



HAL
open science

La disparition des abeilles depuis le CCD : origines et causes probables de l'effondrement des colonies

Loïc Lécivain

► **To cite this version:**

Loïc Lécivain. La disparition des abeilles depuis le CCD : origines et causes probables de l'effondrement des colonies. Sciences pharmaceutiques. 2018. hal-03297529

HAL Id: hal-03297529

<https://hal.univ-lorraine.fr/hal-03297529>

Submitted on 23 Jul 2021

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-thesesexercice-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

UNIVERSITÉ DE LORRAINE

2018

FACULTE DE PHARMACIE

**LA DISPARITION DES ABEILLES DEPUIS LE
CCD :**

**ORIGINES ET CAUSES PROBABLES DE
L'EFFONDREMENT DES COLONIES**

THESE

Présentée et soutenue publiquement

Le 14 mars 2018

Pour obtenir

Le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie

Par **Loïc LECRIVAIN**

Né le 11 mai 1990 à Metz (57)

Membres du jury

Président : Mme Dominique LAURAIN-MATTAR

Professeur, Faculté de Pharmacie
Nancy

Juges : M. Nicolas CARDINAULT

Directeur scientifique Pollenergie

Mme Sandrine BANAS

Maître de conférences

M. Baptiste HENRY

Docteur en Pharmacie

**UNIVERSITÉ DE LORRAINE
FACULTÉ DE PHARMACIE
Année universitaire 2017-2018**

DOYEN

Francine PAULUS

Vice-Doyen/Directrice des études

Virginie PICHON

Conseil de la Pédagogie

Présidente, Brigitte LEININGER-MULLER

Vice-Présidente, Alexandrine LAMBERT

Collège d'Enseignement Pharmaceutique Hospitalier

Présidente, Béatrice DEMORE

Commission Prospective Facultaire

Président, Christophe GANTZER

Vice-Président, Jean-Louis MERLIN

Commission de la Recherche

Président, Raphaël DUVAL

Responsables de la filière Officine

Caroline PERRIN-SARRADO

Julien GRAVOULET

Responsables de la filière Industrie

Isabelle LARTAUD,

Jean-Bernard REGNOUF de VAINS

Responsables de la filière Hôpital

Béatrice DEMORE

Marie SOCHA

Responsable Pharma Plus ENSIC

Jean-Bernard REGNOUF de VAINS

Responsable Pharma Plus ENSAIA

Raphaël DUVAL

Responsable Pharma Plus ENSGSI

Igor CLAROT

Responsable de la Communication

Marie-Paule SAUDER

Responsable de la Cellule de Formation Continue et individuelle

Béatrice FAIVRE

Responsable de la Commission d'agrément

François DUPUIS

des maîtres de stage

Responsable ERASMUS

Mihayl VARBANOV

DOYENS HONORAIRES

Chantal FINANCE

Claude VIGNERON

PROFESSEURS EMERITES

Jeffrey ATKINSON

Jean-Claude BLOCK

Max HENRY

Alain MARSURA
Claude VIGNERON

PROFESSEURS HONORAIRES

Pierre DIXNEUF
Marie-Madeleine GALTEAU
Thérèse GIRARD
Michel JACQUE
Pierre LABRUDE
Vincent LOPPINET
Alain NICOLAS
Janine SCHWARTZBROD
Louis SCHWARTZBROD

ASSISTANTS HONORAIRES

Marie-Catherine BERTHE
Annie PAVIS

ENSEIGNANTS

*Section
CNU*

**MAITRES DE CONFERENCES
HONORAIRES**

Monique ALBERT
Marianne BEAUD
Gérald CATAU
Jean-Claude CHEVIN
Jocelyne COLLOMB
Bernard DANGIEN
Marie-Claude FUZELLIER
Françoise HINZELIN
Marie-Hélène LIVERTOUX
Bernard MIGNOT
Jean-Louis MONAL
Blandine MOREAU
Dominique NOTTER
Christine PERDICAKIS
Marie-France POCHON
Anne ROVEL
Gabriel TROCKLE
Maria WELLMAN-ROUSSEAU
Colette ZINUTTI

Discipline d'enseignement

PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS

Danièle BENSOUSSAN-LEJZEROWICZ	82	<i>Thérapie cellulaire</i>
Jean-Louis MERLIN	82	<i>Biologie cellulaire</i>
Jean-Michel SIMON	81	<i>Economie de la santé, Législation pharmaceutique</i>
Nathalie THILLY	81	<i>Santé publique et Epidémiologie</i>

PROFESSEURS DES UNIVERSITES

Christine CAPDEVILLE-ATKINSON	86	<i>Pharmacologie</i>
Igor CLAROT	85	<i>Chimie analytique</i>
Joël DUCOURNEAU	85	<i>Biophysique, Acoustique, Audioprothèse</i>
Raphaël DUVAL	87	<i>Microbiologie clinique</i>
Béatrice FAIVRE	87	<i>Hématologie, Biologie cellulaire</i>
Luc FERRARI	86	<i>Toxicologie</i>

Pascale FRIANT-MICHEL	85	<i>Mathématiques, Physique</i>
Christophe GANTZER	87	<i>Microbiologie</i>
Frédéric JORAND	87	<i>Eau, Santé, Environnement</i>
Isabelle LARTAUD	86	<i>Pharmacologie</i>
Dominique LAURAIN-MATTAR	86	<i>Pharmacognosie</i>
Brigitte LEININGER-MULLER	87	<i>Biochimie</i>
Pierre LEROY	85	<i>Chimie physique</i>
Philippe MAINCENT	85	<i>Pharmacie galénique</i>
Patrick MENU	86	<i>Physiologie</i>
Jean-Bernard REGNOUF de VAINS	86	<i>Chimie thérapeutique</i>
Bertrand RIHN	87	<i>Biochimie, Biologie moléculaire</i>

MAITRES DE CONFÉRENCES DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS

Béatrice DEMORE	81	<i>Pharmacie clinique</i>
Alexandre HARLE	82	<i>Biologie cellulaire oncologique</i>
Julien PERRIN	82	<i>Hématologie biologique</i>
Loïc REPEL	82	<i>Biothérapie</i>
Marie SOCHA	81	<i>Pharmacie clinique, thérapeutique et biotechnique</i>

MAITRES DE CONFÉRENCES

Sandrine BANAS	87	<i>Parasitologie</i>
Xavier BELLANGER	87	<i>Parasitologie, Mycologie médicale</i>
Emmanuelle BENOIT	86	<i>Communication et Santé</i>
Isabelle BERTRAND	87	<i>Microbiologie</i>
Michel BOISBRUN	86	<i>Chimie thérapeutique</i>
François BONNEAUX	86	<i>Chimie thérapeutique</i>
Ariane BOUDIER	85	<i>Chimie Physique</i>
Cédric BOURA	86	<i>Physiologie</i>
Joël COULON	87	<i>Biochimie</i>
Sébastien DADE	85	<i>Bio-informatique</i>
Dominique DECOLIN	85	<i>Chimie analytique</i>
Roudayna DIAB	85	<i>Pharmacie galénique</i>
Natacha DREUMONT	87	<i>Biochimie générale, Biochimie clinique</i>
Florence DUMARCAY	86	<i>Chimie thérapeutique</i>
François DUPUIS	86	<i>Pharmacologie</i>
Reine EL OMAR	86	<i>Physiologie</i>
Adil FAIZ	85	<i>Biophysique, Acoustique</i>
Anthony GANDIN	87	<i>Mycologie, Botanique</i>
Caroline GAUCHER	86	<i>Chimie physique, Pharmacologie</i>
Stéphane GIBAUD	86	<i>Pharmacie clinique</i>

Thierry HUMBERT	86	Chimie organique
Olivier JOUBERT	86	Toxicologie, Sécurité sanitaire

ENSEIGNANTS (suite)	Section CNU*	Discipline d'enseignement
Alexandrine LAMBERT	85	Informatique, Biostatistiques
Julie LEONHARD	86/01	Droit en Santé
Christophe MERLIN	87	Microbiologie environnementale
Maxime MOURER	86	Chimie organique
Coumba NDIAYE	86	Epidémiologie et Santé publique
Marianne PARENT	85	Pharmacie galénique
Francine PAULUS	85	Informatique
Caroline PERRIN-SARRADO	86	Pharmacologie
Virginie PICHON	85	Biophysique
Sophie PINEL	85	Informatique en Santé (e-santé)
Anne SAPIN-MINET	85	Pharmacie galénique
Marie-Paule SAUDER	87	Mycologie, Botanique
Guillaume SAUTREY	85	Chimie analytique
Rosella SPINA	86	Pharmacognosie
Sabrina TOUCHET	86	Pharmacochimie
Mihayl VARBANOV	87	Immuno-Virologie
Marie-Noëlle VAULTIER	87	Mycologie, Botanique
Emilie VELOT	86	Physiologie-Physiopathologie humaines
Mohamed ZAIYOU	87	Biochimie et Biologie moléculaire

PROFESSEUR ASSOCIE

Julien GRAVOULET	86	Pharmacie clinique
Anne MAHEUT-BOSSER	86	Sémiologie

PROFESSEUR AGREGE

Christophe COCHAUD	11	Anglais
--------------------	----	---------

***Disciplines du Conseil National des Universités :**

80 : Personnels enseignants et hospitaliers de pharmacie en sciences physico-chimiques et ingénierie appliquée à la santé

81 : Personnels enseignants et hospitaliers de pharmacie en sciences du médicament et des autres produits de santé

82 : Personnels enseignants et hospitaliers de pharmacie en sciences biologiques, fondamentales et cliniques

85 : Personnels enseignants-chercheurs de pharmacie en sciences physico-chimiques et ingénierie appliquée à la santé

86 : Personnels enseignants-chercheurs de pharmacie en sciences du médicament et des autres produits de santé

87 : Personnels enseignants-chercheurs de pharmacie en sciences biologiques, fondamentales et cliniques

11 : Professeur agrégé de lettres et sciences humaines en langues et littératures anglaises et anglo-saxonnes

SERMENT DES APOTHICAIRES

Je jure, en présence des maîtres de la Faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ; en aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

« LA FACULTE N'ENTEND DONNER AUCUNE APPROBATION, NI IMPROBATION AUX OPINIONS EMISES DANS LES THESES, CES OPINIONS DOIVENT ETRE CONSIDEREES COMME PROPRES A LEUR AUTEUR ».

Remerciements

*A Madame Dominique Laurain-Mattar,
Professeur à la Faculté de Pharmacie de Nancy,
Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence et la direction de mon jury de thèse, ainsi que pour votre soutien tout au long de ce beau mais difficile parcours.
Sincères remerciements.*

*A Monsieur Cardinault Nicolas,
Directeur Scientifique de Pollernergie
Pour me faire l'honneur de votre présence dans mon jury de thèse, et pour le temps que vous consacrez à ce déplacement à l'autre bout de la France,
Sincères remerciements.*

*A Madame Banas Sandrine,
Maître de Conférences à la Faculté de Pharmacie de Nancy,
Pour avoir aimablement accepté de juger ce travail,
Sincères remerciements.*

*A Monsieur Henry Baptiste,
Docteur en Pharmacie,
Pour avoir accepté de participer à ce jury, en tant qu'ami passionné et professionnel aguerri,
Merci beaucoup.*

A mes parents évidemment, pour tout ce qu'ils m'ont apporté ; sans votre soutien durant toutes ces années, tout aurait été plus difficile. Cette réussite, c'est à vous que je la dédie.

A toi, Maman, pour ta bonne humeur, ta présence, ta gentillesse évidemment, les plats que tu me préparais pour repartir à Nancy et m'éviter de ne manger que des pâtes et du jambon ! Evidemment, Je ne parle même pas des centaines de tee-shirts repassés ! Merci.

A toi, Papa, mon modèle depuis toujours, pour m'avoir poussé à travailler encore et toujours. Merci de m'avoir transmis l'amour de la terre et du jardin ; sans ça, les abeilles ne m'auraient peut-être jamais intéressé.

A toi, mon P'tit, mon Flo, mon frère, un grand merci pour ta patience quand je ratais le cadre au détour d'un match FIFA et que je rentrais fatigué et grognon de Nancy. Merci pour ton soutien dans les moments difficiles, certains évènements rapprochent énormément, comme quoi il y a toujours du positif !

Aux Longevillois, évidemment, comment vous oublier. Tout d'abord pour votre accueil chaleureux pendant ces quelques années de formation.

A toi, François, pour ta sagesse et pour ta capacité à prendre du recul, qui m'ont permis d'aborder des situations délicates avec beaucoup de sérénité. Merci pour ces débats animés, ces discussions pleines d'optimisme et de réalité devant la cheminée lorraine ; et merci pour le temps que tu continues à nous consacrer.

A toi, Odile, pour ton accueil à Longeville, ta gentillesse, tu as été toujours été égale à toi-même et m'as traité avec la plus grande attention. Merci pour tous ces petits plats mijotés, ces bons gâteaux, et le boudin noir de chez Dellenbach : exquis !

