les valeurs moyennes enregistrées pour la race *A. m. intermissa* de l'Algérie et du Maroc sont identiques à celles obtenues par SHAIBI et al. (2009) sur *A. m. intermissa* soit de 100,35 ± 2,95°. BELAID (2011) note une valeur moyenne très faible soit de 95,6 ± 3,23°. Les valeurs enregistrées pour l'angle 34 ou E9 sont de 19,91 ± 0,519° chez *A. m. sahariensis* pour les abeilles algériennes et de 20,00 ± 0,911 pour les abeilles marocaines. Celles enregistrées chez *A. m. intermissa* sont de 19,84 ± 0,573° pour les abeilles algériennes et de 19,56 ± 0,097° pour les abeilles marocaines. Les valeurs moyennes obtenues dans la présente étude sur les deux races d'abeilles confirment celles obtenues par SHAIBI et al. (2009). Par contre, BELAID (2011) rapporte une valeur moyenne très élevée soit de 22 ± 2,02°. La valeur moyenne de l'angle 35 ou G18 obtenue pour *A. m. sahariensis* est de 93,50 ± 3,683° et celle mesurée sur *A. m. sahariensis* d'origine marocaine est de 91,96 ± 0,324°. Pour ce qui est des valeurs moyennes obtenues chez *A. m. intermissa* elles sont de 92,59 ± 1,460° pour les échantillons d'Algérie et de 95,91 ± 4,703° pour ceux du Maroc. Ces valeurs sont faibles par rapport à celles trouvées sur les deux races d'abeilles par SHAIBI et al. (2009). Par contre, sur les abeilles de la Lybie ces mêmes auteurs notent une valeur moyenne faible soit de 92,47 ± 1,78°. BELAID (2011), note une valeur encore plus faible sur *A. m. intermissa* soit de 90,1 ± 1,52°. Les valeurs moyennes de l'angle 36 ou J10 enregistrées pour *A. m. sahariensis* sont de 48,14 ± 1,437° pour les abeilles d'origine algérienne et de 49,75 ± 0,081° pour les échantillons du Maroc. Celles notées sur *A. m. intermissa* sont de 47,53 ± 1,740° pour les échantillons d'Algérie et de 49,46 ± 0,417° pour ceux du Maroc. RUTTNER (1975), rapporte des valeurs moyennes de 50,07° sur *A. m. sahariensis* et de 49,10° sur *A. m. intermissa*. SHAIBI et al. (2009), signalent des valeurs de 50,30 ± 1,30° sur *A. m. sahariensis* et de 47,79 ± 1,71° sur *A. m. intermissa*. BELAID (2011), enregistre une valeur supérieure sur *A. m. intermissa* soit 52,1 ± 2,5°. Pour l'angle 37 ou J16, les valeurs moyennes notées sur les deux races d'abeilles sont inférieures à celles données par SHAIBI et al. (2009). De même pour l'angle 38 ou K19, les valeurs moyennes enregistrées dans la présente étude apparaissent inférieures à celles données par SHAIBI et al. (2009), sauf pour les échantillons de la race *A. m. intermissa* du Maroc. Quant à l'angle 39 ou L13, les valeurs moyennes obtenues sur les deux races d'abeilles sont supérieures à celles données par SHAIBI et al. (2009). Les valeurs moyennes enregistrées pour l'angle 40 ou N23 sur les races d'abeilles sont très basses à celles mesurées par SHAIBI et al. (2009). Pour l'angle 41 ou O26, les valeurs moyennes notées sur *A. m. sahariensis* sont de 39,15 ± 15° pour les échantillons d'Algérie et de 36,21 ± 0,738° pour ceux du Maroc. SHAIBI et al. (2009), note une valeur moyenne de 36,68 ± 1,88° sur *A. m. sahariensis*. Les valeurs moyennes obtenues pour la race *A. m. intermissa* sont inférieures à celles données par SHAIBI et al. (2009). La valeur moyenne de la longueur de l'aile postérieure droite mesurée sur *A. m. sahariensis* est de 6,50 ± 0,144 mm. Celle notée pour la largeur atteint 1,78 ± 0,022 mm. Ces valeurs sont plus élevées que celles trouvées sur *A. m. sahariensis* d'origine marocaine soit 6,31 ± 0,029 mm pour la longueur et 1,75 ± 0,016 mm pour la largeur. Pour ce qui est des valeurs moyennes enregistrées chez *A. m. intermissa*, elles sont de 6,61 ± 0,041 mm pour la largeur et de 1,79 ± 0,032 mm pour la longueur. Quant à celles mesurées sur *A. m. intermissa* d'origine marocaine, elles sont plus élevées soit 6,65 ± 0,139 mm pour la longueur et de 1,82 ± 0,014 mm pour la largeur. Les valeurs moyennes retrouvées par BELAID (2011) sont les plus faibles soit 5,6 ± 0,41 mm pour la longueur et 1,6 ± 0,07 mm. De même, BAROUR et al. (2005) mentionnent une valeur du même ordre de grandeur soit 5,95 ± 0,11 mm pour la longueur et une largeur moyenne plus élevée égale à 1,67 ± 0,06 mm. Ces valeurs sont mesurées sur l'abeille tellienne de l'Est algérien. Dans la même région, ACHOU (2007) fait état d'une mensuration moyenne faible soit 6,03 ± 0,93 mm pour la longueur et de 1,72 ± 0,01 mm pour

la largeur. Pour ce qui des valeurs moyennes de la longueur complète de la patte, elles sont de  $7,53 \pm 0,099$  mm pour les échantillons des deux races d'abeilles d'Algérie et de  $7,34 \pm 0,065$  mm pour ceux du Maroc. Nos valeurs concordent avec celles mentionnées par RUTTNER (1975) et SHAIBI et al. (2009). Quant à celle mesurée sur *A. m. intermissa* d'origine marocaine, elle est plus élevée soit  $7,89 \pm 0,129$  mm. BEROUR et al. (2005), note une valeur moyenne de  $7,61 \pm 0,25$  mm dans l'est algérien. RUTTNER (1975) et SHAIBI et al. (2009), enregistrent des valeurs moyennes supérieures. Il est à rappeler que la somme des longueurs des tergites 3 et 4, représente un bon indicateur de la taille corporelle de l'abeille. La valeur moyenne de la somme des longueurs des tergites 3 et 4 mesurée sur *A. m. sahariensis* est de  $4,42 \pm 0,050$  mm. Cette valeur est plus faible que celle trouvée sur *A. m. sahariensis* d'origine marocaine soit  $4,81 \pm 0,815$  mm. RUTTNER (1976) signale comme valeur moyenne de 4,100 mm. La valeur moyenne notée sur *A. m. sahariensis* et rapportée par SHAIBI et al. (2009) est de  $4,29 \pm 0,15$  mm. Pour ce qui est de la valeur moyenne enregistrée chez *A. m. intermissa*, elle est de  $4,50 \pm 0,076$  mm. Quant à celle mesurées sur *A. m. intermissa* d'origine marocaine, elle est plus faible soit  $4,43 \pm 0,012$  mm. SHAIBI et al. (2009), rapporte une valeur de  $4,41 \pm 0,12$  mm. La valeur moyenne retrouvée par BELAID (2011) est de  $4,4 \pm 0,16$  mm. La valeur moyenne de l'indice de minceur ou le rapport de la longueur à la largeur du sixième sternite abdominal mesurée sur *A. m. sahariensis* est de  $0,80 \pm 0,050$  mm. RUTTNER (1976) signale comme valeur moyenne de 0,82 mm. La valeur moyenne notée sur *A. m. sahariensis* et rapportée par SHAIBI et al. (2009) est de  $0,84 \pm 0,02$  mm. La valeur moyenne enregistrée chez *A. m. intermissa*, dans la présente étude confirme celle notée par RUTTNER (1976), SHAIBI et al. (2009) et BELAID (2011). Quant à la valeur moyenne de l'indice métatarsal, elle est identique pour les deux races d'abeilles.

L'analyse en composantes principales (ACP) des valeurs des mensurations des caractères morphométriques a permis de séparer les populations étudiés en 03 groupes distincts. Un premier groupe comprend les colonies d'abeilles ibériques. Dans le deuxième groupe il y a encore deux sous-groupes, l'un constitué par l'ensemble des échantillons des abeilles de la sous espèce *A. m. intermissa*, quelle que soit son origine algérienne ou marocaine, ainsi que *A. m. sahariensis* d'origine algérienne, sauf pour les abeilles de la localité de Skhouna (Ain Sefra), l'autre formé par *A. m. sahariensis* du Maroc. Le premier axe représente la divergence entre les populations en raison d'obstacles géographiques: l'Espagne séparée de l'Afrique. La deuxième constatation est que le repeuplement des populations d'abeilles du sud algérien après lutte antiacridienne avec l'introduction des populations de l'abeille tellienne du nord, a conduit à un quasi intégral mélange des deux sous-espèces. En effet, la morphométrie n'est pas un moyen fiable pour séparer les deux sous espèces. La localité de Skhouna de la région d'Ain Sefra, à proximité du Maroc, est proche de *A. m. sahariensis* du Maroc. Ces dernières populations peuvent représenter des populations d'abeille saharienne plus pure.

## Conclusion générale

L'évaluation du risque d'un produit phytopharmaceutique passe initialement par des tests toxicologiques de laboratoire. C'est dans ce contexte, que la première partie du présent travail porte sur l'évaluation de la toxicité aiguë et de la toxicité subchronique du thiaméthoxame. La seconde partie s'oriente sur la diversité génétique et de la biométrie des abeilles domestiques locales.

La toxicité du thiaméthoxame, insecticide utilisé couramment en Algérie en protection des végétaux se caractérise par la rapidité d'apparition des symptômes de neurotoxicité observés à la fois chez *A. m. mellifera intermissa* et *A. m. sahariensis*, la mortalité survenant 15 minutes après l'ingestion des fortes doses.

Il existe une relation directement proportionnelle entre la dose de thiaméthoxame administrée et la mortalité observée, le maximum de mortalité étant obtenu au bout de 24 heures pour les fortes doses, phénomène beaucoup plus prononcé pour *A. m. intermissa*, que pour *A. m. sahariensis*, après l'application topique. Le thiaméthoxame est plus toxique par voie orale que par voie topique pour les deux races. Ces résultats confirment le danger lié à cet insecticide qui ne doit pas être utilisé en pleine floraison, pour limiter les risques d'intoxications des abeilles.