A Jérôme, mon cousin, merci pour toutes ces bières dans les bars à Bar en écoutant du bon son ! On a appris se connaître, et on a bien rigolé... Et puis les patrons, tu sais... Mais oui, évidemment que tu sais !

A mon parrain, parce que l'on ressemble toujours un peu à son parrain, et parce que tu es quelqu'un de formidable. Merci à Nadine aussi !

A mes amis, que je n'oublie pas, mais qui ont surtout la patience de supporter mes absences de réponse aux SMS !

A Tom, mon ami et frère de toujours, pour ces longues années d'amitié depuis le centre aéré à Marc Sangnier, pour ces longues heures de jeux vidéo qui ont tant exaspéré Amandine, et évidemment pour ton amitié qui vaut de l'or. Merci poulet !

A Baptiste, mon cher binôme depuis toujours en pharmacie, et un ami en or désormais. Merci à toi qui as su pimenter les rapports de TP par des ping-pong-apéros, des sorties mycologiques, de grandes discussions pour refaire le monde, la paix, la guerre, la politique. Ton amitié et ta présence dans ce jury m'honorent.

A ma chère Charlotte! Pour toutes ces belles années au lycée, nos fous rires de P1, et tous ces apéros-restaurants depuis mon retour sur Metz ! Merci d'avoir toujours été là.

A Thibaut, pour ta foi inébranlable en la victoire du FC Metz en championnat, et les bons moments qu'on passe en soirée à débattre de notre situation amoureuse.

A Arnaud, mon grand pote vosgien, lanceur de défis toujours plus fous les uns que les autres, la TEAM ne meurt jamais, alors on lâche rien et on continue à emprunter les chemins de sanglier.

A Lucile, pour ton soutien de future thésarde, merci pour ta culture, ton intelligence et ta vivacité d'esprit, j'ai beaucoup appris dans des domaines inconnus à mes yeux. Tu es sans aucun doute une des plus belles rencontres de mes années vosgiennes et nancéiennes.

A Alex, mon ami patriote, historien et sportif, pour nos échanges patriotiques et historiques (et les Français sont bien les meilleurs)

A Nono, pour tous ces bons moments passés dans les Vosges, à Nice ou à Nancy devant les jeux de société et la tireuse à bière.

A LiLie, pour tes messages du 2 du mois qui n'ont jamais cessé.

A Jean-Félix, Monsieur Albrecht, pour ces supers moments passés en voiture en direction de Paris et Besançon, dommage qu'on ait appris à se connaître seulement en cinquième année !

A toutes les personnes qui m'ont formé au métier de pharmacien d'officine à Commercy, Bar-le-Duc et Metz, merci pour votre patience et votre présence.

A tout ceux que j'oublie certainement, mais sans qui la vie ne serait pas ce qu'elle est et qui m'ont fait comprendre que tout cela vaut la peine d'être vécu.

SOMMAIRE

I. Introduction.....	5
II. Présentation de l'abeille <i>Apis mellifera Linnaeus</i>	6
A. Description.....	6
a. Morphologie.....	6
b. Comportement social et rôles au sein d'un essaim.....	9
α) Structure du nid.....	9
β) La reine.....	10
γ) Le faux-bourdon.....	11
δ) L'ouvrière.....	12
i. La nettoyeuse.....	13
ii. La nourrice.....	14
iii. L'architecte et la maçonne.....	15
iv. La manutentionnaire.....	16
v. La ventileuse.....	16
vi. La gardienne et le soldat.....	17
vii. La butineuse.....	18
B. Rôle dans la pollinisation.....	19
a. Définition de la pollinisation.....	19
b. Principes et méthodes de pollinisation.....	19
α) Pollinisation anémophile ou anémogamie.....	19
β) Pollinisation entomophile, ou entomogamie.....	21
C. Le déclin des populations : le CCD, qu'est ce que c'est ?.....	23
a. Histoire des déclin.....	23
b. Le CCD : origines et définition.....	24
c. Le CCD à l'échelle mondiale.....	25
III. Causes de la disparition des abeilles dans le CCD et effets sur les abeilles....	28
A. Les insecticides : néonicotinoïdes et fipronil.....	29
a. Néonicotinoïdes.....	30

α)	Historique	30
β)	Présentation.....	31
χ)	Diffusion.....	32
δ)	Contamination.....	33
ε)	Toxicité envers l'abeille domestique et surmortalité.....	34
φ)	Symptômes moteurs et comportementaux	39
γ)	Symptômes physiologiques	42
b.	Le fipronil.....	47
α)	Présentation.....	47
β)	Diffusion.....	48
χ)	Contamination.....	50
δ)	Toxicité du fipronil à des doses sublétales	51
ε)	Symptômes moteurs, comportementaux et effets sur l'apprentissage	52
φ)	Symptômes physiologiques.....	54
B.	<i>Varroa destructor</i>	55
a.	Historique et épidémiologie.....	55
b.	Anatomie.....	56
c.	Cycle de vie et contamination.....	57
d.	Action spoliatrice.....	60
e.	Action vectrice	60
C.	<i>Nosema ceranae</i> et <i>Nosema apis</i>	65
a.	Historique	65
b.	Cycle de vie et contamination	66
c.	Nosémose et insecticides.....	68
d.	Symptômes.....	74
α)	Symptômes comportementaux	74
β)	Symptômes physiologiques.....	76
χ)	Symptômes biologiques	78
ε)	Effets sur le système immunitaire	79
D.	Israel Acute Paralysis Virus (IAPV)	81
a.	Historique	81
b.	Caractéristiques	82

c.	Contamination.....	82
d.	Dissémination.....	84
e.	Symptômes moteurs	85
α)	Symptômes comportementaux	87
i.	Apprentissage et mémorisation	87
ii.	Capacité d'orientation	90
E.	Le frelon asiatique <i>Vespa velutina</i>	92
a.	Historique	92
b.	Anatomie.....	94
c.	Alimentation	95
d.	Cycle de vie en Europe	96
e.	Prédation de l'abeille	99
F.	L'agriculture moderne intensive.....	101
a.	Définition et historique.....	101
b.	Impact des modifications de l'habitat sur les abeilles et la diversité florale....	103
c.	Impact des monocultures sur la santé des abeilles.....	105
d.	La pollinisation au service de la monoculture.....	109
IV.	Conclusion	111
V.	Annexes	113
VI.	Table des illustrations	119
Table des figures.....		119
Table des photos.....		121
VII.	Bibliographie.....	122

« C'est la première fois que la civilisation humaine risque de s'effondrer. Nous allons peut-être disparaître à cause des abeilles ». Pr Paul Ehrlich, (2010) Centre de Conservation Biologique, Stanford, USA.

I. Introduction

Dès l'Antiquité, l'abeille a été l'objet d'études par de grands philosophes. Aristote, disciple de Platon, considère au IV^{ème} siècle avant J-C que la ruche est un microcosme indispensable à la compréhension du cosmos dans lequel il évolue. L'Homme et l'abeille travaillent ensemble depuis environ 8000 ans. En Europe, 84% des cultures sont pollinisées par les abeilles (Andrieu et al.,2017). En 2006, 30 à 80% du cheptel mondial disparaît selon les régions (Daniels, 2010). On nomme ce phénomène le « Colony Collapse Disorder » (CCD), ou syndrome d'effondrement des colonies. Depuis 2006, une diminution de plus en plus marquée des colonies et du nombre d'individus par essaim, qu'elles soient sauvages ou non. En Chine, les abeilles ont quasiment disparu, et les paysans sont dans l'obligation de secouer leurs arbres pour polliniser artificiellement leurs terres. Le constat est similaire pour les espèces sauvages d'abeilles et les bourdons. Il existe environ 19000 espèces d'abeilles sauvages, pour lesquelles les disparitions sont signalées depuis 1992. Près de 10% d'entre elles seraient menacés, rien qu'en Europe, d'après une liste rouge établie par l'UICN entre 2012 et 2014 (UICN, 2015). La survie de chaque abeille est étroitement liée à la prospérité de la flore associée, et réciproquement : c'est le principe de coévolution. La pression anthropique, les pesticides dévastateurs, les maladies importées par l'intensification de la mondialisation, l'agriculture intensive et l'anthropisation environnementale pourraient expliquer ce déclin massif. Récemment, c'est plus globalement les insectes qui ont déserté la planète Terre : on parle d'effondrement du monde des invertébrés (Vogel, 2017).

L'abeille est devenue l'image d'un monde naturel fragile qui doit perpétuellement s'adapter aux exigences humaines. Elle est un indicateur essentiel de la santé environnementale et a un rôle fondamental dans le maintien de la biodiversité. Dans ce mémoire, nous abordons et discutons ces différents points.

II. Présentation de l'abeille *Apis mellifera* Linnaeus

A. Description

L'abeille est un insecte hyménoptère. Elle serait apparue il y a environ cent millions d'années, soit en même temps que les plantes à fleurs, dites angiospermes (Clément et al, 2011). Cette division botanique se distingue des gymnospermes par son système reproducteur condensé dans la fleur, qui nécessite une fécondation par une intervention extérieure la plupart du temps. On parle alors de coévolution quand il s'agit des relations étroites entre les fleurs et les insectes pollinisateurs, dont font partie l'abeille domestique et les abeilles sauvages (Daniels, 2010).

a. Morphologie

Comme tous les insectes, elle se compose d'un corps en trois parties : la tête, le thorax et l'abdomen (Chauvin, 1968). Elle possède également une paire d'antennes, trois paires de pattes et deux paires d'ailes (Figure 1). Elle est aussi caractérisée par une respiration trachéenne (Le Conte, 2002). L'ouvrière mesure généralement 11 à 13mm, pour un poids avoisinant les 60mg.

De plus, appartenant à l'ordre des hyménoptères, elle possède les caractères propres à cet ordre (Clément et al., 2011 ; Adam, 2010). Tout d'abord, la métamorphose est complète. Le métathorax est soudé au premier segment abdominal (Apocrite) : cela forme le propodeum. La présence d'un porte-aiguillon et d'un comportement évolué caractérise les Aculéates. De nombreux poils sont disposés sur la cuticule externe de l'abeille. L'alimentation est essentiellement composée de nectar et de pollen, différenciant encore un peu plus les Apoïdes des Vespoïdes. Un système de stockage du pollen existe sous forme de pelote adhésive sur la dernière paire de pattes. Ses deux paires d'ailes membraneuses portent des dessins spécifiques en forme de cellules. Elles sont capables de battre jusqu'à 230 fois par seconde. Enfin, le comportement social particulièrement développé du genre *Apis* les classe dans les Apoïdes supérieurs (Figure 2).

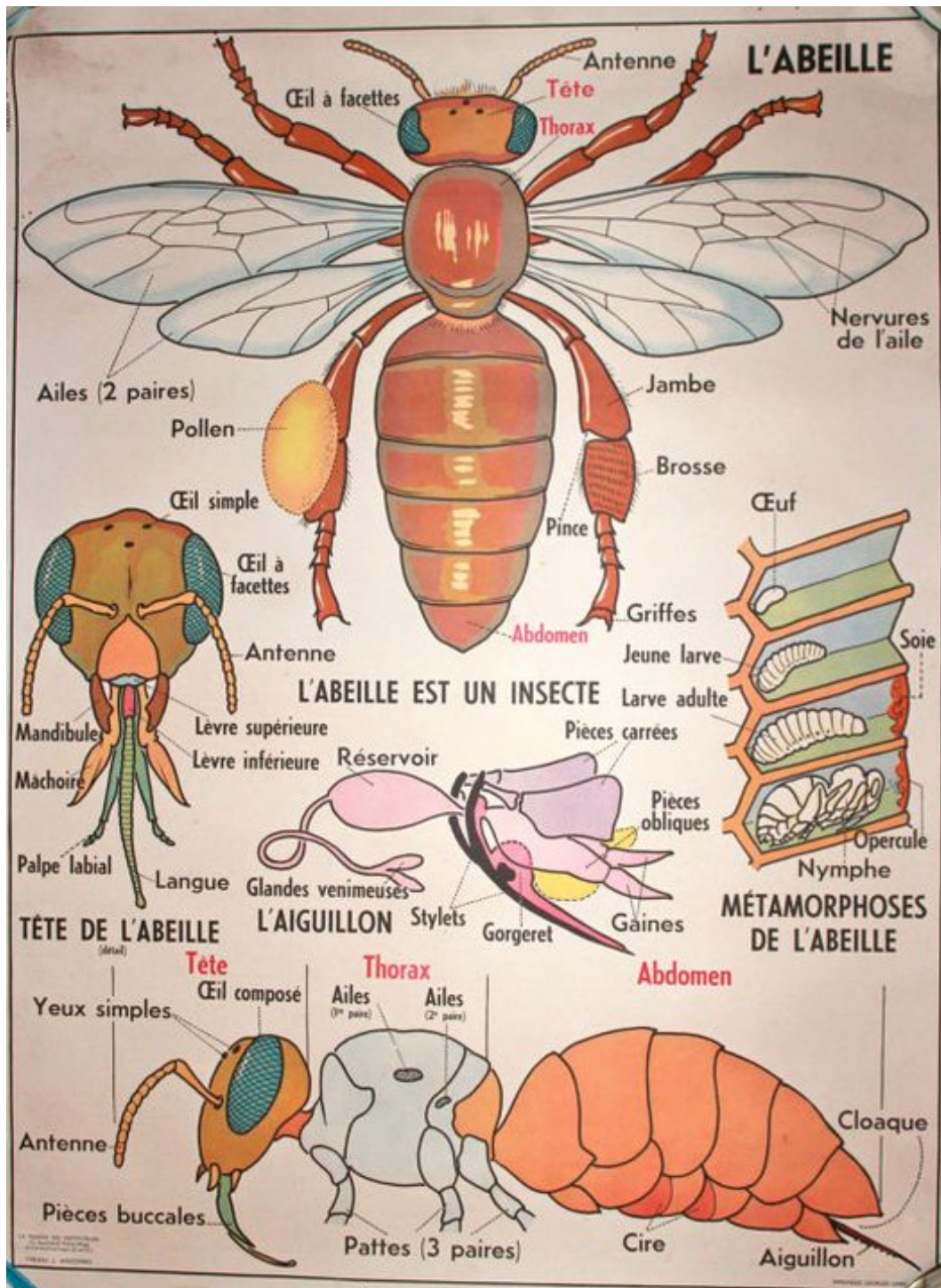


Figure 1 : Anatomie générale externe de l'abeille *Apis mellifera* vue par Deyrolle.

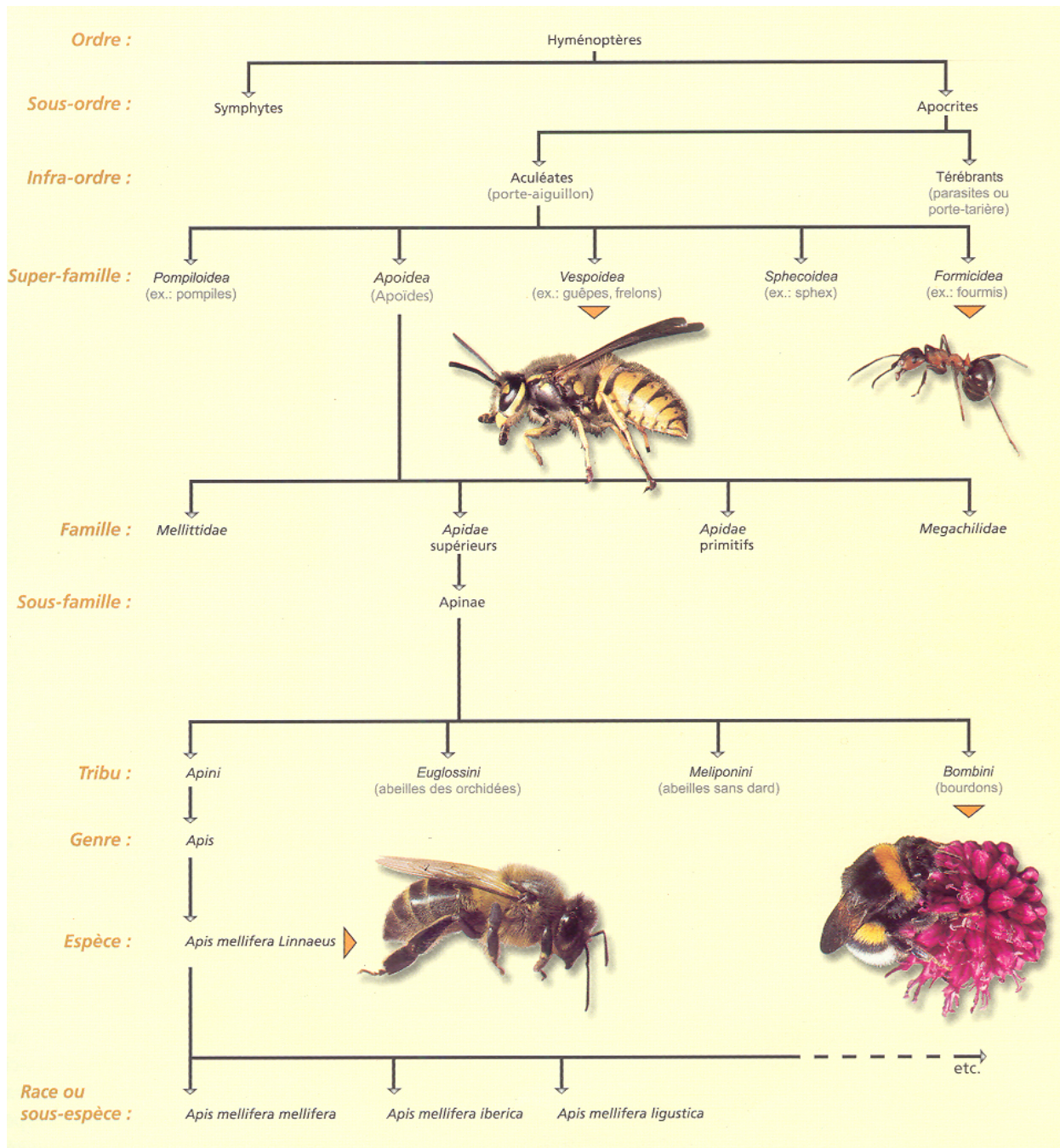


Figure 2 : *Apis mellifera* dans la classification systématique (d'après l'ouvrage de Clément et al., 2015)

b. Comportement social et rôles au sein d'un essaim

Aristote considérait la ruche comme un microcosme, le reflet de la vie à l'échelle de l'univers (Tavoillot & Tavoillot, 2017). La vie de la colonie est très organisée, normée, et chaque individu occupe un rôle précis. Une colonie est formée de trois castes, qui cohabitent et collaborent au sein d'une ruche dans un même but : l'équilibre et la survie (Clément et al., 2015). Selon Aristote, « l'abeille ne fait rien en vain » (Aristote, -300). Elle est donc toujours dans une logique d'harmonie de la colonie, où chaque action a sa place. Elle ne doute de rien, ne s'interroge jamais sur l'intérêt de faire ou ne pas faire, et c'est par le travail et la collaboration avec ses congénères qu'elle est exemplaire (Tavoillot & Tavoillot, 2017).

Chaque caste a une morphologie différente, et un rôle différent à jouer dans la société. On distingue la reine, quelques dizaines de milliers d'ouvrières, et quelques milliers de mâles (Clément et al., 2015).

α) Structure du nid

Le nid est l'élément central de la colonie. Il est organisé en rayons parallèles dont les faces sont arborées de cellules en cire, ou alvéoles, hexagonales regroupant les immatures : œufs, larves et nymphes. L'ensemble est appelé le couvain et possède une situation centrale dans le nid (il en est de même dans une ruche). Il a la forme et la taille d'un ballon de rugby. Le couvain est entouré de cellules remplies de pollen qui est la source d'alimentation protéique la plus importante pour les immatures. Quant au nectar qui est transformé en miel par les ouvrières, il est ponctuellement déversé sur les cellules polliniques (Clément et al., 2015).

β) La reine

La reine a pour fonction principale la reproduction et la descendance de la colonie. Elle pond les œufs, ce qui explique principalement sa différence morphologique avec les autres individus. Elle effectue son premier vol nuptial lors de la première année, et est fécondée par des mâles. Elle emmagasine alors du sperme de différents mâles dans une réserve appelée spermathèque. Lorsqu'elle pond, certains œufs seront fécondés lorsque la spermathèque s'ouvre. Ces œufs donneront des femelles qui seront alors haploïdes ($2n$ chromosomes). Certains œufs ne seront en revanche pas fécondés lorsqu'il n'y a pas d'ouverture de la spermathèque ; ils donneront des mâles haploïdes (n chromosomes) (Clément et al., 2015).

Son second rôle est de réguler l'activité de la colonie par la sécrétion de phéromones (Clément et al., 2011). Les phéromones sont des substances chimiques comparables aux hormones, émises par la plupart des animaux et certains végétaux, qui agissent comme des messagers chimiques entre les individus d'une même espèce.

Il faut 16 jours pour obtenir une reine mature. Une reine se définit dès le premier jour de sa constitution. En effet, les nourrices lui apportent exclusivement de la gelée royale qui lui permettra d'acquérir toutes ses caractéristiques. Elle peut vivre jusqu'à 5 ans.

D'un point de vue morphologique, son thorax est plus gros que celui des ouvrières. Son abdomen est jusqu'à deux fois plus développé que celui d'une ouvrière lors des périodes de ponte. Celui-ci renferme deux ovaires hypertrophiés qui produisent les œufs (Dade, 1994). La spermathèque, ampoule recevant les spermatozoïdes lors de l'accouplement et les conservant durant toute la vie de la reine, est un élément caractéristique de différenciation de la reine, qui lui permet de pondre tout au long de l'année. Enfin, il n'existe pas de pelote adhésive au niveau de la dernière paire de pattes, et son dard est rétractile ce qui lui assure une durée de vie plus importante en cas de piqûre non désirée. De plus, son sac à venin est très développé.

Elle possède également des mandibules très développées, qui renferment les glandes mandibulaires hypertrophiées (Winston, 1991). Ces glandes produisent les

phéromones royales, qui contrôlent les comportements spécifiques des ouvrières et modifient leur physiologie. Par définition, les phéromones sont des substances sécrétées par des individus et qui, reçues par d'autres individus de la même espèce, provoquent une réaction spécifique, un comportement ou une modification biologique (Karlston & Lüsber, 1959). Cinq composés volatiles ont été identifiés. Ils inhibent la production de cellules royales, appelé également l'élevage royal, et le développement ovarien des ouvrières, favorisent la production de cire.

D'autres glandes sécrèteraient aussi des phéromones, dont les propriétés et composés sont encore méconnus, comme les glandes tergales qui pourraient renforcer l'action des composés mandibulaires. La glande de Dufour, spécifique de la reine au niveau génital, favoriserait la reconnaissance des œufs à nourrir par les ouvrières. Enfin, la glande de Koschewenikov sécrèterait des molécules qui attirent les ouvrières près de la reine et permettent la stabilisation de l'essaim (Clément et al., 2011).

χ) Le faux-bourdon

Il s'agit du mâle de l'abeille, appelé ainsi pour sa ressemblance avec le bourdon commun. Son corps est plus trapu. Il est plus grand qu'une ouvrière, et pèse environ deux fois son poids (Clément et al., 2011). Son abdomen est large, et renferme les testicules remplis de deux-cents tubes séminifères produisant les spermatozoïdes. Ceux-ci, stockés dans les vésicules séminales, seront éjectés *via* le canal éjaculateur par l'endophallus. Cette partie va alors se dévagner lors de l'accouplement. Ceci conduira à la mort du mâle qui perd ses organes dévaginés.

Il a des yeux plus développés que la reine et l'ouvrière, ce qui lui permet une orientation en vol plus efficace. De surcroît, ses antennes portent un segment supplémentaire truffé de récepteurs sensoriels.

En revanche, il ne possède pas de dard, de sac pollinique et de glandes cirières, qui permettent la production de cire et donc des cellules de croissance. Ses pièces buccales sont peu développées et ne permettent aucune récolte. Les cellules qui donneront des faux-bourdons sont également plus larges et ont un opercule bombé (Clément et al., 2011).

Leur seule fonction mise en évidence actuellement est la fécondation de la reine entre mai et juillet. Le mois de juin marque sa présence en nombre la plus importante, c'est-à-dire la période de l'essaimage. A la fin de cette période, les ouvrières cessent de les nourrir et les chassent de la ruche, voire les tuent d'une piqûre quand les ressources diminuent considérablement. Il n'a aucune tâche dédiée au sein de la ruche, si ce n'est une éventuelle fonction d'équilibre phéromonal. Il faut 24 jours pour obtenir un mâle mature (Clément et al., 2011).

δ) L'ouvrière

L'ouvrière représente la majorité d'une colonie. C'est la caste la plus importante, qui possède la plus grande adaptabilité comportementale et physiologique. Elle exerce différents rôles, rendus possibles par une morphologie et une physiologie unique.

D'un point de vue morphologique, elle correspond en tout point à l'abeille type décrite en introduction. Langue développée, pelotes adhésives sur les dernières pattes et glandes cirières lui permettent de remplir sa fonction de butineuse la plupart du temps.

En revanche, c'est par son système glandulaire unique qu'elle se distingue des autres castes. Les différences marquées avec la reine et les mâles sont le fruit de la présence de glandes aux diverses fonctions. Les glandes cirières, au nombre de huit, permettent la production de cire et donc des cellules de croissance. Les glandes hypopharyngiennes des jeunes ouvrières sécrètent des substances destinées à nourrir les larves ; tandis que celles des ouvrières plus âgées sécrètent des enzymes permettant la maturation du nectar, et notamment l'élaboration du miel, qui est une source essentielle d'énergie pour les ouvrières et les larves de mâles et d'ouvrières. Les ouvrières ont également un rôle de recrutement lors d'un danger. En effet, c'est grâce à la présence de glandes mandibulaires sécrétant une phéromone d'alarme qu'il leur est possible de recruter les autres individus (Clément et al., 2011).