Il est à signaler que les valeurs de la DL50 diminuent avec l'augmentation du volume. Il y a une relation inversement proportionnelle entre les DL50 obtenues et les volumes administrés. En effet, la DL50 pour le volume de 5 µl /abeille est de 10 fois plus grande que la DL50 obtenue avec un volume de 50 µl /abeille chez *A. m. intermissa*. Pour *A. m. sahariensis*, la DL50 obtenue avec un volume de 5 µl/abeille est de 5 fois plus grande que la DL50 observée avec un volume de 50 µl /abeille. Les DL50 obtenues pour l'abeille saharienne sont en général plus fortes que les DL50 notées chez l'abeille tellienne.

La toxicité aiguë par la voie orale du thiaméthoxame met en évidence une variabilité importante de la sensibilité des abeilles domestiques étudiées durant les différentes saisons de l'année. Les tests de la toxicité menés au laboratoire mettent en relief les mortalités cumulées au bout de 24 heures pour toutes les doses administrées aux deux races d'abeilles notamment au printemps.

L'étude de la toxicité réitérée montre que le thiaméthoxame est toxique pour les deux races d'abeilles qu'il soit administré en doses uniques (toxicité aiguë) ou en doses fragmentées. Des doses fragmentées au cours de 5 jours donnent des taux de mortalités élevés. Les résultats de la toxicité subchronique montrent que le thiaméthoxame est toxique pour les deux races d'abeilles lorsqu'il est administré en réitéré en de faibles doses pendant 10 jours. Pour la dose élevée, il ressort que 50 % de mortalité en moyenne sont obtenus après 7 jours d'exposition au toxique pour *A. m. intermissa* et après 8 jours pour *A. m. sahariensis*.

Pour ce qui est de la diversité génétique de l'abeille domestique locale confrontée aux facteurs anthropiques notamment l'utilisation des pesticides et le remplacement des colonies pour récupérer les pertes, une étude en biologie moléculaire est faite.

Quatre haplotypes soit A1, A2, A8 et A9 sont mis en évidence. Le haplotype A9 est présent dans toutes les populations algériennes de l'abeille domestique. La fréquence la



plus élevée est observée dans la région saharienne dont la fréquence globale est de 0,70. Quant à la présence du haplotype A8, elle est notée dans toutes les populations de la région tellienne avec une fréquence globale de 0,50, ainsi que dans la population du Sahara ( $F = 0,32$ ). Le haplotype A2 est présent seulement dans les populations des Hauts Plateaux et du Sahara. Le haplotype A1 est présent dans toutes les populations à l'exception de celle de la steppe. Ces résultats peuvent constituer des marqueurs spécifiques pour chaque sous-espèce *Apis mellifera intermissa* (haplotype A8 au nord) et *A. m. sahariensis* (haplotype A9 au sud). La variation génétique chez les abeilles algériennes mise en évidence grâce à des marqueurs microsatellites est élevée. En outre, la présence de l'haplotype A8 dans certaines colonies subsaharienne reflète peut-être l'introduction récente d'*A. m. intermissa*. Analyse de la structure suggère qu'une différenciation naturelle entre les populations d'abeilles du Sahara et des régions telliennes existe toujours malgré les mouvements migratoires accrus (colonie, achats des reines, etc...) au cours des dernières décennies. Le rucher établi pour la conservation d'*A. m. sahariensis* dans la zone de steppe ne montre aucun signe d'introggression maternelle du fait que toutes les colonies portent l'haplotype A9. Cette population a également montré les valeurs les plus faibles de la diversité génétique au sein de la région saharienne, en accord avec son isolement par rapport aux ruchers voisins. L'équilibre de Hardy-Weinberg observée dans cette population pourrait être une indication montrant que les pratiques apicoles dans ces colonies sont appropriées pour la conservation d'*A. m. sahariensis*.

L'étude de 38 caractères morphométriques des abeilles échantillonnées en Algérie montre que a permis de définir les normes moyennes pour 38 d'entre eux mesurés. L'analyse en composantes principales (ACP) des valeurs des mensurations des caractères morphométriques a permis de séparer les populations de l'abeille saharienne étudiés en 5 groupes distincts. Ces mêmes populations sont comparées avec d'autres populations d'origine algérienne, marocaine et espagnole. L'ACP a révélé l'existence de 3 groupes distincts. Un premier groupe comprend les colonies d'abeilles ibériques. Dans le second groupe il y a encore deux sous-groupes, l'un constitué par l'ensemble des échantillons des abeilles de la sous espèce *A. m. intermissa*, quelle que soit son origine algérienne ou marocaine, ainsi que *A. m. sahariensis* d'origine algérienne, sauf pour les abeilles de la localité de Skhouna (Ain Sefra), l'autre formé par *A. m. sahariensis* du Maroc.

### Perspectives

Les procédures d'évaluation du risque des produits phytopharmaceutiques ne doivent pas être restreintes aux aspects toxicologiques létaux et sublétaux. Elles doivent être étendues aux aspects physiologiques et notamment biochimiques. Il est indispensable d'acquérir des données sur la toxicité du thiaméthoxame et de ses métabolites pour les larves et les nourrices. Il est très intéressant aussi d'associer des études de laboratoires avec des études de terrains même si ces dernières sont difficiles à mettre en place et coûteuses. Les tests toxicologiques en laboratoire présentent aussi des limites dans la mesure où les individus sont séparés du reste de la colonie. Ces petits groupes de 20 abeilles ne peuvent représenter en aucun cas, les phénomènes qui existent dans la nature. C'est pourquoi les études complémentaires de terrains sont indispensables.

L'utilisation de la morphométrie géométrique grâce à la numérisation des ailes, suivie de la mesure de 19 points repères alaires devrait être employée en parallèle avec les analyses de l'ADN mitochondrial et les microsatellites. Il est très intéressant d'interdire l'introduction de l'abeille tellienne dans le biotope de l'abeille saharienne, afin de préserver certaines populations de l'abeille saharienne bien adaptées à des conditions climatiques et à des

espèces végétales particulières. Il est important aussi de créer des conservatoires d'abeille saharienne.

---

# Références Bibliographiques

- ABBOT W.S., 1925- A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.*, 18 : 265 - 267.
- ACHOU M., 2007 - Caractérisation morphométrique, biochimique et moléculaire des populations d'abeilles domestiques de l'Est algérien - Effets physiopathologiques de son parasite majeur *Varroa destructor*. Thèse Doctorat sci. natu., Univ. Annaba, 212 p.
- ACHOU M. et SOLTANI N., 1997- Impact de *Varroa jacobsoni* Oudmans sur la morphométrie et la composition biochimique de l'hémolymph chez l'abeille, *Apis mellifera intermissa* L. *Parasitica*, 53 (4) : 127 - 134.
- ADJLANE N., 2010 - Association of oxalic and lactic acid for *Varroa* control in Algeria. *First Word Conference on Organic beekeeping*, 27 - 29 août 2010, Sunny Beach , p. 52.
- ADJLANE N., 2012 - Etude des principales maladies bactériennes et virales de l'abeille locale *Apis mellifera intermissa* dans la région médio-septentrionale de l'Algérie. Thèse Doctorat Ecole nati. sup. agro .El-Harrach., 131p.
- ADJLANE N. et DOUMANDJI S., 2011 - La varroase : biologie, diagnostic et traitement; situation actuelle de la varroase en Algérie. *Pratique vétérinaire*, 9 : 8 - 11.
- ADJLANE N., CHAHBAR N. et MAIDI A., 2011 - Evaluation des effets secondaires de l'acide oxalique sur l'abeille locale *Apis mellifera intermissa* : Aspect biochimique. 21<sup>èmes</sup> Journées nationales Biologie "de la molécule à l'écosystème", S.S.N.T., 17 - 20 décembre 2011, Hammamet, p. 9.
- ADJLANE N., DOUMANDJI S. et HADDAD N., 2012a - Situation de l'apiculture en Algérie : facteurs menaçant la survie des colonies d'abeilles locales *Apis mellifera intermissa*. *Cah. Agric.*, Vol. 21, (4) : 235 - 241.
- ADJLANE N., DOUMANDJI S. et HADDAD N., 2012b-la prévalence de la nosérose dans les colonies d'abeilles *Apis mellifera intermissa* dans la région médio-septentrionale de l'Algérie. *Lebanese Science Journal*, Vol. 13, (1) : 65 - 72.
- ALAUX C., BRUNET J.-L., DUSSAUBAT C., MONDET F., TCHAMITCHAN S., COUSIN M., BRILLARD J., BALDY A., BELZUNCES L.P. and LECONTE Y., 2010 - Interactions between *Nosema* microspores and a neonicotinoid weaken honeybees (*Apis mellifera*). *Environ. Microbiol.* 12 : 774 – 782.
- ALIOUANE Y., ADESSALAM K., EL HASSANI A.K., GARY V., ARMENGAUD C., LAMBIN M. and GAUTHIER M., 2009 - Subchronic exposure of honeybees to sublethal doses of pesticides: effect on behavior. *Environ. Toxicol. Chem.*, 28 : 113 – 122.
- ALLILI K. et BOUTRIKA A., 2010 - Evaluation de la toxicité réitérée et de la toxicité subchronique du thiaméthoxam insecticide utilisé en protection des végétaux vis-à-vis

- de l'abeille domestique locale: *Apis mellifera intermissa* et *Apis mellifera sahariensis*. Mémoire Ingénieur Génie Bio., Univ. Boumerdes, 88 p.
- AMIROU S. et HADDADOU I., 2009 – La toxicité aiguë de thiaméthoxame insecticide néonicotinoïdes vis-à-vis de l'abeille domestique locale *Apis mellifera* L. et effet sur les protéines de l'hémolymphe. Mémoire Ingénieur Génie Bio., Univ. Boumerdes, 63p.
- AMSSALU B., NURU A., RADLOFF S. E. and HEPBURN H. R., 2004 - Multivariate morphometric analysis of honeybees (*Apis mellifera*) in the Ethiopian region. *Apidologie*, 35 : 71 – 81.
- ANDERE C., GARCIA C., MARINELLI C., CEPEDA R., RODRIGUEZ E.M. and PALACIO A., 2008 - Morphometric variables of honeybees *Apis mellifera* used in ecotypes characterization in Argentina. *Ecological Modelling*, 214 : 53 – 58.
- AOUDIA N. et AYAD R., 1998 – Efficacité thérapeutique de quelques plantes à propriétés acaricides vis-à-vis de la varroase : *Varroa jacobsoni*. Mémoire Ingénieur, Inst. nati. agro. El-Harrach, 83 p.
- ARIAS M.C. and SHEPPARD W.S., 1996 - Molecular phylogenetics of honey bee subspecies (*Apis mellifera* L.) inferred from mitochondrial DNA sequence. *Mol. Phyl. Evol.*, (5): 557 - 566.
- ASTON D., 2010 - Honey bee winter loss survey for England, 2007-8. *J. Apic. Res.*, 49 (1): 111- 112.
- ATKINS E.L., KELLUM D. and ATKINS K.W., 1981- Comparative morphogenetic and toxicity studies on the effect of pesticides on honeybee brood. *J. Apic. Res.*, 25: 242 - 255.
- AUFAUVRE J., BIRON D.G., VIDAU C., FONTBONNE R., ROUDEL M., DIOGON M., VIGUES B., BELZUNCES L.P., DELBAC F. and BLOT N., 2012 – Parasite-insecticide interactions: a case study of *Nosema ceranae* and fipronil synergy on honeybee. *Scientific Reports*, 2, 326 : 1 - 7.
- AYAD-LOUCIF W., 2009 - Etude de la diversité génétique des abeilles domestiques algériennes (*Apis mellifera* L.) et évaluation de l'effet de divers acaricides sur les abeilles et leur parasite *Varroa destructor*. Thèse Doctorat. Sci. natu., Univ. Annaba, 171 p.
- AYDIN L., GUELEGEN E., CAKMAKE E., GIRISGINO F. and WELL H., 2006 - Relation between *Nosema* and chalkbrood diseases, and its complications for an apiary management model. *Bull. Vet. Inst. Pulawy*, (50): 471 – 475.
- BALDENSPERGER P. J., 1924 - North African bees. *Bee World*, 5: 175 - 176.
- BARNETT E. A., CHARLTON A.J. and FLETCHER M.R., 2007- Incidents of bee poisoning with pesticides in the United Kingdom, 1994–2003. *Pest Manag. Sci.*, 63: 1051 –1057.
- BAROUR C., 2003 - Etude de la variabilité morphométrique et génétique de populations d'abeilles domestiques *Apis mellifera* L. (Hymenoptera : Apidae) du Nord-Est et du Sud algérien. Thèse Magister, Univ Annaba, 106 p.
- BAROUR C., TAHAR A., RADLOFF S.E. and HEPBURN H.R., 2005 – Multivariate analysis of honeybees, *Apis mellifera* Linnaeus (Hymenoptera: Apidae) of the northeastern and southern region of Algeria. *African Entomology*, 13 (1): 17 - 23.

- BAROUR C., TAHAR A., RADLOFF S E. et HEPBURN R., 2006 - Confirmation moléculaire de l'appartenance de quelques populations de la race locale d'abeilles mellifères à la lignée évolutive africaine A: utilisation de l'ADN mitochondrial (ADNmt) comme un marqueur moléculaire déterminant. . *Congrès Internati. entomol. nématol.*, 17 - 20 avril 2006, *Dép. zool. agri. for., Inst. nati. agro., El Harrach*, p. 23.
- BELAID M., 2011 - Effet du parasitisme par *Varroa destructor* sur les paramètres morphométriques et physiologiques de l'abeille ouvrière, *Apis mellifera* L., dans la région médio-septentrionale d'Algérie. Thèse Doctorat. Ecole nati. sup. agro., El-Harrach., 183p.
- BELAID M. et DOUMANDJI S., 2010 – Effet du *Varroa destructor* sur la morphométrie alaire et sur les composants du système immunitaire de l'abeille ouvrière *Apis mellifera intermissa*. *Lebanese Science Journal*, 11, (1): 84 - 90.
- BELZUNCES L. P., TCHAMITCHIAN S., and BRUNETETJ.L., 2012 - Neural effects of insecticides in the honey bee. *Apidologie*, 43: 348 – 370.
- BENDAHOU N., BOUNIAS M. and FLECHE C. , 1999 - Toxicity of cypermethrin and fenitrothion on the hemolymph carbohydrates, head acetylcholinesterase, and thoracic muscle Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase of emerging honeybees. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 44: 139 - 146.
- BENZIDANE Y., TOUINSI S., MOTTE E., JADAS-HÉCART A., COMMUNAL P.-Y., LEDUC L. and THANY S.H., 2010 - Effect of thiamethoxam on cockroach locomotor activity is associated with its metabolite clothianidin. *Pest Manag. Sci.*, 66 : 1351 – 1359.
- BERKANI M.L., 2008 - *Etude des paramètres de développement de l'apiculture algérienne*. Thèse Doctorat, Inst. nati. agro., El Harrach, 227 p.
- BERKANI M.L. and BERKANI Z., 2009 – Composition of chemical of acaricide activity of essential oils resulting from plants against *Varroa destructor* in the Algerian center. 41th. *Congress Apimondia, 15-20 September 2009, Union nati. apicult .France (U.n.a.f.). Montpellier*, p. 161.
- BERKANI M.L., GHALEM. Z. et BENYOUCEF M. T., 2005 - Contribution à l'étude de l'homogénéité de la race locale, *Apis mellifera intermissa* dans les différentes régions du Nord de l'Algérie. *Ann. Inst. nati. agro. El Harrach*, 26 (1–2) : 15 – 32.
- BERTHOUD H., IMDORF A., HAUETER M., RADLOFF S. and NEUMANN P., 2010 - Virus infections and winter losses of honey bee colonies (*Apis mellifera*). *J. Apic. Res.*, 49 (1): 60 - 65.
- BLACQUIERE T., SMAGGHE G., VAN GESTEL C. A. M. and MOMMAERTS V., 2012 - Neonicotinoids in bees: a review on concentrations, side-effects and risk assessment. *Ecotoxicology*, 21: 973 – 992.
- BONMATIN J.M., MOINEAU I., CHARVET R., FLECHE C., COLIN M.E. and BENGSCHE E.R., 2003 - A LC/APCI-MS/MS method for analysis of imidacloprid in soils, in plants, and in pollens. *Anal. Chem.*, 75: 2027 – 2033.
- BORTOLOTTI L., MONTANARI R., MARCELINO J., MEDRZYCKI P., MAINI S. and PORRINI C., 2003 - Effects of sub-lethal imidacloprid doses on the homing rate and foraging activity of honey bees. *Bull. Insectol.*, 56: 63 – 67.

- BOS C. et MASSON C., 1983 - Analyse des effets, en particulier de la répulsivité, d'un pyréthrianoïde de synthèse, la deltaméthrine, sur les abeilles. *Agronomie*, 3 (6): 545 – 553.
- BREEZE T.D., BAILEY A.P., BALCOMBE K.G. and POTTS S.G., 201 - Pollination services in the UK: How important are honeybees?. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 142: 137 – 143.
- BRODSCHNEIDER R., MOOSBECKHOFER R. and CRAILSHEIM K., 2010 - Surveys as a tool to record winter losses of honey bee colonies: a two year case study in Austria and South Tyrol. *J. Apicul. Res.*, 49 (1): 23 - 30.
- BRUNEAU E. et VANDYCK J.M., 2008 – Conserver l'abeille noire. *Abeilles et c* <sup>ie</sup>, 125 (4) : 18 - 22.
- BRUNET J.L., BADIOU A. and BELZUNCES L.P., 2005 - In vivo metabolic fate of [<sup>14</sup>C]-acetamiprid in six biological compartments of the honeybee, *Apis mellifera* L. *Pest. Manag. Sci.*, 61: 742 – 748.
- BUCO S.M., RINDERER T.E., SYLVESTER H.A., COLLINS A.M., LANCASTER V.A. and CREWE R.M., 1987 – Morphometric differences between south American Africanized and south African (*Apis mellifera scutellata*) honey bees. *Apidologie*, 18 (3): 217 - 222.
- CANOVAS F., DE LA RUA P., SERRANO J. and GALIAN J., 2008 - Geographical patterns of mitochondrial DNA variation in *Apis mellifera iberiensis* (Hymenoptera: Apidae). *J. Zool. Syst. Evol. Res.*, 46 (1): 24 – 30.
- CÁNOVAS F., DE LA RUA P., SERRANO J. and GALIAN J., 2011 - Microsatellite variability reveals beekeeping influences on Iberian honeybee populations. *Apidologie*, 42: 235 – 251.
- CARRECK N. L., BALL B. V. and MARTIN S. J., 2010a - The epidemiology of cloudy wing virus infections in honey bee colonies in the UK. *J. Apic. Res.*, 49 (1): 66 - 71.
- CARRECK N. L., BALL B. V. and MARTIN S. J., 2010b - Honey bee colony collapse and changes in viral prevalence associated with *Varroa destructor*. *J. Apic. Res.*, 49 (1): 93 - 94.
- CASIDA J.E., 2011 – Neonicotinoid metabolism ; compounds, substituents, pathways, enzymes, organisms and relevance. *J. Agric. Food Chem.*, 59 : 2923 - 2931.
- C.E.B., 1995 - Méthode de laboratoire d'évaluation des effets de toxicité aiguë orale et de contact des préparations phytopharmaceutiques chez l'abeille domestique *Apis mellifera* L. *Méthode*, 95: 1 - 8.
- CHAHBAR N. BELZUNCES L.P. and DOUMANDJI S., 2009a – The acute oral toxicity of an insecticide used in plant protection; thiaméthoxame (Actara 25wg) on the honeybee *Apis mellifera intermissa*. *41th Congress Apimondia, 15-20 September 2009, France-Montpellier*, p.162.
- CHAHBAR N., BELZUNCES L.P. et DOUMANDJI S., 2009b – Effet d'un insecticide utilisé en protection des végétaux : thiaméthoxame sur l'abeille saharienne *Apis mellifera sahariensis*. *Sém. Internati. Préservation des agrosystèmes sahariens, Ouargla*, 13, 14 et 15 Décembre 2009. *Univ. Ouargla*, p. 1.