La glande de Nasanov est la dernière particularité de l'ouvrière. Cette glande produit une phéromone de rappel, c'est-à-dire qu'elle maintient la cohésion de l'essaim, lors de l'essaimage en particulier (Clément et al., 2011)

Son système reproducteur est inhibé par les phéromones de la reine, mais il existe, notamment par la présence de quelques ovarioles alors que la reine en possède quelques centaines.

Il faut 21 jours pour obtenir une ouvrière mature chez *Apis mellifera*. C'est une information et une durée qui a son importance pour la suite puisque c'est en partie à cause de cette durée que l'abeille est menacée par certains pathogènes virulents (Clément et al., 2011).

Hormis les rôles communs de butinage, les études ont montré que les ouvrières sont en général spécialisées dans une seule tâche selon deux critères : son âge et la régulation de la plasticité comportementale, selon les besoins. Généralement, le rôle de l'abeille évolue de l'intérieur de la ruche vers l'extérieur avec le temps qui passe. C'est un comportement qui se retrouve chez la plupart des insectes sociaux.

i. La nettoyeuse

Les jeunes abeilles, à peine émergentes, se voient déjà confier une mission de nettoyage des cellules : on les appelle les nettoyeuses. Leur rôle est de nettoyer la cellule le mieux possible avant que celle-ci accueille à nouveau un œuf, ou accueille de la nourriture (pollen ou nectar). Les abeilles ont alors en général entre vingt et cinquante jours. Elles nettoient exclusivement la cellule dans laquelle elles sont nées. Si la cellule n'est pas nettoyée, la reine ne pondra pas et cela peut devenir critique au bout de quelques jours dans le cas où une maladie toucherait les jeunes abeilles. Ce travail nécessite environ quarante minutes par cellule et mobilise trente ouvrières successives. Il s'agit d'évacuer les restes d'abeilles, de nourriture et de fèces laissées par les nymphes (Clément et al., 2011)

Une deuxième population de nettoyeuses, plus âgée, s'occupe de nettoyer le fond de la ruche, où l'on retrouve des débris de couvains, d'opercules, de mues successives etc. Ces nettoyeuses remplissent cette tâche à partir de leur quinzième jour et cela évite la putréfaction de déchets abandonnés. Elles sont également capables d'évacuer les individus morts à l'extérieur de la ruche, ce qui permet d'éclaircir et purifier la ruche si l'individu était malade.

ii. La nourrice

C'est la deuxième étape de maturation généralement observée chez l'abeille. Après une dizaine de jours, la nettoyeuse va devenir nourrice. Elle va s'occuper du couvain et de l'élaboration des rayons. C'est à cette période que le système glandulaire est le plus développé, notamment pour les fonctions de nutrition et de construction (Clément et al., 2011).

Les nourrices reconnaissent le couvain immature en partie grâce à l'émission de phéromones par les œufs, les larves et les nymphes. Ces composés permettent non seulement la reconnaissance, mais aussi la stimulation importante des glandes hypopharyngiennes, qui sécrètent des substances nutritives et transforment le nectar en miel. De plus, on sait désormais que d'autres phéromones vont inhiber le développement ovarien chez les ouvrières, ce qui leur permet de se concentrer sur leur fonction de nutrition.

Enfin, l'émission de ces substances volatiles leur permet de différencier la nature et l'origine des signaux chimiques propres à chaque stade de développement. Ainsi, elles ont la capacité d'apporter une nourriture différente en fonction de l'individu à nourrir, de l'enrichir plus ou moins en pollen, donc en protéines, gelée royale ou miel.

Depuis quelques années, on sait également que de vieilles butineuses sont capables de redevenir physiologiquement nourrices ; elles ont la capacité à redévelopper leur système glandulaire hypopharyngée : c'est la régulation comportementale, ou plasticité comportementale (Clément et al., 2011). En fonction des besoins de l'essaim, et afin d'assurer la continuité dans le développement et l'apport de la nourriture, les fonctions de butineuse et de nourrice sont réversibles.

L'hormone juvénile, un activateur, est à l'origine du comportement de butinage, tandis que les phéromones royales et du couvain vont plutôt inciter les nourrices à rester à l'intérieur de la ruche (Clément et al., 2011).

iii. L'architecte et la maçonne

Ces catégories d'abeilles sont responsables de l'élaboration des alvéoles, ou cellules, et des rayons. Elles en assurent également l'entretien, voire même la réparation. Ces catégories répondent aux stimuli de la reine, les phéromones sécrétées par les glandes mandibulaires de celle-ci, qui stimulent la production de cire (Clément et al., 2011).

La construction des cellules est un travail de groupe rendu possible par la coordination des travaux individuels de chacune d'entre elles. Les glandes cirières sont au nombre de huit : quatre paires situées sous les sternites abdominaux. Elles atteignent leur capacité de production maximale entre le cinquième et le vingtième jour de vie. La cire est un mélange de salive et de petites écailles, le tout étant malaxée par les mandibules des maçonnes. Il existe deux types de cellules : les cellules d'ouvrières, plus petites, non bombées, et les cellules de mâle, plus imposantes et avec un opercule bombé.

D'autres abeilles, âgées de deux à vingt-cinq jours, operculent les alvéoles larvaires. Au moment de la nymphose, marquant le début du dernier stade de développement, les larves émettent un signal phéromonal indiquant qu'elles sont prêtes à être operculées.

Pour terminer, les travaux d'entretien sont réalisés par les abeilles plus âgées, qui ont la capacité de boucher les failles à l'aide de la propolis

iv. La manutentionnaire

C'est la population d'abeille qui s'occupe de la gestion de la récolte des butineuses. Dans un premier temps, la butineuse revient à la ruche, chargée de pollen sur ses pelotes et de nectar dans son jabot, qui l'organe de stockage des liquides, mais aussi l'organe de transit de la nourriture. L'âge moyen d'une manutentionnaire est de quinze jours (Clément et al., 2011).

Pour décharger le nectar, un échange s'opère entre la butineuse et la manutentionnaire : c'est la trophallaxie. La receveuse aspire avec sa langue le nectar en provenance du jabot de la butineuse.

Dans un second temps, la manutentionnaire régurgite et ingurgite plusieurs fois le butin, ce qui transforme le nectar en miel. C'est à ce moment là que les enzymes nécessaires à la fabrication du miel sont ajoutées à la préparation. L'obtention du miel dure quelques jours, et l'on reconnaît les cellules mellifères par le fait qu'elles ne sont pas operculées par le de la cire, contrairement aux alvéoles de couvain.

Enfin, la récolte du pollen s'effectue par les manutentionnaires, qui frottent les pelotes avec leurs mandibules, en y ajoutant salive et miel. Il sera ensuite stocké dans une cellule, recouverte de miel (Clément et al., 2011).

v. La ventileuse

La ventileuse a un rôle essentiel au sein de la colonie. Elle permet de maintenir un milieu propice à la vie de l'essaim, en particulier la température qui ne doit pas excéder 36°C. La ventilation permet également de diminuer le taux de CO₂ et l'hygrométrie, et donc limite la putréfaction au sein du nid. L'évaporation de l'eau favorise également, sous l'action des enzymes, la transformation du nectar en miel. Pour cela, elles se placent à l'entrée de la ruche, tête tournée vers l'entrée, lèvent leur abdomen et battent des ailes tout en s'agrippant au support (Clément et al., 2011).

vi. La gardienne et le soldat

La gardienne a un rôle de vigile et de contrôle des individus de sa colonie. Chaque colonie possède une odeur propre, composée en partie de produits cuticulaires. En période de faible récolte, il arrive que des abeilles de colonies voisines tentent de s'introduire dans la ruche. Le rôle de la gardienne est alors primordial, non seulement pour assurer la défense de la récolte, mais également pour empêcher tout individu potentiellement malade de s'introduire dans la ruche. Une posture caractéristique et une sécrétion de phéromones d'alarme par les glandes mandibulaires permettront de recruter les soldats restés postés à l'intérieur de la ruche, si le danger persiste.

Il s'agit d'une fonction de transition entre l'intérieur et l'extérieur, généralement exercée par des abeilles âgées de douze à vingt-cinq jours.

vii. La butineuse

Le butinage est essentiellement pratiqué par les abeilles les plus âgées. Généralement, elles débutent cette activité à partir du 21^{ème} jour, bien que, selon les colonies, ce travail puisse être bien plus précoce. Le travail consiste en la récolte du nectar, aliment énergétique essentiel au couvain, mais également du pollen, qui constitue l'apport protéique nécessaire à la croissance larvaire.

Cette phase dure en moyenne cinq jours, et l'abeille mourra. Mais c'est surtout la distance parcourue en vol qui est importante et semble déterminer la longévité de la butineuse. Dans le cas actuel de la raréfaction des prairies sauvages, les distances s'allongent exponentiellement et les abeilles sembleraient se fatiguer, effectuer moins de voyages, et récolter moins de miel, ce qui entraînerait la chute de toute la colonie (Clément et al., 2011)..

Grâce à ce travail répétitif, une colonie peut récolter jusqu'à 5 kilogrammes de nectar par jour. La récolte du pollen s'effectue dans le même temps. Les ouvrières sont adaptées morphologiquement à la récolte, grâce à la présence de pelotes adhésives sur la dernière paire de pattes (Clément et al., 2011)

Les butineuses sont mixtes ou spécialisées. Le ratio « butineuse de nectar/butineuse de pollen » dépend grandement de la signalisation chimique du couvain avec les butineuses. Le couvain a généralement besoin de beaucoup de pollen riche en protéines, tandis que les abeilles ingèrent plus de miel, qui représente l'énergie immédiate pour effectuer les tâches, une fois la croissance terminée.

B. Rôle dans la pollinisation

a. Définition de la pollinisation

La pollinisation est l'acte primaire de la fécondation, qui consiste à transporter le pollen des anthères productrices jusqu'aux stigmates d'un individu compatible. Si le pollen est compatible, et si le stigmate est réceptif, alors la germination du grain de pollen aura lieu, et permettra d'amener les noyaux spermatiques jusqu'aux ovules et aux sac embryonnaires, provoquant ainsi la fécondation. Les ovules correspondront aux graines et l'ovaire formera le fruit.

b. Principes et méthodes de pollinisation

α) Pollinisation anémophile ou anémogamie

La pollinisation anémophile est la pollinisation par le vent. Elle concerne majoritairement les gymnospermes et les poacées.

Dans le cas des Gymnospermes, les grains de pollen mâle (=microspores) se déforment sur leur partie extérieure, se gonflent littéralement et se remplissent d'air, augmentant ainsi extrêmement leur volume, ce qui permet leur transport par le vent jusqu'aux cônes femelles, les macrospores (Dupont & Guignard, 2007). Ces cônes femelles disposent généralement d'une substance mucilagineuse afin de retenir les microspores. Une fois le sommet de l'ovule atteint, le pollen va pouvoir germer, former un tube pollinique, qui pénétrera jusqu'à l'ovule afin d'y libérer le gamète mâle au plus près de l'oosphère pour provoquer la fécondation (Dupont & Guignard, 2007). Ce type de pollinisation amène donc souvent à une allogamie, autrement dit une pollinisation croisée (Botarela, 2017).

Dans le cas des Poacées, qui sont des angiospermes qui regroupant un grand nombre de céréales sur Terre, la fleur est très spécialisée, et bisexuée, sauf chez le maïs où elle est unisexuée. Elle possède trois étamines qui portent le pollen abondant. Ces étamines possèdent un filet très long, qui n'a de cesse de grandir au fur et à mesure que le pollen devient mature (Dupont & Guignard, 2007). Les anthères au bout des filets sont donc littéralement lâchées dans le vide et se balancent ainsi au gré du vent. Le pollen atteint ensuite les stigmates généralement plumeux qui immobilisent les futurs gamètes mâles. Ce mécanisme est non seulement favorable à la dissémination du pollen mais également à la pollinisation croisée, qui permet le brassage génétique interindividuel sur de grandes superficies (Dupont & Guignard, 2007). Pour favoriser au mieux ce brassage, les Poacées ont également développé un caractère remarquable ; afin d'éviter toute pollinisation intra-individuelle, l'autogamie, la maturation des organes mâle et femelle est différée : on appelle ceci la protandrie (Botarela, 2017). Ainsi, il est préféré, dans des conditions climatiques favorables, une anémogamie.

En revanche, cette fleur est visuellement très simple. En effet, cette famille a largement pris l'option de développer ses capacités de production de pollen aux dépens d'une morphologie de visu agréable et colorée. De même, on ne retrouve pas de fragrance et de nectar sur ce type de fleur. La production démesurée de pollens explique en partie les allergies et autres rhumes des foins de juin à août, période correspondant à la pollinisation de ces espèces.

β) Pollinisation entomophile, ou entomogamie

Le rôle des insectes dans la pollinisation est décrit depuis le XVIII^{ème} siècle. Joseph Kölreuter fut le premier à décrire cette étape primordiale pour la reproduction des végétaux supérieurs. Darwin ne fit qu'apporter de nouvelles observations au cours du XIX^{ème} siècle. Il compléta les connaissances déjà existantes en s'appuyant sur l'examen des bourdons et leur interaction avec les trèfles à fleurs violettes et la pensée sauvage, dans son ouvrage « L'origine des espèces » (Pouvreau, 1983).