- CHAHBAR N., BELZUNCES L.P. et DOUMANDJI S., 2011 – Evaluation de la toxicité réitérée de thiaméthoxame sur l'abeille domestique locale *Apis mellifera sahariensis* et *Apis mellifera intermissa*. *Sém. Internati. Protec. vég., Dép. Zool. agri. for.*, 18-21 Avril 2011., p. 96.
- CHANTAWANNAKUL P., WARD L., BOOHAM N. and BROWN M., 2006 - A scientific note on the detection of honeybee viruses using real-time PCR (TaqMan) in *Varroa* mites collected from a Tai honeybee (*Apis mellifera*) apiary. *J. Invertebr. Pathol.*, 91: 69 –73.
- CHARRIERE J. D. and NEUMANN P., 2010 - Surveys to estimate colony losses in Switzerland. *J. Apic. Res.* 49 (1) : 132 - 133.
- CHAUZAT M.P., HIGES M., MARTIN-HERNANDEZ R., MEANNA A., COUGOULE N. and FAUCON J.P., 2007 - Presence of *Nosema ceranae* in French honey bee colonies. *J. Apic. Res.*, 46: 127 - 128.
- CHAUZAT, M-P., CARPENTIER P., MADEC F., BOUGEARD S., COUGOULE, N., DRAJNUDEL P., CLÉMENT M-C., AUBERT M. and FAUCON J-P., 2010a - The role of infectious agents and parasites in the health of honey bee colonies in France. *J. Apic. Res.* 49 (1): 30 - 39.
- CHAUZAT M-P., MARTEL A-C., BLANCHARD P., CLÉMENT M-C., SCHURR F., LAIR C., RIBIÈRE M., WALLNER K., ROSENKRANZ P. and FAUCON., J.P., 2010b - A case report of a honey bee colony poisoning incident in France. *J. Apic. Res.*, 49 (1): 113 -115.
- CHEN M., YANG X., COX-FOSTER D. and CUI L., 2005 - The role of *varroa* mites in infections of Kashmir bee virus (KBV) and deformed wing virus (DWV) in honey bees. *Virology*, 342: 141 – 149.
- CLARK K.E., OLDROYD B. P., JAVIER J., QUEZADA-EUÁN G. and RINDERER T. E., 2001- Origin of honeybees (*Apis mellifera* L.) from the Yucatan peninsula inferred from mitochondrial DNA analysis. *Molecular Ecology*, 10 : 1347 – 1355.
- COLIN M.E., BONMATIN J.M., MOINEAU I., GAIMON C., BRUN S. and VERMANDERE J.P., 2004 - A method to quantify and analyze the foraging activity of honey bees: relevance to the sublethal effects induced by systemic insecticides. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 47: 387 – 395.
- COLLET T., FERREIRA K.M., ARIAS M.C., SOARES A.E.E. and DEL LAMA M.A., 2006 - Genetic structure of Africanized honeybee populations (*Apis mellifera* L.) from Brazil and Uruguay viewed through mitochondrial DNA COI–COII patterns. *Heredity*, 97: 329 – 335.
- CORNUET J.M. and GARNERY L., 1991 - Mitochondrial DNA variability in honeybees and its phylogeographic implications. *Apidologie*, 22: 627 – 642.
- CORNUET J.M. et FRESNAYE J., 1989 - Etude biométrique de colonies d'abeilles d'Espagne et du Portugal. *Apidologie*, 20: 93 - 101.
- CORNUET J.M., FRESNAYE J. P. et LAVIE P., 1978 - Etude biométrique de deux populations d'abeilles cévenoles. *Apidologie*, 9 (1): 41 - 55.
- CORNUET J.M., FRESNAYE J. P. et TASSENCOURT L., 1975 - Discrimination et classification de populations d'abeilles à partir de caractères biométriques. *Apidologie*, 6 (2): 147 - 187.

- CORNUET J.M., ALBIESETTI J., MALLET N. et FRESNAYE J. P, 1982 – Etude biométrique d'une population d'abeilles landaises. *Apidologie*, 13 (1): 3 - 13.
- CORNUET J. M., DAOUDI A., MOHSSINE E. H. et FRESNAYE J., 1988 - Etude biométrique de populations d'abeilles marocaines. *Apidologie*, 19 (4): 355 - 366.
- CRESSWELL J.E., 2011 - A meta-analysis of experiments testing the effects of neonicotinoid insecticide (imidacloprid) on honey bees. *Ecotoxicology*, 20: 149 – 157.
- CROZIER R.H.andCROZIER Y.C., 1993 - The mitochondrial genome of the honeybee *Apis mellifera*: complete sequence and genome organization. *Genetics*, 133: 97 - 117.
- CURRIE R. W., PERNAL S. F. and GUZMAN-NOVOA E., 2010 - Honey bee colony losses in Canada. *J. Apic. Res.*, 49 (1): 104 - 106.
- DAHLE B., 2010 - The role of *Varroa destructor* for honey bee colony losses in Norway. *J. Apic. Res.*, 49 (1): 124 - 125.
- DECOURTYE A., and DEVILLERS J., 2009 - Ecotoxicity of neonicotinoid insecticides to bees, pp 85–95 in THANY S.H., Insect nicotinic acetylcholine receptors. Ed. Landes biosciences, New York.
- DECOURTYE A., LACASSIE E. and PHAM-DELEGUE M.H., 2003 - Learning performances of honeybees (*Apis mellifera* L.) are differentially affected by imidacloprid according to the season. *Pest. Manag. Sci.*, 59: 269 – 278.
- DECOURTYE A., DEVILLERS J., CLUZEAU S., CHARRETON M. and PHAM-DELEGUE M.H., 2004 - Effects of imidacloprid and deltamethrin on associative learning in honeybees under semi-field and laboratory conditions. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 57: 410 – 419
- DECOURTYE A, DEVILLERS J, GENECQUE E, LE MENACH K, BUDZINSKI H,CLUZEAU S. and PHAM-DELE`GUE M.H., 2001 - *Impairment of olfactory learning performances in the honey bee after long term ingestion of imidacloprid* pp 113–117 in BELZUNCES L. P., PELLISSIER C. and LEWIS G.B., *Hazard of pesticides to bees*. Ed. Institut nati. rech. agro. (INRA), Paris,
- DECOURTYE A., DEVILLERS J., GENECQUE E., LE MENACH K., BUDZINSKI H.,CLUZEAU S. and PHAM-DELE`GUE M.H., 2005- Comparative sublethal toxicity of nine pesticides on olfactory learning performances of the honeybee *Apis mellifera*. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 48: 242 – 250.
- DE LA RUA P., GALIAN J. and SERRANO J., 1998 - Mitochondrial variability of honey bees populations from the Canary Islands. *Mol. Ecol.*, 7: 1543 – 1547.
- DE LA RUA P., GALIAN J., SERRANO J. and MORITZ R.F.A., 2001a – Genetic structure and distinctness of *Apis mellifera* L. population from the canary Island. *Mol. Ecol.*, 10: 1733 – 1742.
- DE LA RUA P., GALIAN J., SERRANO J. and MORITZ R.F.A., 2001b – Molecular characterization and population structure of the honeybees from the Balearic Island (Spain). *Apidologie*, 32: 1 - 11.
- DE LA RUA P., GALIAN J., SERRANO J. and MORITZ R.F.A., 2002 - Microsatellite analysis of non-migratory colonies of *Apis mellifera iberica* from south-eastern Spain. *J. Zool. Syst. Evol. Res.*, 40: 164 – 168.



- DE LA RUA P., GALIAN J., SERRANO J. and MORITZ R.F.A., 2003 - Genetic structure of Balearic honeybee populations based on microsatellite polymorphism. *Gen. Sel. Evol.*, 35: 339 – 350.
- DE LA RUA P., GALIAN J., PEDERSEN B.V. and SERRANO J., 2006 - Molecular characterization and population structure of *Apis mellifera* from Madeira and the Azores. *Apidologie*, 37 : 699 –708.
- DE LA RUA P., RADLOFF S., HEPBURN R. and SERRANO J., 2007 - Do molecular markers support morphometric and pheromone analyses? A preliminary case study in *Apis mellifera* populations of Morocco. *Arch. Zootec.*, 56: 33 – 42.
- DE LA RUA P., HERNANDEZ-GARCIA R., PEDERSEN B.V., GALIAN J. and SERRANO J., 2004 - Molecular diversity of honeybee *Apis mellifera iberica* L. (Hymenoptera: Apidae) from western Andalusia. *Arch. Zootec.*, 53: 195 - 203.
- DE LA RUA P., JAFFE R., DALL'OLIO R., MUNOZ I. and SERRANO J., 2009 - Biodiversity, conservation and current threats to European honey bees. *Apidologie*, 40: 263 – 284.
- DEVILLERS J., 2003 - *The ecological importance of honey bees and their relevance to ecotoxicology pp. 1 – 11* in DEVILLERS J. and PHAM-DELÈGUE M.H., *Honey bees*. Ed. Taylor and Francis, London and New-York, 347 p.
- DINIZ-FILHO J.A., FUCHS S. and ARIAS M.C., 1999 - Phylogeographic correlations of morphological evolution in honey bees (*Apis mellifera* L.). *Heredity*, 83: 671 – 680.
- ELHASSANI A.K., DACHER M., GARRY V., LAMBIN M., GAUTHIER M. and ARMENGAUD C., 2008 - Effects of sublethal doses of acetamiprid and thiamethoxam on the behavior of the honeybee (*Apis mellifera*). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 54: 653 – 661.
- ELBERT A., HAAS M., SPRINGER B., THIELERT W. and NAUEN R., 2008 - Applied aspects of neonicotinoid uses in crop protection. *Pest Manag. Sci.*, 64: 1099 - 1105.
- ELLIS J.D., EVANS J.D. and PETTIS J.S., 2010 - Colony losses, managed colony population decline and Colony Collapse Disorder in the United States. *J. Apic. Res.* 49(1): 134 - 136.
- ELLIS M.D. et LECONTE Y., 2008 - Mortalités et dépopulations des colonies d'abeilles domestiques : le cas américain. *Biofutur*, 284: 49 - 53.
- EL-NIWEIRI M.A.A. and MORITZ R.F.A., 2008 - Mitochondrial discrimination of honey bees (*Apis mellifera*) of Sudan. *Apidologie*, 39: 566 – 573.
- ENGEL M.S., 1999 - The taxonomy of recent and fossil honey bees (Hymenoptera: Apidae; *Apis*). *J. Hymenopt. Res.* , 8: 165 – 196.
- EPPO., 1992 - Guideline on test methods for evaluating the side-effects of plant protection products on honey bees. *EPPO Bull.*, 22: 203 - 215.
- ESTOUP A., GARNERY L., SOLIGNAC M. and CORNUET J.M., 1995 - Microsatellite variation in honey bee (*Apis mellifera*) populations: hierarchical genetic structure and test of the infinite and stepwise mutation models. *Genetics*, 140: 679 – 695.
- EVANNO G., REGNAUT S. and GOUDET J., 2005 - Detecting the number of clusters of individuals using the software structure: a simulation study. *Mol. Ecol.*, 14: 2611 – 2620.