Les angiospermes ont développé de nombreux atouts afin d'assurer aux mieux la pérennité de l'espèce. Le premier atout pour la majorité des espèces de cette division est l'apparition de la fleur, qui porte généralement l'appareil reproducteur mâle et femelle : on parle de fleur bisexuée ou hermaphrodite. Il arrive également que l'espèce porte des fleurs unisexuées, on parle alors d'espèce monoïque, mais la pollinisation reste extrêmement facile puisque l'androcée et le gynécée sont sur le même individu. Le cas le plus compliqué et le plus rare concerne les espèces dioïques, comme le sont les gymnospermes, où deux individus différents portent uniquement des fleurs monosexuées, et dont la pollinisation ne dépend plus que très peu des insectes.

Ensuite, les angiospermes ont développé des caractères propres à la fleur. En premier lieu, la couleur occupe une place importante dans l'attractivité des insectes. Le parfum est également une stratégie adoptée, particulièrement par les dicotylédones. A ce parfum s'ajoute le nectar, substance sucrée qui attire les insectes. Cet atout se retrouve largement chez les plantes dites mellitophiles. Les Lamiacées sont l'exemple parfait de cette adaptation. Enfin la forme de la fleur apparaît essentielle pour l'une des familles botaniques les plus diversifiées : les orchidées ont développé des fleurs qui s'apparentent à des leurres visuels et olfactifs pour les insectes : on parle de mimétisme entomorphique. Cette capacité nécessite une importante spécialisation et une forte dépendance à l'espèce pollinisatrice. Ceci explique en partie la menace qui pèse sur cette famille si les pollinisateurs venaient à disparaître.

Avec l'évolution des angiospermes, on a observé également une évolution des insectes pouvant transporter le pollen. Les fleurs les plus primitives possèdent beaucoup de pétales et sépales afin d'attirer les insectes les plus imposants, voire même les oiseaux et les mammifères. On parle de zoogamie. Les insectes brouteurs font d'abord leur apparition, tels que les hannetons.

Puis la fleur va évoluer et les stratégies diffèrent. En effet, la production de nombreux pétales et sépales nécessite énormément d'énergie pour la plante, et l'évolution montre que l'on se dirige toujours vers une économie d'énergie pour un maximum de rendement. La deuxième étape de l'évolution est l'apparition des parfums qui sont des substances à base d'acides aminés attirant les diptères, les lépidoptères, etc. Les hyménoptères, dont font partie les abeilles, interviennent lors de l'apparition d'une substance sucrée, le nectar, sécrétée par des organes spécifiques, les glandes nectaires, situées au fond de la corolle des fleurs. Pour y accéder, la butineuse doit pénétrer dans la fleur et allonger sa langue pour le récolter, récoltant au passage le pollen qui s'accroche sur ses pelotes.

Enfin, l'ultime évolution pour faciliter la pollinisation est l'imitation par la fleur des insectes femelles, afin que les mâles soient attirés et accrochent lors du butinage quelques précieux grains de pollen.

Si on prend le cas où la fleur porte l'androcée et le gynécée, la pollinisation est complètement facilitée. Deux choix s'offrent alors à la fleur : la pollinisation croisée par le transport de pollen *via* les insectes, permettant un brassage génétique important et une sélection naturelle importante pour la survie, ou l'autogamie permettant à la fleur d'assurer sa survie en cas de conditions défavorables ou en cas d'absence d'insecte lécheur-suceur.

En ne tenant compte que des abeilles mellifères, Bernard Vaissière estime qu'elles sont responsables de 30% de la pollinisation totale des cultures fruitières de la planète (Daniels, 2009). Il existe toujours un lien entre la faune pollinisatrice et la flore présente : on parle de coévolution. Par contre, dans le cas des abeilles, il est difficile de déterminer le nombre d'abeilles nécessaires pour polliniser un hectare de

cultures, même si l'Institut National de Recherche Agronomique (INRA) y travaille actuellement.

C. Le déclin des populations : le CCD, qu'est ce que c'est ?

a. Histoire des déclin

La disparition des colonies d'abeilles est un phénomène normal dans la nature. Une colonie naît, vit, puis meurt comme tout organisme vivant. Flemming décrit des pertes importantes en Irlande durant le Moyen Age, tandis que l'université de Pennsylvanie décrit des pertes importantes en 1869 à travers le monde (Albouy & Le Conte, 2014). En Provence, on observe une diminution des colonies, bien avant le CCD. Les premiers pesticides font leur apparition après la deuxième guerre mondiale. Les haies sauvages sont arrachées, et remplacées par de grandes étendues de culture intensive. Les prairies sauvages de marjolaine et de chardon disparaissent. Selon Peter Kevan, entomologiste américain, des problèmes de pollinisation et de production apparaissent. C'est le cas en Chine, en Inde, au Pakistan pour les pommes, mais encore en Israël dans la production des melons. En 2005, une première crise de pollinisation survient dans les cultures d'amandiers, en Californie. On oblige alors l'importation de quinze mille colonies d'abeilles d'Australie pour polliniser les amandiers (Daniels, 2010).

Les chiffres admis de disparition naturelle sont de l'ordre de 10% par an. Depuis 1945 certains apiculteurs américains et allemands ont mis en évidence des mortalités de près de 30% tous les deux à sept ans d'origine connue : acariose au début du XX^{ème} siècle, varroase dans les années 80. Seulement, depuis 1990, les pertes s'accroissent à travers le monde, dont la France en 1997 qui subira de nombreuses désertions de ruches sans explication. Les pertes importantes et au-delà des 15% se sont multipliées.

b. Le CCD : origines et définition

En 2006, David Hackenberg, un apiculteur professionnel américain est témoin pour la première fois de ce qui sera plus tard nommé le CCD : Collapse Colony Disorder, ou syndrome d'effondrement de colonies. Il sera le premier à relayer l'information à l'hiver 2007, et les médias participeront au lancement de l'alerte. Ce phénomène cause jusqu'à 90% de disparition des colonies chez certains apiculteurs du Colorado, du Kentucky. Vingt-quatre états américains seront concernés d'après le département américain à l'agriculture (USDA), pour un total d'un million et demi de ruches désertées sur un totale de 2,4 millions. Le phénomène s'étend à Taiwan, en Allemagne, en France où les mortalités varient entre 15 et 95% selon les apiculteurs (Albouy & Le Conte, 2014). En 2007, des mortalités massives surviennent en Chine, Amérique du Sud, Taïwan ou encore en Croatie : 5 millions d'abeilles retrouvées mortes en 48h, soit environ 250 colonies (Daniels, 2010).

Pour May Berenbaum, une entomologiste américaine, le CCD se définit comme « la disparition soudaine et massive des ouvrières, laissant derrière elles de la nourriture, des larves en bonne santé et une reine, sans corps autour des ruches » (Daniels, 2010). La reine est généralement présente dans la ruche, entourée de quelques jeunes abeilles, et les réserves de pollen et de miel sont importantes, ce qui indique que ce n'est pas une mort de faim. Les abeilles restantes n'ont plus d'appétit. Les ruches victimes sont généralement proches les unes des autres. Enfin, une dernière énigme intrigue les chercheurs. Habituellement, les ruches vides et vivantes sont rapidement pillées par les insectes ou d'autres colonies, mais également par la fausse teigne qui détruit le couvain. Dans les colonies affectées par le CCD, elles ne sont pas touchées par le pillage : c'est un peu « comme si ces insectes savaient que rentrer dans la ruche, c'est dangereux » selon le professeur américain Richard N. Boisvert (Albouy & Le Conte, 2014)

c. Le CCD à l'échelle mondiale

Aux Etats-Unis, des groupes d'experts sont rassemblés pour tenter de comprendre le phénomène du CCD. Ils mettent aussitôt en place des procédures visant à déterminer les pertes auprès des apiculteurs professionnels. Aux Etats-Unis, les mortalités oscillent entre 22 et 36% en moyenne entre l'hiver 2006-2007 et l'hiver 2012-2013 (Albouy & Le Conte, 2014). Le Canada semble également touché. L'Amérique latine semble épargnée, hormis le Brésil. L'Afrique subsaharienne est indemne. Seuls la vallée du Nil et le Maghreb présentent des pertes au-delà des 30%, tout comme le Japon et Taiwan. Enfin, l'Australie, de part son isolement, ne fait pas part de pertes supérieures à la normale (Albouy & Le Conte, 2014).

En Europe, le même travail est effectué *via* une initiative de l'Autorité Européenne de Sécurité des Aliments (EFSA). Les comptages de mortalité sont lancés dans vingt-deux pays, et révèlent en 2009 des pertes supérieures à celles observées aux Etats-Unis sur la même période pour treize pays européens (Albouy & Le Conte, 2014 ; Figure 3). Par ailleurs, le réseau COLOSS (acronyme de Colony Losses, pertes de colonies en anglais) est créé en 2008. Il regroupe 240 scientifiques, apiculteurs et industriels de 58 pays d'Europe, d'Amérique et d'Asie. L'objectif principal est de coordonner au niveau international la lutte contre les pertes de colonies. Leur travail est orienté en quatre axes principaux : monitoring et diagnostic, nuisibles et pathogènes, environnement et apiculture, diversité et vitalité (ITSAP, 2011).

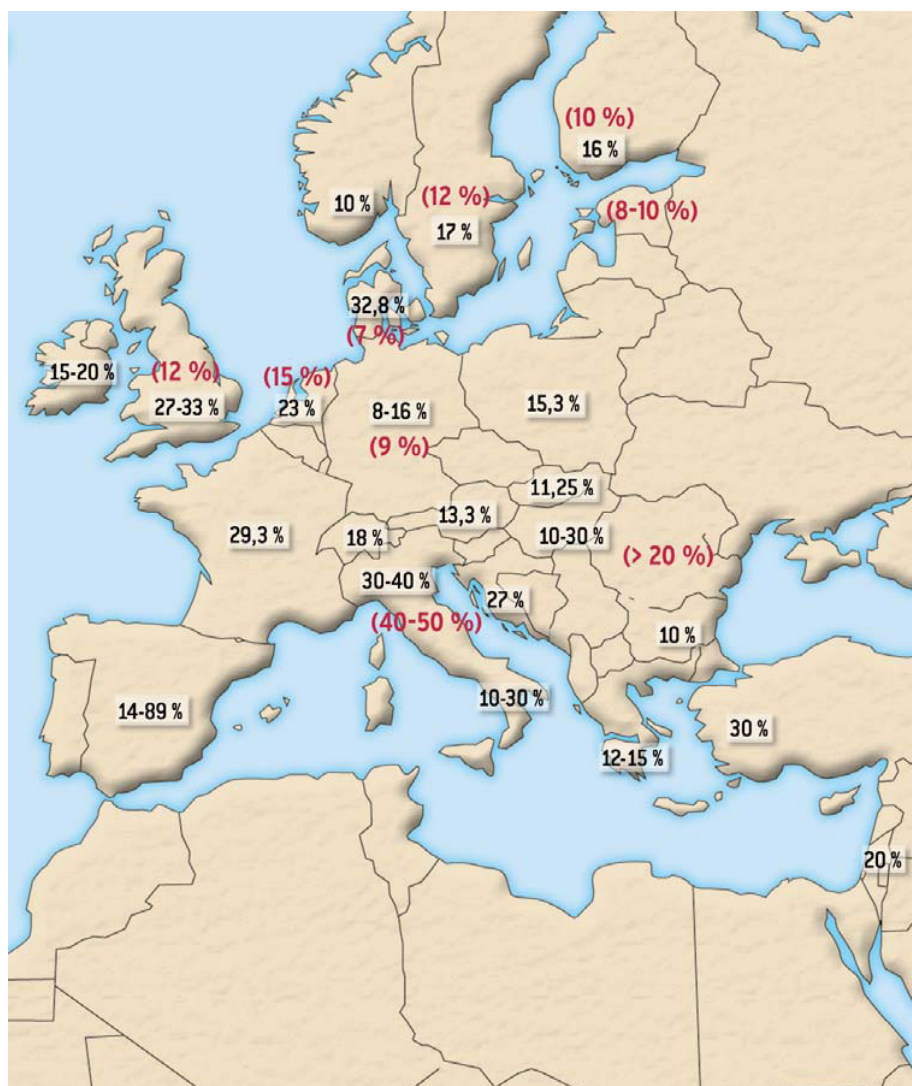


Figure 3 : Carte d'Europe des mortalités au début de la crise. En rouge : taux de mortalité pour les années 2006 et 2007 obtenus par l'EFSA après enquête auprès des pays membre (d'après the EFSA Journal 154, 1-28). En noir : taux de mortalité en 2007 et 2008, présenté au congrès scientifique de Zagreb en mars 2009 (d'après Pour la Science n°379, mai 2009).