- EXCOFFIER L., LAVAL G. and SCHNEIDER S., 2005 - Arlequin ver. 3.0: an integrated software package for population genetics data analysis. *Evol. Bioinform.*, 1: 47 – 50.
- FAUCON J.P., AURIÈRES C., DRAJNUDEL P., MATHIEU L., RIBIÈRE M., MARTEL A.C., ZEGGANE S., CHAUZAT M.P. and AUBERT M.F.A., 2005 - Experimental study on the toxicity of imidacloprid given in syrup to honey bee (*Apis mellifera*) colonies. *Pest. Manag. Sci.*, 61: 111 – 125.
- FIEDLER L., 1987 - Assessment of chronic toxicity of selected insecticides to honeybee. *J. Apic. Res.*, 26: 115 - 122.
- FORD K.A. and CASIDA J.E., 2006 - Unique and common metabolites of thiamethoxam, clothianidin, and dinotefuran in mice. *Chem. Res. Toxicol.*, 19 (11): 1549 - 1556.
- FORD K.A. and CASIDA J.E., 2008 - Comparative metabolism and pharmacokinetics of seven neonicotinoid insecticides in spinach. *J. Agric. Food. Chem.*, 12, 56 (21): 10168 - 10175.
- FRANCK P., 1999 – Approche génétique des questions évolutives associées à la sociobiologie et à la phylogéographie de l'abeille domestique (*Apis mellifera* L.). Thèse Doctorat, Ecole nati. sup. agro., Montpellier, 97 p.
- FRANCK P., GARNERY L., SOLIGNAC M. and CORNUET J.M., 1998 - The origin of West European subspecies of honey bees (*Apis mellifera*) new insights from microsatellite and mitochondrial data. *Evolution* 52: 1119 – 1134.
- FRANCK P., GARNERY L., SOLIGNAC M. and CORNUET J. M., 2000a - Molecular confirmation of a fourth lineage in honeybees from the Near East. *Apidologie*, 31: 167 – 180.
- FRANCK P., GARNERY L., CELEBRANO G., SOLIGNAC M. and CORNUET J. M., 2000b – Hybrid origins of honeybees from Italy (*Apis mellifera ligustica*) and Sicily (*Apis mellifera sicula*). *Mol. Ecol.*, 9: 907 - 921.
- FRANCK P., GARNERY L., LOISEAU A., OLDROYD B.P., HEPBURN H.R., SOLIGNAC M. and CORNUET J.M., 2001 - Genetic diversity of the honey bee in Africa: microsatellite and mitochondrial data. *Heredity*, 86: 420 – 430.
- GADBIN C., CORNUET J.M. et FRESNAYE J., 1979 - Approche biométrique de la variété locale d'*Apis mellifica* L. dans le sud tchadien. *Apidologie*, 10 (2): 137 – 148.
- GAJGER I. T., TOMLJANOVI# Z. and PETRINEC Z., 2010 - Monitorin health status Croatian honey bee colonies and possible reasons for winter losses. *J. Apic. Res.*, 49 (1): 107 - 108.
- GALLAI N., SALLES J.M., SETTELED J. and VAISSIÈRE B.E., 2009 - Economic valuation of the vulnerability of world agriculture confronted with pollinator decline. *Ecol. Econ.*, 68: 810 – 821.
- GALLINA A. and MUTINELLI F., 2010 - Sudden deaths and colony population decline in Greek honey bee colonies. *J. Invert. Pathology*, 105: 335 – 340.
- GARNERY L., 2004 - *Analyse de la biodiversité du cheptel français de l'abeille domestique*. Rapport fin 1<sup>ère</sup> année 2003-2004, Programme communautaire pour l'apiculture, Règlement CE n° 1221/97, 60 p.

- GARNERY L., CORNUET J.M. and SOLIGNAC M., 1992 – Evolutionary history of honey bee *Apis mellifera* inferred from mitochondrial DNA analysis. *Molecular Ecology*, 1: 145 - 145.
- GARNERY L., SOLIGNAC M., CELEBRANO G. and CORNUET J.M., 1993 - A simple test using restricted PCR-amplified mitochondrial DNA to study the genetic structure of *Apis mellifera* L. *Experientia*, 49: 1016 – 1021.
- GARNERY L., MOSSHINE E.H., OLDROYD B.P. and CORNUET J.M., 1995 - Mitochondrial DNA variation in Moroccan and Spanish honey bee populations. *Mol. Ecol.*, 4: 465 – 471
- GARNERY L., FRANCK P., BAUDRY E., VAUTRIN D., CORNUET J.M. and SOLIGNAC M., 1998 - Genetic biodiversity of the west European honey bee (*Apis mellifera mellifera* and *A. m. iberica*). I. Mitochondrial DNA. *Genet. Sel. Evol.*, 30: 31 – 47.
- GRAY A., PETERSON M. and TEALE A., 2010 - An update on recent colony losses in Scotland from a sample survey covering during 2006- 2008. *J. Apic. Res.*, 49 (1): 129 - 131.
- GREIG-SMITH P.W., THOMPSON H.M., HERDY A.R., BEW M., FINDLAY E. and STEVENSON J.H., 1994 - Incidents of poisoning of honeybees by agricultural pesticides in Great- Britain 1981 – 1991. *Crop Prot.*, 13: 567 – 581.
- HACCOUR P., 1960. Recherche sur la race d'abeille saharienne au Maroc. *C.R. Soc. Sci. Nat. Phys. Extrait La Belgique Apicole*, 25 (1-2): 13 – 18.
- HAMMER Ø., HARPER D.A.T., and RYAN P.D., 2001- Past: paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica.*, 4, issue 1 (4): 1 - 9.
- HARZ M., MÜLLER F. and RADEMACHER E., 2010 - Organic acids: Acute toxicity on *Apis mellifera* and recovery in the haemolymph. *J. Apic. Res.* 49 (1): 95 - 96.
- HASSAHEN M.H. and EL-BANDY M. A., 1956 – Studies on the biometrics of the Egyptian honeybee, *Apis mellifera fasciata* Latr. (Hymenoptera: Apoidea). *Bull. Soc. Entomol., Egypt*, 40, 127 - 130.
- HASSALL, 1990 - *Biochemistry and uses of pesticides*. Ed. VCH, Weinheim, 536 p.
- HATJINA F., BOUGA M., KARATASOU A., KONTOTHANASI A., CHARISTOS L., EMMANOUIL C., EMMANOUIL N. and MAISTROS A.D., 2010 - Data on honey bee losses in Greece: a preliminary note. *J. Apic. Res.*, 49 (1): 116 - 118.
- HAUBRUGE E., NGUYEN B.K., WIDART J., THOME J.P., FICKERS P. et DEPAUW E., 2006 - Le dépérissement de l'abeille domestique, *Apis mellifera* L., 1758 (Hymenoptera : Apidae) : faits et causes probables. *Notes fauniques Gembloux*, 59 (1): 3 - 21.
- HENRY M., BEGUIN M., REQUIER F., ROLLIN O., ODOUX J.F., AUPINEL P., APTEL J., TCHAMITCHIAN S. and DECOURTYE A., 2012 - A Common Pesticide decreases foraging success and survival in honey bees. *ExpressScience*, 4 p.
- HEPBURN H.R. and RADLOFF S.E., 1996 - Morphometric and pheromonal analyses of *Apis mellifera* L. along a transect from the Sahara to the Pyrenees. *Apidologie*, 27: 35 - 45.

- HEPBURN H.R. and RADLOFF S.E., 1997 - Biogeographical correlates of population variance in the honeybees (*Apis mellifera* L) of Africa. *Apidologie*, 28: 243 - 258.
- HEPBURN H.R. and RADLOFF S.E., 1998 - *Honey bees of Africa*. Ed. Springer, Berlin, 312 p.
- HEPBURN H., HEPBURN R., RADOLFF S.E., VERMA S. and VERMA. L.R, 2001 - Morphometric analysis of *Apis cerana* populations in the Southern Himalaya region. *Apidologie*, 32 : 435 – 447.
- HERNANDEZ-GARCIA R., 2010 - Caracterización molecular y estudio biométrico de poblaciones estantes y trashumantes de *Apis mellifera iberiensis* (Engel 1999) de la Región de Murcia. Thèse Doctorat, Univ. Murcia, 155 p.
- HIGES M., MATIN-HERNANDEZ R., BOTIAS C., GARRIDO-BAILON E., GONZALES-PORTO A.V. and BARRIOS L., 2008 - How natural infection by *Nosema ceranae* causes honeybee colony collapse. *Environ. Microbiol.*, 10: 2659 – 2669.
- IVANOVA E. N. and PETROV P. P., 2010 - Regional differences in honey bee winter losses in Bulgaria during the period 2006-9. *J. Apic. Res.*, 49 (1): 102 - 103.
- IWASA T., MOTOYAMA N. and AMBROSE J.T., 2004 - Mechanism for the differential toxicity of neonicotinoid insecticides in the honey bee, *Apis mellifera*. *Crop Protect*, 23: 371 # 378.
- JOHNSON R.M., ELLIS M.D., MULLIN C.A. and FRAZIER M., 2010 - Pesticides and honey bee toxicity – USA. *Apidologie*, 41: 312 -331..
- KARMAKAR R., BHATTACHARYA R. and KULSHRESTHA G., 2009 - Comparative metabolite profiling of the insecticide thiamethoxam in plant and cell suspension culture of tomato. *J. Agric. Food Chem.*, 57: 6369 – 6374.
- KAUHUSSEN–KELLER D., RUTTNER F. and KELLER R., 1997 - Morphometric studies on the microtaxonomy of the species *Apis mellifera* L. *Apidologie*,28: 295 - 307.
- KEVAN P.G., 1999 - Pollinators as bioindicators of the state of the environment: species, activity and diversity. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 74: 373 – 393.
- KLUSER S., NEUMANN P., CHAUZAT M.P. and PETTIS J.S., 2011- UNEP emerging issues: global honey bee colony disorder and other threats to insect pollinators. <http://www.unep.org> . Page consultée le 05 janvier 2013.
- KOUDJIL M., 1990 - Etude de la race locale *Apis mellifica intermissa* et essai d'élevage de reines dans la région de Chlef. Thèse Magister, Inst. nati. agro., El Harrach, 288 p.
- LAMBIN M., ARMENGAUD C., RAYMOND S. and GAUTHIER M., 2001 - Imidacloprid-induced facilitation imidacloprid-induced facilitation of the proboscis extension reflex habituation in the honeybee. *Arch. Insect. Biochem. Physiol.* 48: 129 – 134.
- LAURINO D., PORPORATO M., PATETTA A. and MANINO A., 2011 - Toxicity of neonicotinoid insecticides to honey bees: laboratory tests. *Bull. Insect.*, 64 (1): 107 - 113.
- LE CONTE Y. et FAUCON J.-P., 2002 – Les maladies de l'abeille domestique. *Le Courrier de la Nature, Spécial Abeilles*, 196: 28 - 32.
- LE CONTE Y. et NAVAJAS M., 2008 – Changements climatiques : impact sur les populations d'abeilles et leurs maladies. *Rev. Sci. Tech. Off. int. Epiz.*, 27 (2); 485 - 497.

- LEBDIGRISSA K., MSADDA K., CORNUET J.M. and FRESNAYE J., 1991- The influence of European honeybees introduced in Tunisia on the Tunisian breed—*Apis mellifera intermissa*. *Landbouwtijdschrift*, 44: 631 – 636.
- LEFEBVRE M. et BRUNEAU E., 2003 – *Suivi sanitaire d'urgence de ruchers présentant des symptômes de dépérissement*. Rapport final. Projet FF 02 /15 (414), Fonds budgétaire des Matières premières, Bruxelles, 16 p.
- LEPORATI M., VALLI M. et CAVICCHI S., 1984 - Etude biométrique de la variabilité géographique des populations d'*Apis mellifera* en Italie septentrionale. *Apidologie*, 15 (3): 285 - 302.
- LOUCIF-AYAD W., ARIBI N. and SOLTANI N., 2008 – Evaluation of second effect of some acaricides on *Apis mellifera intermissa* (Hymenoptera, Apidae). Acetylcholinesterase and Glutathione S-transferase Activities. *Europ. J. Sc. Res.*, 21 (4): 642 – 649.
- LOUCIF-AYAD W., ARIBI N., SMAGGHE G. and SOLTANI N., 2010a- Comparative effectiveness of some acaricides used to control *Varroa destructor* (Mesostigmata: Varroidae) in Algeria. *African Entomol.*, 18 (2): 259 – 266.
- LOUCIF-AYAD W., ACHOU M., ARIBI N., SOLTANI N. and GARNERY L., 2010b - Genetic analysis of Algerian honey bee populations and relationships with other honey bee subspecies. . 4th Congress European conference Apidology (Eurbee), 7-9 September 2010, Middle east techn. Univ. cult. conv. Center, Ankara, p.133.
- LOUCIF-AYAD W., BOUCHEMA W.F., CHAABANE S., BENCHAAABANE M., ARIBI N., CHEFROUR A. and SOLTANI N., 2009 – Impact of some acaricides used against *Varroa destructor* (Mesostigmata: Varroidea) on the physiology of *Apis mellifera intermissa* (Hymenoptera: Apidae). 41th Congress Apimondia, 15-20 September 2009, Montpellier, p. 164.
- LOUCIF W., 1993 – Etude biométrique de populations d'abeilles dans l'est algérien. Thèse Magister, Univ. Annaba, 150 p.
- MACCAGNANI B., FERRARI R., ZUCCHI L. e BARISELLI M., 2008.- Difendersi dalle cavallette, ma tutelare le api.- *L'Informatore Agrario*, 64 (25): 53 - 56.
- MADOUNI S. et OUDNI K., 2010 - Variation de la toxicité aigue orale de thiaméthoxame en fonction des volumes administrés vis-à-vis de l'abeille domestique locale *Apis mellifera intermissa* et *Apis mellifera sahariensis* et effet de l'imidaclopride et thiaméthoxame sur les protéines hémolympatiques. Mémoire Ingénieur Génie Bio., Univ. Boumerdes, 93 p.
- MAIENFISCH P., GSELL L. and RINDLISBACHER A., 1999 - Synthesis and insecticidal activity of CGA 293 343: a novel broad-spectrum insecticide. *Pestic. Sci.*, 55: 351 - 355.
- MAIENFISCH P., HUERLIMANN H., RINDLISBACHER A., GSELL L., DETTWILER H., HAETTENSCHWILER J., SIEGER E. AND WALT M., 2001- The discovery of thiamethoxam: a second-generation neonicotinoid. *Pest Manag. Sci.*, 57: 165 – 176.
- MARTIN S.J., BALL B.V. and CARRECK N.L., 2010 - Prevalence and persistence of deformed wing virus (DWV) in untreated or acaricide-treated *Varroa destructor* infested honey bees (*Apis mellifera*) colonies. *J. Apic. Res.*, 49: 72 - 79.

- MARZARO M., VIVAN L., TARGA1 A., MAZZON1 L., MORI1 N., GREATTI M., PETRUCCO TOFFOLO E., DI BERNARDO A., GIORIO C., MARTON D., TAPPARO A. and GIROLAMI V. , 2011 - Lethal aerial powdering of honey bees with neonicotinoids from fragments of maize seed coat. *Bull. Insectol.*, 64 (1): 119 - 126.
- MATSUDA K., BUCKINGHAM S., KLEIER D., RAUH J., GRAUSO M. and SATTELLE D., 2001- Neonicotinoids : insecticides acting on insert nicotinic acetylcholine receptors. *Trends in Pharmacological sciences*, 22 (11): 573 - 580.
- MATTU V.K. and VERMA L.R., 1984 - Morphometric studies on the Indian honeybee, *Apis cerana indica*. Effect of seasonal variations. *Apidologie*, 15 (1): 63 – 74.
- MEDRZYCKI P., MONTANARI R., BORTOLOTTI P., SABATINI A.G., MAINI S. and PORRINI C., 2003 - Effects of imidacloprid administered in sublethal doses on honey bee behaviour. Laboratory tests. *Bull. Insectol.*, 56: 59 – 62.
- MEDRZYCKI P., SGOLA STRA F., BORTOLOTTI L., BOGO G., TOSI S., PADOVANI E. PORRINI C. and SABATINI A.G., 2010 - Influence of brood rearing temperature on honey bee development and susceptibility to poisoning by pesticides. *J. Apic. Res.*, 49 (1): 52 - 59.
- MEIXNER M.D., LETA M.A., KOENIGER N. and FUCHS S., 2011 - The honey bees of Ethiopia represent a new subspecies of *Apis mellifera* – *Apis mellifera simensis* n. ssp. *Apidologie*, 42 (3): 425 - 437
- MEIXNER M. D., COSTA C. KRYGER, P., HATJINA F., BOUGA M., IVANOVA E. and BÜCHLER R., 2010 - Conserving diversity and vitality for honey bee breeding. *J. Apic. Res.*, 49 (1): 85 - 92.
- MIGUEL I., IRIONDOA M., GARNERY L., SHEPPARD W. and ESTONBA A., 2007 - Gene flow within the M evolutionary lineage of *Apis mellifera*: role of the Pyrenees, isolation by distance and post-glacial re-colonization routes in the western Europe. *Apidologie* 38: 141 - 155.
- MILLAR N.S. and DENHOLM I., 2007 – Nicotinic acetylcholine receptors: target for commercially important insecticides. *Invert. Neurosci.*, 7: 53 - 66.
- MISHRA R.C. and VERMA A.K., 1982. Relative toxicity of some insecticides to *Apis cerana indica* F.workers. *Indian Bee J.*, 44: 69 – 71.
- MOHSSINE E.H., 1998 - *Polymorphisme génétique des populations d'abeilles marocaines*. Thèse Doctorat, Inst. agro.-veter. Hassan II, Rabat, 157 p.
- MOMMAERTS V., REYNDERS S., BOULET J., BESARD L., STERK G. and SMAGGHE G., 2010 - Risk assessment for side-effects of neonicotinoids against bumblebees with and without impairing foraging behaviour. *Ecotoxicology*, 19: 207 – 215.
- MORITZ R.F.A., HARTEL S. and NEUMANN P., 2005 - The western honeybee (*Apis mellifera* L.): an invasive species? *Ecoscience*, 12: 289 – 301.
- MUNOZ I., MADRID-JIMENEZ M.J. and DE LA RUA P., 2012 - Temporal genetic analysis of an introgressed island honey bee population (Tenerife, Canary Islands, Spain). *J. Api. Res.*, 51: 144 – 146.
- MUTINELLI F., COSTA C., LODESANI M., BAGGIO A., MEDRZYCKI P., PORMATO G. and PORRINI C., 2010 - Honey bee colony losses in Italy. *J. Apic. Res.*, 49 (1): 119 - 120.