Une étude européenne, financée par l'Union Européenne, a été lancée entre 2012 et 2014 à travers l'Europe : EPILOBEE. Le laboratoire de l'ANSES Sophia Antipolis, qui est depuis 2012 le laboratoire de référence pour la santé de l'abeille, avait été mandaté pour coordonner ce programme de surveillance active de la mortalité des colonies d'abeilles en Europe. Le programme avait principalement mis en place des critères harmonisés dans l'ensemble de l'Union afin de détecter les affaiblissements et les pathologies infectieuses à travers les pays. Bien qu'il ne s'intéressât pas à la présence des pesticides, il avait pour vocation de fournir des axes potentiels de recherches pour déterminer les facteurs à l'origine des mortalités importantes constatées. Durant les années du projet, près de 180 000 ruches ont été

visitées (ANSES, 2017). Les taux de mortalités sont globalement plus faibles la deuxième année, avec des mortalités allant de 2,4 à 15,4% en 2014 (contre 3,2 à 32,4% l'hiver précédent) (annexes 2 & 3). De plus, une tendance à la baisse des maladies infectieuses est enregistrée, hormis pour *Varroa destructor*, acarien parasite répandu depuis les années 80, qui est détecté dans une majorité des pays européens. L'analyse de l'ensemble des données permettra d'explorer les liens statistiques entre les mortalités observées et les facteurs de risque impactant la santé des abeilles. Les missions de l'ANSES ont également été élargies afin d'évaluer les risques liés aux produits phytosanitaires pour l'environnement, et en particulier pour les abeilles (ANSES, 2017).

En France, l'ITSAP (Institut Technique et Scientifique de l'Abeille et de la Pollinisation) réalise un suivi des pertes hivernales auprès de 800 exploitations apicoles professionnelles, possédant chacune plus de 150 ruches. Les données de mortalité et de l'état de santé des ruches sont récoltées. Entre 2007 et 2013, les pertes s'élèvent entre 23 et 30% (Albouy & Le Conte, 2014). Ces chiffres sont à nuancer puisque toutes les pertes ne sont pas attribuables au CCD. Le bilan de l'état de santé des ruchers fait également part des colonies faibles, c'est-à-dire que la reine est morte ou stérile (Albouy & Le Conte, 2014).

Que le CCD soit considéré seul ou pas, le sujet préoccupe, à juste titre, les autorités européennes qui dressent régulièrement un constat alarmant de l'état de la biodiversité actuelle. L'abeille est un engrenage parmi d'autres. Et elle risque de disparaître d'Europe si la situation ne s'améliore pas, d'après plusieurs députés européens ayant écrit une tribune alarmante de la filière apicole européenne (Andrieu et al., 2017). Les insectes sont également touchés par ces effondrements massifs d'invertébrés. Outre les causes phytosanitaires et biologiques, il existe un réel problème de transformation des paysages par l'agriculture, qui supprime bon nombre d'habitats (Vogel, 2017). On parle donc et bel et bien d'un problème multifactoriel (Daniels, 2010). La disparition des prairies, des haies, des bocages, et les changements climatiques majeurs à venir pourrait également contribuer à l'effondrement de tous les écosystèmes sur Terre.

III. Causes de la disparition des abeilles dans le CCD et effets sur les abeilles

Les abeilles sont des êtres fragiles, l'image d'un écosystème en déclin depuis plus d'un siècle. Comme chaque espèce vivant sur Terre, elles sont déjà victimes de leurs prédateurs naturels. Mais l'on va voir que cette prédation s'est intensifiée par l'action de l'Homme : mondialisation, intensification des échanges commerciaux incontrôlables, introduction d'insecticides diminuant les capacités de défense de l'abeille face à d'autres facteurs de stress, perturbations et modifications majeures du milieu naturel comme l'urbanisation croissante, l'exploitation des ressources naturelles, ou encore le changement climatique. Une étude américaine avait d'ailleurs tenté de déterminer les responsables en comparant l'expression génique des colonies saines et des colonies infectées ; cependant, celle-ci n'apporta pas les informations tant attendues (Johnson et al., 2009).

Il ne s'agit pas de faire une liste exhaustive des paramètres influençant la disparition progressive de l'abeille domestique, mais de comprendre les principales origines de cet effondrement et les interactions qui existent entre chaque paramètre. La difficulté est là : il s'agit d'un système en faillite dans sa globalité, dont les causes et les enjeux peinent à être compris.

A. Les insecticides : néonicotinoïdes et fipronil

En 1990, les principaux pesticides utilisés étaient les carbamates et les organophosphorés. Mais au début des années 1980, les principaux insectes nuisibles développent des résistances à ces grandes familles. De plus, leur persistance dans l'environnement et leurs risques d'utilisation pour l'Homme amènent les industriels du monde entier à réfléchir à des solutions plus durables (Georghiou and Mellon 1983; Denholm et al. 1998; Alyokhin et al. 2008). Les néonicotinoïdes et le fipronil sont alors présentés comme des alternatives intéressants pour leurs propriétés : faible efficacité de liaison aux vertébrés par rapport aux invertébrés, toxicité sélective pour les arthropodes, persistance élevée, caractère systémique, polyvalence d'application (en particulier traitement des semences), solubilité élevée dans l'eau et impacts plus faibles sur les poissons et autres vertébrés. En 2008, les néonicotinoïdes, nouvelle classe depuis la découverte de l'imidaclopride en 1991 (Tomizawa & Casida, 2011), représentent près d'un quart des ventes totales de pesticides dans le monde, pour un marché estimé à près de 3 milliards de dollars américains, dont un milliard rien que l'imidaclopride (Jeschke et al., 2011). Entre 2003 et 2008, les ventes globales de tous les néonicotinoïdes ont bondi de plus de 240%, avec des disparités importantes selon les molécules (Simon-Delso et al., 2015). Cette même année, l'imidaclopride, chef de file de la classe commercialisé par Bayer, devient le deuxième insecticide le plus utilisé dans le monde, juste derrière le glyphosate (Pollack, 2011). Les différentes cultures sur lesquelles ils sont utilisés sont croissantes, et les surfaces traitées augmentent de manière exponentielle (Simon-Delso et al., 2015) (cf. annexes 5,6,7). Les laboratoires innovent également dans les formulations et les associations de molécules fongicides, insecticides et herbicides pour renforcer l'efficacité et lutter contre les nouvelles résistances (Simon-Delso et al., 2015). Le fipronil, développé par une compagnie française désormais englouti par Bayer, a vu le jour en 1987 (Tingle et al., 2003). Il est le seul représentant de sa famille à avoir des propriétés insecticides, et représente environ 3% des ventes. Inoffensif pour les animaux à sang chaud (Tingle et al., 2003), il apparaît rapidement comme nocif pour un certain nombre d'apides sauvages et pour *Apis mellifera*, ce qui conduira à son interdiction en 2013 sur les cultures de maïs (EFSA, 2013).

a. Néonicotinoïdes

Les quatre principales molécules qui seront citées ici seront le thiaclopride, l'imidaclopride, le thiamethoxam et la clothianidine, qui sont les produits régulièrement décriés par les apiculteurs.

α) Historique

De 1994 à 1996, on observe une baisse de la production de miel d'environ 60% (Daniels, 2010). On fait également face à une situation inédite : la disparition des abeilles lors de la floraison des tournesols. Bayer vient alors d'introduire l'imidaclopride (Gaucho®) pour les tournesols. Les mêmes problèmes sont observés dans différents pays où ces produits ont été maintenus. On s'aperçoit même que la plante contient ce même insecticide, qui rend la plante totalement toxique avec des teneurs de l'ordre de quelques milligrammes. Dans le cas de la clothianidine, on retrouve des colonies décimées contenant à peine 1ng d'insecticide par abeille, alors même que les DL50 sont estimées pour ce produit aux alentours de 4ng/abeille. Bayer ne reconnaît pas sa responsabilité dans ces surmortalités, mais acceptera tout de même de dédommager les apiculteurs à hauteur de deux millions d'euros (Daniels, 2010). Les seuils de toxicité ont-ils été, volontairement ou involontairement sous-évalués ? Existe-t-il d'autres explications à l'apparition soudaine de tels phénomènes ? Depuis une dizaine d'années, les recherches sur le sujet se sont multipliées, et des ébauches de réponse voient le jour, même s'il s'agit certainement d'un problème multifactoriel, qui a entraîné près de 36% de perte de colonies à travers le monde (Daniels, 2010). En effet, les dernières études montrent que les insecticides sont plus toxiques pour les colonies, quand ils sont utilisés en synergie, ou combinés à d'autres facteurs biologiques tels que les viroses, acarioses ou encore la nosébose.

β) Présentation

Les néonicotinoïdes sont des molécules neurotoxiques au nombre de dix actuellement (annexe 4). Ils agissent directement sur les récepteurs à l'acétylcholine, en bloquant la transmission nerveuse, ce qui entraîne une paralysie et la mort de l'insecte ravageur visé. Ils sont généralement utilisés sur les cultures de coton, de maïs, betterave, etc.. Ils sont les plus vendus en 2010, avec une part de marché de 24% (Casida & Durkin, 2013).

Leur présence dans le monde agricole remonte à 1991 avec l'arrivée de l'imidaclopride (Gaucho®) (Vincent Tardieu, 2009 ; Tomizawa & Casida, 2011). Ils sont inscrits sur l'annexe 1 de la directive 91/414/CEE en 2007 (Aufauvre, 2013). L'EFSA a publié un rapport en 2013 qui montre la toxicité de trois néonicotinoïdes pour les abeilles : l'imidaclopride (Gaucho®), la clothianidine (Poncho®) et le thiamethoxam (Cruiser®). Par conséquent, elle avait décidé une suspension provisoire durant deux ans de ces trois molécules, sauf sur dérogation. Le 23 janvier 2017, une prolongation de la suspension a été attribuée jusqu'au 30 novembre 2017. Récemment, le gouvernement français a édité une liste des néonicotinoïdes qui seront interdits à partir de janvier 2018, sauf dérogation, dont il fait partie avec l'imidaclopride et la clothianidine. En octobre 2017, un rapport fait état de la contamination de près de 75% des miels commercialisés dans le monde par des néonicotinoïdes, ce qui montre l'ampleur du problème et de la contamination environnementale (Mitchell et al., 2017).

En conditions normales, le neurotransmetteur acétylcholine (ACh) se lie à son récepteur nicotinique (nAChR) pour une durée très brève de l'ordre de quelques millisecondes (Figure 4). Le changement de conformation du récepteur subséquent permet l'ouverture du canal et l'influx d'ions Na^+ extracellulaires résultant en une stimulation nerveuse courte et contrôlée. Les néonicotinoïdes sont des molécules agonistes qui se fixent au nAChR durant des périodes beaucoup plus longues, généralement plusieurs minutes, entraînant ainsi une hyperstimulation nerveuse (Aufauvre, 2013).

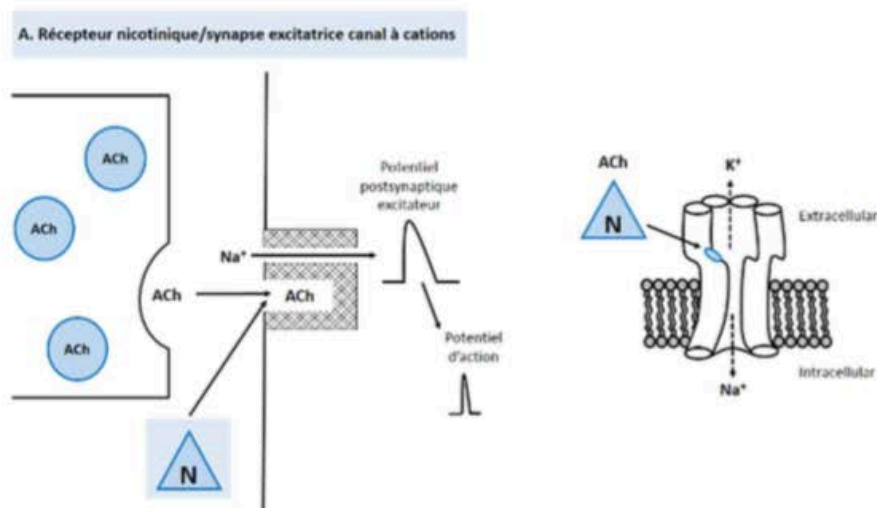


Figure 4 : Sites d'action des insecticides néonicotinoïdes localisés sur les cellules postsynaptiques (d'après Casida & Durkin, 2013).

Les abeilles présentent deux points faibles qui ne leur permettent pas de lutter efficacement contre des facteurs de stress tels que les insecticides. Leur système immunitaire individuel est globalement plus faible que tous ceux des autres insectes, et leurs capacités de détoxification sont très limitées par rapport à d'autres insectes (Aufauvre, 2013).

χ) Diffusion

Il s'agit d'insecticides systémiques, qui sont désormais utilisés selon un procédé d'enrobage de la graine en agriculture. Ceci implique que la plante est complètement traitée. Les néonicotinoïdes diffusent dans toutes les parties de la plante, y compris dans la sève, le pollen et le nectar (Simon-Delso et al., 2014). Ils possèdent une solubilité dans l'eau très importante. Cette solubilité est corrélée positivement avec la diffusion dans la plante (BonMatin et al., 2014)

On s'aperçoit également que des gouttelettes apparaissent au petit matin à l'extrémité des feuilles des plantes vasculaires. Celles-ci, d'apparence inoffensive, sont en fait mille fois plus concentrées en insecticide. Les abeilles sont alors tuées instantanément. C'est le phénomène de guttation. Des concentrations moyennes de

47mg/L d'imidaclopride, 23mg/L de clothianidine et de 12mg/L de thiamethoxam sont détectées sur des plants de maïs traités (Girolami et al ; 2009). Les concentrations sont parfois même dix fois supérieures à ces moyennes (Tapparo et al., 2011). Quand on sait qu'il suffit seulement de 3,8ng par abeille d'imidaclopride ou 4,3ng de clothianidine (Vincent Tardieu, 2009) pour les tuer instantanément, il est évident que de telles concentrations ingérées par les butineuses sont mortelles instantanément.

Les néonicotinoïdes sont des molécules très stables. Par exemple, la demi-vie du thiamethoxam atteint 545 jours en moyenne, ce qui en fait un produit persistant dans les sols et dont on craint une accumulation progressive dans les champs traités et leurs alentours, notamment une diffusion dans les plantes sauvages qui sont elles-mêmes butinées par les espèces d'abeilles domestiques et sauvages. Il est donc devenu indéniable au regard des dernières études que cette accumulation peut avoir une incidence importante sur la qualité biologique du sol. De plus, dans le cas des abeilles, on a mis en évidence une diminution de l'apprentissage et de la navigation, une mortalité élevée, une susceptibilité accrue à la maladie par une fonction du système immunitaire altérée et une fécondité réduite, Chez les bourdons, il existe également des preuves incontestables des effets sur les colonies (Bonmatin et al. 2014; Pisa et al. 2014; Gibbons et al. 2014; Chagnon et al. 2014; Furlan and Kreutzweiser 2014).

δ) Contamination

La contamination a lieu principalement lors de l'activité de butinage. Les produits rapportés constituent la base de l'alimentation de la colonie. Pollen et nectar serviront de nourriture à l'ensemble de la colonie. Il faut bien distinguer la toxicité aiguë de la toxicité chronique. Trois parties par million (ppm) sont ingérées par l'abeille, qui va nourrir ses couvains avec la récolte, ce qui entraîne un développement anarchique des futures abeilles.

De six à trente-et-un pesticides ont été retrouvés dans les différents échantillons de pollen. (Daniels, 2009). Rien qu'en France, 125 colonies ont été testées, analysées et les résultats sont sans appel. Près de 90% des échantillons étaient positifs à la présence de pesticides, dont 50% contenaient systématiquement

l'imidaclopride (Chauzat et al., 2006, 2009). Les miels ont également été testés pour chaque colonie, dont près d'une production sur trois contenait de l'imidaclopride ou son métabolite, à la concentration d'1µg/kg (Chauzet et al., 2009). L'étude de 2009 a été confirmée par une seconde étude française en 2013, qui a révélé la présence de multiples résidus agrochimiques (Lambert et al, 2013).

Aux Etats-Unis, le constat a été le même. Une analyse d'environ 900 échantillons de diverses matrices a montré la présence de plus de cent-vingt pesticides et métabolites différents (Mullin et al., 2010). Là encore, près d'un échantillon sur deux contenait un pesticide systémique et plus de 90% des échantillons renfermaient au moins deux pesticides. Si l'on s'intéresse uniquement aux échantillons de pollen et de cire, c'est 98% des prélèvements qui sont positifs à la présence de deux pesticides ou plus. Cependant, ce ne sont pas les néonicotinoïdes qui ont été détectés le plus souvent, mais les pyréthriinoïdes, qui sont une autre classe d'insecticides systémiques. Le thiaclopride a été le plus détecté dans 5,4% des échantillons, à une concentration de 24µg/kg (Aufauvre, 2013).

ε) Toxicité envers l'abeille domestique et surmortalité

L'évaluation de la toxicité des produits phytosanitaires est régie par la directive 91/414/CEE et consolidée par des normes de l'Organisation Européenne et Méditerranéenne pour la Protection des Plantes (OEPP) (Aufauvre, 2013). La première étape de l'évaluation consiste à déterminer la dose létale 50%, qui est la quantité de produit administrée en une fois provoquant la mort, par ingestion ou par contact, de 50% des individus après 24 ou 48h. Comparativement aux anciennes classes de pesticides, telles que les pyréthriinoïdes, les carbamates ou les organophosphorés, la DL 50 des néonicotinoïdes est faible, ce qui signifie que leur toxicité est d'autant plus élevée (Decourtye & Devillers, 2010). Par exemple, dans le cas de l'imidaclopride, la DL 50 varie entre 3,7 et 57 ng/abeille selon les études, les populations d'abeilles, leurs âges et la sous-espèce (Decourtye & Devillers, 2010).

Les premières études sur les impacts des insecticides néonicotinoïdes sur les pollinisateurs à insectes révèlent des affections considérables sur les colonies. Cependant, une critique incessante revenait à la charge : celle de la réalité de terrain qui diffère souvent des conditions d'expérience en laboratoire. On reprochait souvent aux études de ne pas simuler une exposition réaliste aux pesticides corrélant une surmortalité des abeilles. Pour cela, trois études récentes ont été menées sur deux continents et confirment que les néonicotinoïdes diminuent la santé des abeilles (Tsvetkov et al.; 2017).

Une première étude de mortalité a été effectuée et publiée récemment au Canada. Étant donné que le revêtement de semences de maïs constitue une des plus grandes utilisations de néonicotinoïdes à l'échelle mondiale, des chercheurs ont comparé les mortalités de colonies à proximité de champs de maïs de colonies n'étant pas dans ce cas de figure. Cette équipe a démontré une mortalité 3,51 fois plus importante chez les colonies proches de culture de maïs (Samson-Robert et al., 2017).

La seconde étude a eu lieu au Québec sur des cultures de maïs. Il faut savoir que la majorité des terres arables du Canada sont recouvertes de maïs. Ce maïs est la plupart du temps traité par des pesticides, dont les principaux représentants sont les néonicotinoïdes. Or, les décès d'abeilles dans ces régions (Ontario, Québec, Indiana) coïncident avec les périodes durant lesquelles sont utilisées les néonicotinoïdes. Le but de l'étude était de prouver que les poussières de néonicotinoïdes étaient les principales responsables de la toxicité aiguë sur les colonies. Cependant, l'équipe ayant réalisé ce travail n'a pas la prétention de mesurer la toxicité chronique à laquelle est exposée la colonie lors des activités de butinage.

L'étude a porté sur 55 colonies d'abeilles, qui ont été réparties au hasard dans cinq ruches différentes, à proximité du maïs traité. 26 produits différents ont été détectés, dont les néonicotinoïdes et ses fervents représentants : la clothianidine, le thiamethoxam et l'imidaclopride. Ces mêmes néonicotinoïdes ont été détectés sur des périodes plus longues dans les échantillons exposés, ainsi que sur des périodes continues plus importantes (83 jours contre 22 jours). On considère donc que les

abeilles à proximité du maïs sont exposées de façon chronique durant leur période d'activité. De plus, des échantillons de pollen ont montré la présence de néonicotinoïdes et autres substances agrochimiques. Cependant, le pollen ne provenait pas forcément des cultures à grande échelle traitées avec des néonicotinoïdes. On peut donc légitimement se poser la question d'une exposition des plantes sauvages à ces pesticides et autres produits phytosanitaires (Royaume Uni, Etats-Unis). Il ressort de l'étude que le principal néonicotinoïde retrouvé est la clothianidine, et que c'est à partir de cette molécule que les comparaisons pourront être réalisées.

Plusieurs paramètres ont été étudiés. Tout d'abord, l'effet de la clothianidine sur les larves et le développement des ouvrières, notamment l'activité de butinage, ont été quantifiés. L'expérience a duré 12 semaines. Les résultats montrent que la durée de vie des ouvrières qui ont été exposées à la clothianidine pendant leur phase larvaire est plus courte de 23% par rapport à la durée de vie moyenne des colonies témoins (Figure 5A). On peut donc supposer que l'exposition à des doses sublétales chroniques de néonicotinoïdes peut avoir un impact global sur les capacités de régénération de la colonie, notamment en ce qui concerne l'apport de la nourriture au sein de la colonie (Tsvetkov et al. ; 2017)

La deuxième phase était de montrer que le comportement hygiénique moyen des colonies traitées par la clothianidine diminue avec le temps. L'expérience l'a démontré, tandis que ce comportement n'a pas changé pour les colonies de contrôle (Figure 5B). Des résultats similaires existaient dans le domaine en 2014, où les colonies exposées près du maïs avaient un comportement hygiénique significativement plus faible par rapport aux colonies non exposées à la fin de la saison (Figure 5C) . Cette étude est semblable et vient compléter une étude récente qui a trouvé une association entre l'exposition chronique à l'imidaclopride et la réduction du comportement hygiénique. Tout porte donc à croire que les néonicotinoïdes nuisent au système immunitaire social de l'abeille. Cette étude laisse également penser que les capacités de remplacement d'une reine sont diminuées suite à l'exposition aux néonicotinoïdes (Tsvetkov et al. ; 2017).

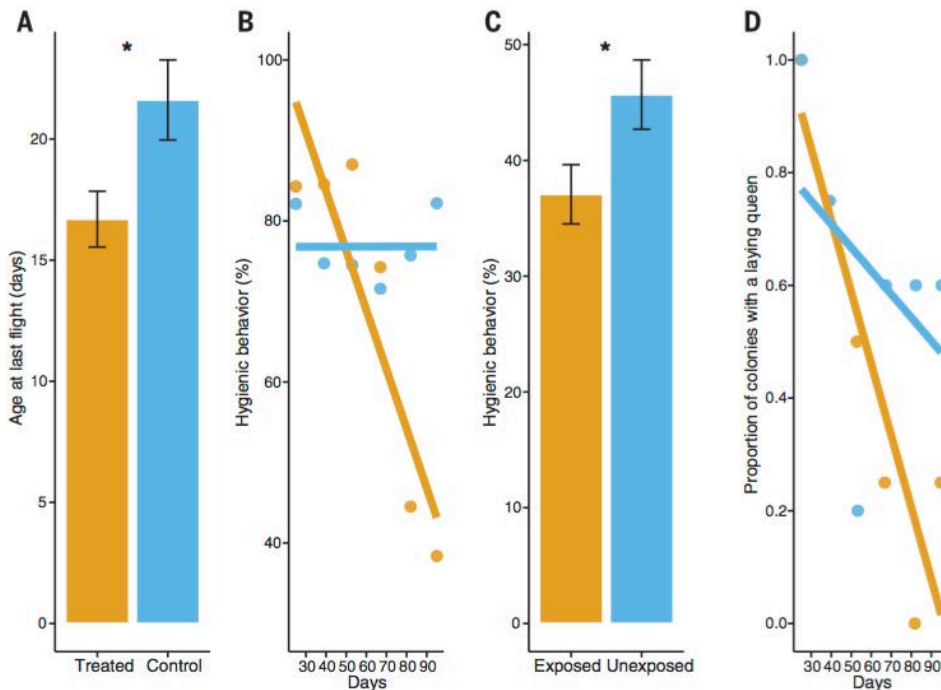


Figure 5 : L'exposition chronique à la clothianidine réduit la santé des abeilles mellifères. (A) Les adultes exposés à la clothianidine en tant que larves étaient significativement plus jeunes lors de leur dernier vol enregistré par rapport aux témoins (B) Nous avons détecté un traitement significatif par l'effet du temps selon lequel le comportement hygiénique des colonies traitées diminuait avec le temps mais celui des colonies témoins ne l'a pas fait. (C) Les colonies proches du maïs avaient un comportement nettement moins hygiénique par rapport aux colonies éloignées du maïs à la fin de la saison 2014. (D) Nous avons détecté un traitement significatif par l'effet du temps selon lequel le nombre de colonies avec une reine pondreuse a sensiblement diminué au cours du temps dans le groupe traité par rapport au groupe témoin. Le jaune et le bleu indiquent respectivement des travailleurs ou des colonies traitées ou exposés et des travailleurs témoins ou non exposés (Tsvetkov et al., 2017).

Enfin, la dernière partie de l'étude vise à démontrer que les pesticides, quelle que soit leur nature, ont une action synergique sur la surmortalité des colonies d'abeilles. Les effets simultanés du linuron et de la clothianidine, ainsi du thiamethoxam avec le boscalid, ont de ce fait été quantifiés. Si le linuron et le boscalid, deux agents antifongiques retrouvés fréquemment dans les pollens étudiés, n'ont pas provoqué de surmortalité des abeilles, il n'en est pas de même avec la présence du boscalid avec le thiamethoxam ou la clothianidine. L'étude révèle que le boscalid diminue la DL 50 des deux NN retrouvés dans les pollens étudiés. Les néonicotinoïdes deviennent quasiment deux fois plus toxiques en présence de ce fongicide (Figure 6).