- NAUEN R., EBBINGHAUS-KINTSCHER U. and 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.
- NAUEN R., EBBINGHAUS-KINTSCHER U., SALGADO V. and KAUSSMANN M., 2003- Thiamethoxam is neonicotinoid precursor converted to clothianidin in insects and plants. *Pest. Biochem. Physiol.*, 76: 55– 69.
- NEUMANN P. and CARRECK L. N., 2010 - Honey bee colony losses. *J. Apic. Res.*, 49 (1): 1 - 6.
- OLDROYD B.P., 2007 - What's Killing American Honey Bees? *PLoS Biol.*, 5 (6): e168.
- OLDROYD B.P., CORNUET J.M., ROWE D., RINDER T.E. and CROZIER R.H., 1995 – Racial admixture of *Apis mellifera* in Tasmania, Australia : similarities and differences with natural hybrid zones in Europe. *Heredity*, 74: 315 – 325.
- PARAÏSO A., VINIWANOU N., AKOSSOU A.Y.J., G. A. MENSAH G.A. et ABIOLAW., 2011 - Caractérisation morphométrique de l'abeille *Apis mellifera adansonii* au Nord-Est du Bénin. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, 5 (1): 331 - 344.
- PAXTON R. J., 2010 - Does infection by *Nosema ceranae* cause “Colony Collapse Disorder” in honey bees (*Apis mellifera*)? *J. Apic. Res.* 49 (1): 80 - 84.
- PEAKALL R. and SMOUSE P.E., 2006 - GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Mol. Ecol. Notes.* 6: 288 – 295.
- PHAM-DELÈGUE M.H. DECOURTYE A., KAISER L. and DEVILLERS J., 2002 – Behavioural methods to assess the effects of pesticides on honey bees. *Apidologie*, 33: 425 - 432.
- POTTS S. G., ROBERTS S. P. M., DEAN R., MARRIS G., BROWN M. A., JONES H. R., NEUMANN P. and SETTELE J., 2010 - Declines of managed honey bees and beekeepers in Europe. *J. Apic. Res.* 49 (1): 15 - 22.
- PRITCHARD J.K., STEPHENS. M. and DONNELLY P., 2000 - Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155:945–995
- QUEZEL P. et SANTA S., 1962a – *Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques méridionales*. Ed. C. N. R. S., Paris, T.I, 565 p.
- QUEZEL P. et SANTA S., 1962b – *Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques méridionales*. Ed. C.N.R.S., Paris, T. II, pp. 566 – 1170.
- RADOLFF S.E. and HEPBURN H. R., 1998 - The matter of sampling distance and confidence levels in the subspecific classification of honeybees, *Apis mellifera* L. *Apidologie*, 29: 491 - 501.
- RADLOFF S. and HEPBURN R., 2000 - Population structure and morphometric variance of the *Apis mellifera scutellata* group of honeybees in Africa. *Genetics and Molecular Biology*, 23, 2, 305 - 316.
- RADOLFF S.E., HEPBURN R. and FUCHS S., 2005 a - The morphometric affinities of *Apis cerana* of the Hindou Kush and Himalayan regions of Western Asia. *Apidologie*, 36 : 25 - 30.

- RADOLFF S.E., HEPBURN H.R., HEPBURN C., FUCHS S., OTIS G. W., SEIN M.M., AUNG H.L., PHAM H.T., TAM D.Q., NURU A.M. and KEN T., 2005 b - Multivariate morphometric analysis of *Apis cerana* of Southern mainland Asia. *Apidologie*, 36 : 127 – 139.
- RAFALIMANANA H. 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 : études de terrain à Madagascar et de laboratoire en France. Thèse Doctorat., Inst. nat. agr., Paris- Grignon, 206 p.
- RAJPER N. and FAROOQI S.R., 2012 – Morphometric and genetic diversity of honeybee population in district Khairpur, Pakistan. 5<sup>th</sup> *European Conference of Apidology*. 3-7<sup>th</sup> September 2012, Halle an der Saale, p. 247.
- RANCAN M., SABATINI A.G., ACHILLI G. and GALLETTI G.C., 2006 - Determination of Imidacloprid and metabolites by liquid chromatography with an electrochemical detector and post column photochemical reactor. *Analytica Chimica Acta*, 555: 20 – 24.
- RAYMOND M. and ROUSSET F., 1995 - Genepop (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. *J. Hered.*, 86: 248 – 249.
- RORTAIS A., ARNOLD G., HALM M.P. and TOUFFET-BRIENS F., 2005 - Modes of honeybees exposure to systemic insecticides: estimated amounts of contaminated pollen and nectar consumed by different categories of bees. *Apidologie*, 36: 71 – 83.
- RUTTNER F., 1975 – Les races d'abeilles de l'Afrique. 25<sup>ème</sup> *Congrès internati. apicult. Apimondia, Grenoble*, pp. 347 - 367.
- RUTTNER F., 1988 - *Biogeography and taxonomy of honey bees*. Ed. Springer, Berlin, 284 p.
- RUTTNER R., TASSENCOURT L. and LOUVEAUX J., 1978 - Biometrical-statistical analysis of the geographic variability of *Apis mellifera*. *Apidologie*, 9 (4), 363 - 381.
- SANTIAGO E., ALBORNOZ J., DOMÍNGUEZ A. et IZQUIERDO J.I., 1986 - Etude biométrique des populations d'abeilles (*Apis mellifera*) du Nord-Ouest de l'Espagne. *Apidologie*, 17 (2): 79 – 92.
- SANTRAC V., GRANATO A. and MUTINELLI F., 2010 - Detection of *Nosema ceranae* in *Apis mellifera* from Bosnia and Herzegovina. *J. Apic. Res.*, 49 (1): 100 – 101.
- SCHMUCK R., SCHONING R., STORK A. and SCHRAMMEL O., 2001 - Risk posed to honeybees (*Apis mellifera* L. Hymenoptera) by an imidacloprid seed dressing of sunflowers. *Pest. Manag. Sci.*, 57: 225 – 238.
- SCHNEIDER C. W., TAUTZ J., GRUNEWALD B. and FUCHS S., 2012 - RFID Tracking of Sublethal. Effects of Two Neonicotinoid Insecticides on the Foraging Behavior of *Apis mellifera*. *SPoS one*, 7: e30023.
- SEIJO M.C. and ESCUREDO O., 2009 – Morphometrics study of bee colonies from NW of Spain. *Congress Apimondia, 15-20 september 2009, Union nati. apicult. Franç. (U.n.a.f.) Montpellier*, p. 95.
- SHAIBI T. and MORITZ R.F.A., 2010 - 10,000 years in isolation? Honeybees (*Apis mellifera*) in Saharan oases. *Conserv. Genet.*, 5: 2085 – 2089.



- SHAIBI T., FUCHS S. and MORITZ R. F.A., 2009 -Morphological study of honeybees (*Apis mellifera*) from Libya. *Apidologie*, 40 : 97 – 105.
- SHEPPARD W.S. and MEIXNER M.D., 2003 – *Apis mellifera pomonella*, a new honey bee subspecies from Central Asia. *Apidologie*, 34 (4): 367 – 375.
- SHEPPARD W.S. and SMITH D.R., 2000 – Identification of African – derived bees in the Americas: A survey of methods. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 93 (2): 159 – 176.
- SHEPPARD W.S., ARIAS M.C., GRECH A. and MEIXNER M.D., 1997 - *Apis mellifera ruttneri*, a new honeybee subspecies from Malta. *Apidologie*, 28 : 287 – 293.
- SINACORI A. RINDERER T.E., LANCASTER V. and SHEPPARD W.S., 1998 – A morphological assessment of *Apis mellifera* from Palermo, Italy. *Apidologie*, 29: 481-490
- SMART L.E. and STEVENSON J.H., 1982 - Laboratory estimation of toxicity of pyrethroid insecticides to honey bees: relevance to hazard in the field. *Bee World.*, 63: 150 - 152
- SMIRLE M.J. and WINSTON M.L., 1987 - Intercolony variation in pesticide detoxification by the honey bee (Hymenoptera : Apidae). *J. Econ. Entomol.*, 80: 5 - 8.
- SMIRLE M.J. and WINSTON M.L., 1988 - Detoxifying enzyme activity in worker honey bees: an adaptation for foraging in contaminated ecosystem. *Can. J. Zool.*, 66: 1938 - 1942.
- SMITH D.R., 1991 – African bees in the Americas: insights from biogeography and genetics. *Trends Ecol. Evol.*, 6: 17 - 21.
- SMITH D. R. and BROWN W.M., 1988 - Polymorphisms in mitochondrial DNA of European and Africanized honeybees (*Apis mellifera*). *Experientia*, 4: 257 - 260.
- SMITH D.R. and GLENN T.C., 1995 - Allozyme polymorphism in Spanish honeybees (*Apis mellifera iberica*). *J. Hered.*, 86: 12 – 16.
- SMITH D.R., PALOPOLI M.F., TAYLOR B.R., GARNERY L., COURNET J.M., SOLIGNAC M. and BROWN W.M., 1991 - Geographical overlap of two mitochondrial genomes in Spanish honeybees (*Apis mellifera iberica*). *J. Hered.*, 82: 96 - 100.
- SOLIGNAC M., VAUTRIN D., LOISEAU A., MOUGEL F., BAUDRY E., ESTOUP A., GARNERY L., HABERL M. and CORNUET J.M., 2003 - Five hundred and fifty microsatellite markers for the study of the honey bee (*Apis mellifera* L.) genome. *Mol. Ecol. Notes*, 3: 307 – 311.
- STARK J.D., JEPSON P.C. and MAYER D.F., 1995 - Limitations to use of topical toxicity data for predictions of pesticide side effects in the field. *J. Econ. Entomol.*, 88: 1081 – 1088.
- SUCHAIL S., 2001- Etude pharmacocinétique et pharmacodynamique de la létalité induite par l'imidaclopride et ses métabolites chez l'abeille domestique (*Apis mellifera* L.). Thèse Doctorat. Univ. Claude Bernard- Lyon 1, 166 p.
- SUCHAIL S., BELZUNCES L. P. et VAISSIERE B. E., 2003 - Toxicité aiguë de l'imidaclopride et de ses métabolites chez l'abeille domestique *Apis mellifera*. *Abeilles et Fleurs*, 643: 27 – 30.

- SUCHAIL S, DEBRAUWER L, and BELZUNCES L.P., 2004a - Metabolism of imidacloprid in *Apis mellifera*. *Pest. Manag. Sci.*, 60: 291 – 296.
- SUCHAIL S., GUEZ D. and BELZUNCES L.P., 2000 - Characteristics of imidacloprid toxicity in two *Apis mellifera* subspecies. *Environ. Toxicol. Chem.*, 19: 1901 – 1905.
- 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.*, 20: 2482 – 2486.
- SUCHAIL S., DE SOUSA G., RAHMANI R. and BELZUNCES L.P., 2004b - In vivo distribution and metabolism of C<sup>-14</sup> imidacloprid in different compartments of *Apis mellifera* L. *Pest. Manag. Sci.*, 60: 1056 – 1062.
- TAN K., HEPBURN H. R., RADLOFF S.E., FUCHS S., FAN X., ZHANG L. and YANG M., 2008 - Multivariate morphometric analysis of the *Apis cerana* of China. *Apidologie*, 39 : 343 – 353.
- TOMASSONE R. et FRESNAYE J., 1971 - Etude d'une méthode biométrique et statistique permettant la discrimination et la classification de populations d'abeilles. *Apidologie*, 2 (1), 49 - 65.
- TOPOLSKA G., GAJDA A., POHORECKA K., BOBER A., KASPRZAK S., SKUBIDA M. and SEMKIW P., 2010 - Winter colony losses in Poland. *J. Apic. Res.*, 49 (1): 126 - 128.
- TOULLEC A.N.K., 2008 - *Abeille noire, Apis mellifera mellifera, historique et sauvegarde*. Thèse Doctorat, Ecole. nati. vet. d'Alfort, 162 p.
- UIPP, 2011 - *La nature, une richesse à cultiver*. Ed. Union Industries protec. plantes, rapport d'activité 2010/2011, Boulogne, 29 p.
- VAISSIERE B., 2002 - Abeilles et pollinisation. *Le courrier de la Nature, Spécial Abeilles*, 196: 24 – 27.
- VAISSIERE B. et MORISON N., 2003 - Hyménoptères pollinisateurs: des abeilles toujours reines, les bourdons parfois rois. *Rev. Hort.*, 425: 17 - 21.
- VAN DER ZEE R., 2010 - Colony losses in the Netherlands. *J. Apic. Res.*, 49 (1): 121 - 123.
- VAN ENGELSDORP D., HAYES J.J., UNDERWOOD R.M. and PETTIS J., 2010 - A survey of honey bee colony losses in the United States, fall 2008 to spring 2009. *J. Apic. Res.*, 49 (1): 7 - 14.
- VEJSNÆS F. and KRYGER P., 2010 - Factors involved in the recent increase in colony losses in Denmark. *J. Apic. Res.* 49 (1): 109 - 110.
- VERMA L.R., MATTU V.K. and DALY H.V., 1994 - Multivariate morphometrics of the Indian honeybee in the northwest Himalayan region. *Apidologie*, 25: 203-223.
- VIDAU C., DIOGON M., AUFAUVRE J., FONTBONNE R., VIGUE'S B., BRUNET J-L., TEXIER C., BIRON D.G., BLOT N., ALAOUI H.E., BELZUNCES L.P. and DELBAC F., 2011 - Exposure to sublethal doses of fipronil and thiacloprid highly increases mortality of honeybees previously infected by *Nosema ceranae*. *PLoS one*, 6: e21550.

- 
- VILLA S., VIGLI M., FINIZIO A. and SERINI G.B., 2000 - Risk assessment for honeybees from pesticides exposed pollen. *Ecotoxicology*, 9: 287 - 297.
- WALLER, G. D., ERICKSON B. J., HARVEY J. and ARCHER T. I., 1984 - Comparison of honey bee (Hymenoptera: Apidae) losses from two formulations of methyl parathion applied to sunflowers. *J. Econ. Entomol.*, 77: 230 – 233.
- WALSH P.S., METZGER D.A. and HIGUCHI R., 1991- Chelex-100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. *Biotechniques*, 10: 506 – 513.
- WEHLING M., VON DER OHE W., BRASSE D. and FORSTER R., 2009 - Colony losses- interactions of plant protection products and other factors. *Julius. Kuhn. Arch.*, 423: 153 – 154.
- WILLIAMS I.H., 1994 - The dependence of crop production within the European Union on pollination by honey bees. *Agric. Zool. Rev.*, 6: 229 – 257.
- WILLIAMS G.R., ROGERS R.E.L., KALKSTEIN A.L., TAYLOR B.A., SHUTLER D. and OSTIGUY N., 2009 - Deformed wing virus in western honey bees (*Apis mellifera*) from Atlantic Canada and the first description of an overtly-infected emerging queen. *J. Invertebr. Pathol.*, 101: 77 – 79.
- YANEZ O., JAFFE R., JAROSCH A., FRIES I., MORTIZ R.F.A., PAXTON R.J. and DE MIRINDA J.R., 2012 - Deformed wing virus and drone mating flights in the honey bee (*Apis mellifera*): implications for sexual transmission of a major honey bee virus. *Apidologie*, 43 : 17 - 30.
- YANG E.C., CHUANG Y.C., CHEN Y.L. and CHANG L.H., 2008 – Abnormal foraging behavior induced by sublethal dosage of imidacloprid in the honey bee (Hymenoptera: Apidae). *J. Econ. Entomol.*, 101: 1743 - 1748.
- YUE C. and GENERSCH E., 2005 - RT - PCR analysis of deformed wing virus in honeybees (*Apis mellifera*) and mites (*Varroa destructor*). *J. Gen. Virol.*, 86: 3419 - 3424.
- ZHOU G.C., WANG Y., ZHAIS., GE F., LIU Z.H., DAI Y.J., YUAN S. and HOU J. Y., 2012 - Biodegradation of the neonicotinoid insecticide thiamethoxam by the nitrogen-fixing and plant-growth-promoting rhizobacterium *Ensifer adhaerens* strain TMX-23. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 97, (9) : 4065-4074.
- ZIONI N., SOROKER V. and CHEJANOSCKY N., 2011 - Replication of *Varroa destructor* virus 1 (VDV-1) and a *Varroa destructor* virus 1–deformed wing virus recombinant (VDV-1–DWV) in the head of the honey bee. *Virology*, 417: 106 – 112.

# Annexes

## Annexe 1

### 1 -Thiaméthoxame

#### 1.1- Propriétés physico-chimiques du thiaméthoxam: (Syngenta, 2010)

##### Nom chimique:

- D'après l'Union international de chimie pure et appliquée:  
3-(2-chloro-1,3-thiazol-5-ylméthyl)-5-méthyl-1,3,5-oxadiazinan-4-ylidène(nitro)amine
- D'après Chemical Abstrates Services (CAS):  
3-[(2-chloro-5-thiazolyl) méthyl] tétrahydro-5-méthyl-Nnitro-4H-1,3,5-oxadiazin-4-imine

**Formule moléculaire:**  $C_8H_{10}ClN_5O_3S$

**Masse moléculaire:** 291.7

**Pureté nominale de la matière active:** 98% (97 à 100%)

**Poudre de couleur blanc cassé**

**Odeur:** inodore

**Point ou plage de fusion:** 139.1°C

**Point ou plage d'ébullition:** Sans objet

**Densité à 25°C:**  $1,57 \times 10^3 \text{ Kg/m}^3$

**Temperature de fusion:** 139,1 °C.

**Pression de vapeur à 20°C:**  $2.7 \times 10^{-9}$

**Constante de la loi d'Henry à 20°C:**  $1,9 \times 10^{-10} \text{ Pa m}^3/\text{mol}$

**Spectre d'absorption ultraviolet (UV)-Visible:** pas d'absorption significative aux longueurs d'onde > 300 nanomètres (nm)

##### **Solubilité dans des solvants organiques à 20°C en g/l:**

- Acétone 48
- Dichlorométhane 110
- Acétate d'éthyle 7
- 1-octanol 0.62
- Méthanol 13
- Toluène 0.68

**Coefficient de partage n-octanol-eau ( $\log K_{oe}$ ) à 25°C:**  $\log K_{oe} = -0.13$

**Constante de dissociation (pKa):** pas de dissociation dans la plage 2 à 12 de pH

---

**Stabilité (température, métaux):** aucun changement de la MAQT par contact avec les métaux (acier inoxydable, acier moulé et aluminium) et ions métalliques ( $Zn^{+2}$ ,  $Al^{+3}$ ,  $Cu^{+2}$  et  $Fe^{+2}$ )

**1-Insecticide Actara 25WG**

**Couleur :** Beige foncé

**Odeur :** Aromatique

**État physique :** Liquide

**Type de formulation :** Concentré en suspension

**Teneur nominale garantie :** 240 g/L (limites : 232,8 à 247,2 g/L)

**Description du contenant :** Bouteilles de polyéthylène haute densité

**Densité** 1,113 g/ml à 20 °C

**PH** 5,6 (dispersion aqueuse de 1 %)

**Action oxydante ou réductrice:** Le produit n'a pas de propriétés oxydantes ou réductrices.

**Stabilité à l'entreposage:** Le produit s'est révélé stable pendant au moins une année en conditions d'entreposage.

**Explosivité:** Le produit n'a aucune propriété explosive.

**2- Les caractéristiques du thiaméthoxame:**

- Large spectre d'activité
- Unique mode d'action
- Rapidité de pénétration dans les plantes
- Génération longue performance
- Forte activité systémique
- Arrêt rapide de l'alimentation
- N'est pas dégradé par les rayons UV.
- Résistance au lessivage.
- Forte solubilité (4100 ppm)
- Faiblement adsorbé par la MO
- Bonne stabilité à l'hydrolyse

## Annexe 2

# Evaluation de la toxicité d'un produit phytopharmaceutique sur les abeilles domestiques locales (*Apis mellifera intermissa* et *Apis mellifera sahariensis*) et diversité génétique.

Préparation d'un plan de dilution

Matière active (MA) : **Thiaméthoxane**

Date de la manip : **29-juil-09**

Données nécessaires (cases vertes) :

160 abeilles	=	nombre d'abeilles à traiter par dose de matière active								
10 µL/ab	=	volume de solution appliqué (topique) ou ingéré (trophique) par abeille								
ng/ab	=	quantités de matière active par abeille (remplir ci-dessous par dose décroissante)								
Solution :	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8		