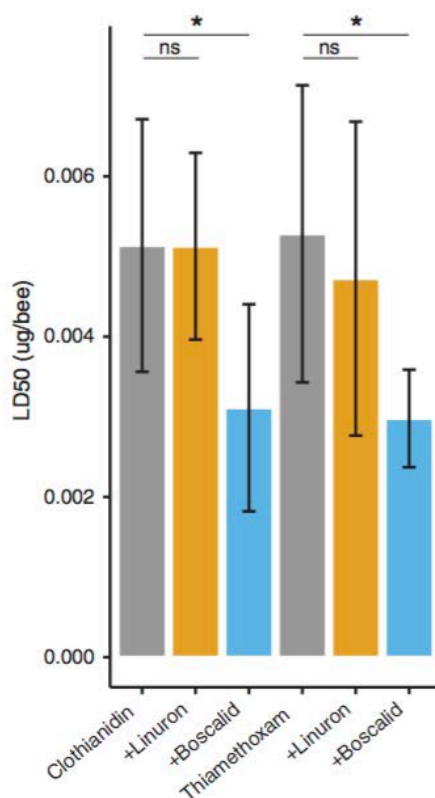


Figure 6 : Les néonicotinoïdes sont deux fois plus toxiques pour les abeilles en présence d'un fongicide commun. La dose létale orale médiane (DL50) des néonicotinoïdes clothianidine et thiamethoxam est significativement plus faible en présence de concentrations de boscalid réalistes sur le terrain. Les niveaux réalistes sur le terrain de l'herbicide linuron n'ont pas influencé la toxicité des néonicotinoïdes pour les abeilles mellifères (Tsvetkov et al., 2017).

Force est donc de constater que les abeilles près des cultures de maïs sont exposées aux néonicotinoïdes pendant 3 à 4 mois *via* le pollen non ciblé, entraînant une diminution de la survie et des réponses immunitaires, surtout lorsqu'elles sont co-exposées à un fongicide tel que le boscalid (Tsvetkov et al., 2017).

Dans une seconde expérience sur le colza en Europe, notamment en Hongrie et au Royaume-Uni, on a constaté que l'exposition aux néonicotinoïdes à partir de plusieurs sources a considérablement réduit la survie et la reproduction des colonies chez les abeilles domestiques et les abeilles sauvages. En Hongrie, les effets négatifs sur les abeilles ont été persistants durant l'hivernage et ont entraîné des colonies diminuées d'environ 24% d'individus. De même, les effets de ces molécules sur les pollinisateurs sauvages ont été identiques, notamment pour deux espèces : *Bombus terrestris* et *Osmia bicornis*. Effectivement, leur reproduction était corrélée de façon négative avec l'augmentation des particules de NN à proximité des

colonies. Tout porte à croire que cela altère donc la capacité de régénération des pollinisateurs. Ces résultats de terrain confirment que les néonicotinoïdes affectent négativement la santé des pollinisateurs, abeilles domestiques et sauvages comprises (Woodstok et al., 2017)

φ) Symptômes moteurs et comportementaux

Les néonicotinoïdes ont avant tout un impact important sur l'activité de butinage. Cette activité dépend essentiellement des capacités d'apprentissage et de mémorisation de l'abeille ; on parle de la cognition des abeilles. Afin d'étudier ces facultés, il était nécessaire d'observer les abeilles dans leur milieu naturel, en surveillant leur vol et leur zone de butinage, ainsi que leur langage. Désormais, les chercheurs ont développé un système d'identification par radiofréquence (RFID). Cette technique permet la surveillance de l'effet des doses sublétales de néonicotinoïdes sur les pollinisateurs, en particulier les abeilles (Schneider et al., 2012).

Un système RFID est constitué d'un récepteur, le transpondeur, et d'un émetteur, appelé également interrogateur. Le principe est assez simple. On place une balise numérotée et réceptrice sur le thorax de chaque abeille étudiée. Chaque balise est lue par un lecteur placé à l'entrée d'une colonie d'abeilles, ou d'une ruche. En fait, c'est l'interrogateur qui envoie un signal actif au transpondeur (la balise), ainsi que l'énergie nécessaire au fonctionnement de la balise (CNR RFID site internet). Le logiciel de lecture enregistrera ensuite le mouvement du signal, sa direction et sa vitesse. Ainsi, ceci permet d'avoir des données très précises sur l'influence des doses sublétales de NN sur les abeilles, en les exposant à différentes concentrations de NN et en analysant les données de vol.

Des études récentes ont montré (Fischer et al., 2014 ; Tison et al., 2016) que l'action des NN au niveau des corps pédonculés du cerveau de l'abeille affecteraient la mémorisation à long terme. Cette zone neuronale, spécifique de la mémorisation, est indispensable à l'abeille qui deviendra butineuse pour s'orienter et retrouver le

chemin de la ruche. L'inhibition de la mobilisation de la mémoire pourrait expliquer les effets du thiamethoxam sur l'activité de butinage (Fischer et al., 2014).

L'imidaclopride a également été testé sur des colonies, conjointement avec son principal métabolite, le 5-OH imidaclopride (Decourtye et al., 2003). Les doses les plus faibles ayant des effets (= LOEC) sont respectivement de 24 µg/kg (soit 0,024ng/mg de poids d'abeille) pour l'imidaclopride et de 120µg/kg pour son métabolite. Les résultats mettent en évidence une diminution des capacités d'apprentissage des ouvrières ; par ailleurs, les abeilles estivales sont les plus sensibles à ces deux molécules (Decourtye et al., 2003).

Une étude sur la clothianidine a montré que des doses sublétales avaient un impact sur la distance parcourue, le temps de repos des abeilles (Al Kassab & Kirchner, 2017). Cette étude a été réalisée par suivi vidéo. Les abeilles ont été exposées à différentes doses sublétales de clothianidine (de 0,1 à 2ng/abeille), et les effets sur l'activité locomotrice ont été quantifiés. A la dose la plus élevée, les abeilles ont parcouru une distance plus grande après 30 et 60 minutes. En revanche, il a été observé une diminution de l'activité locomotrice après 90 minutes sur le même groupe d'abeilles. De plus, les abeilles traitées arquent l'abdomen et présentent des dyscontrôles posturaux (Al Kassab & Kirchner, 2017). De la même façon, des doses de 0,5 à 1ng/abeille, soit quatre fois moins que la DL50, ont entraîné des distances parcourues plus longues d'une manière désordonnée, des temps de repos diminués par rapport au groupe non traité (Al Kassab et Kirchner, 2017).

Ces arguments pourraient jouer en faveur d'une désorientation de la colonie lors de l'activité de butinage, ainsi qu'une difficulté à observer un repos nécessaire à la survie de la colonie durant toute une saison. Des données anglaises viennent compléter ces arguments à la suite d'une étude sur la mémorisation et l'apprentissage olfactif, grâce à la méthode PER (Proboscis Extensive Response = test à l'extension de proboscis). Il s'agit d'une méthode couramment utilisée pour étudier la mémoire et l'apprentissage chez *Apis mellifera*. Dans le cas présent, il s'agissait de mesurer le pourcentage d'abeilles qui répondaient à un stimulus olfactif

tel que de l'eau sucrée dans le cas présent. Il a été montré que la clothianidine avait largement contribué à diminuer l'apprentissage olfactif d'*Apis mellifera* (Figure 7). Alors qu'environ 80% des abeilles témoin répondent positivement au stimulus, seuls 54% des abeilles exposées à la clothianidine à des doses sublétales ont répondu positivement (Piiroinen & Goulson, 2016)

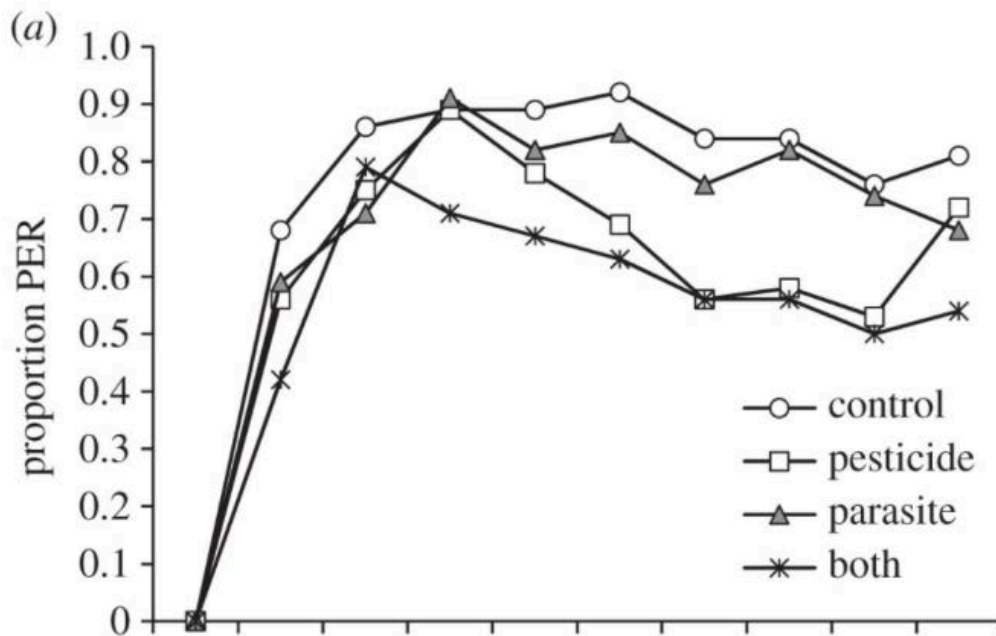


Figure 7 : Proportion de réponses d'extension de proboscis (PER) aux stimulus d'odeurs (CS) pour les abeilles et exposées à la clothianidine et inoculées avec des spores de *N. ceranae* dans 10 essais de conditionnement CS-US (Piiroinen & Goulson, 2016)

Enfin, une étude sur la co-exposition des larves à la loque américaine et au thiamethoxam à des doses sublétales n'a certes pas montré d'augmentation de la mortalité. En revanche, l'expérience rejoint la précédente, en montrant des troubles de l'apprentissage et de la mémoire chez les abeilles dont les larves ont été nourries avec des doses sublétales de thiamethoxam ; la loque américaine n'a pas eu d'impact sur ces paramètres (Papach et al., 2017).

γ) Symptômes physiologiques

Une étude récente a été réalisée sur le développement larvaire de couvains royaux exposés au thiamethoxam. L'expérience consistait à faire deux groupes de larves. Un groupe était exposé à 4,28ng de thiamethoxam, tandis que l'autre groupe était exposé à 8,56ng de pesticide par larve. Les larves ont été nourries artificiellement de la même façon. Après l'émergence des reines et leur accouplement, elles ont été isolées, puis une étude de leurs ovaires a été effectuée. Il en résulte que les larves ayant été le plus exposées aux pesticides ont donné naissance à des reines dont les spermathèques contenaient moins de spermatozoïdes que les reines les moins exposées. Enfin, une diminution de leur poids a été quantifiée (Gajger et al., 2017).

Une étude sur l'imidaclopride a mis en évidence que cette substance avait un effet négatif sur la survie, la croissance, ainsi que sur le taux d'expression du gène codant la vitellogénine, hormone permettant l'inhibition de la maturation des ouvrières.

Le premier aspect de l'étude porte sur la survie globale des adultes avec des taux de vingt-cinq parties par million (ppm) et de 50ppm, soit des doses bien inférieures aux DL50 de l'imidaclopride (Abbo, 2015). Si une concentration de 25ppm d'imidaclopride n'induit pas de surmortalité, une dose de 50ppm d'imidaclopride entraîne un taux de survie en baisse continue durant l'expérience. Ainsi, la mortalité atteint environ 6% chez les abeilles adultes (Figure 8).

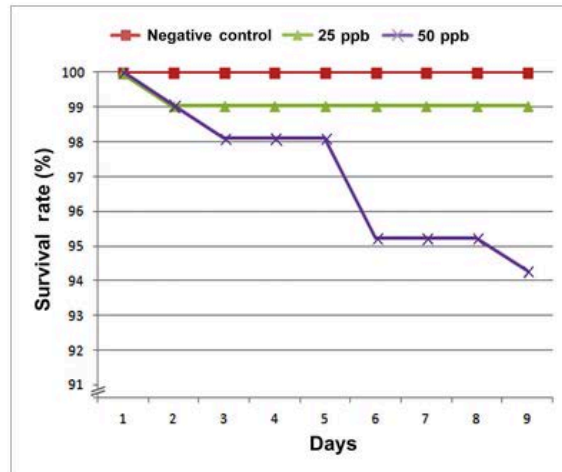


Figure 8 : Effets sublétaux de l'imidaclopride sur la survie des travailleurs adultes. (Abbo et al., 2015)

Sont ensuite comparés la croissance et le poids des individus témoins et des individus exposés à l'imidaclopride. Là encore, l'étude montre que plus on augmente la quantité d'imidaclopride, et plus le poids moyen des abeilles est faible, entraînant une baisse de 12% de la masse des individus à 9 jours. Le poids a donc été significativement affecté par l'exposition à l'imidaclopride (Figure 9). Ceci laisse présager un effet négatif de l'imidaclopride sur la capacité des ouvrières à pouvoir se nourrir normalement (Abbo et al., 2015).

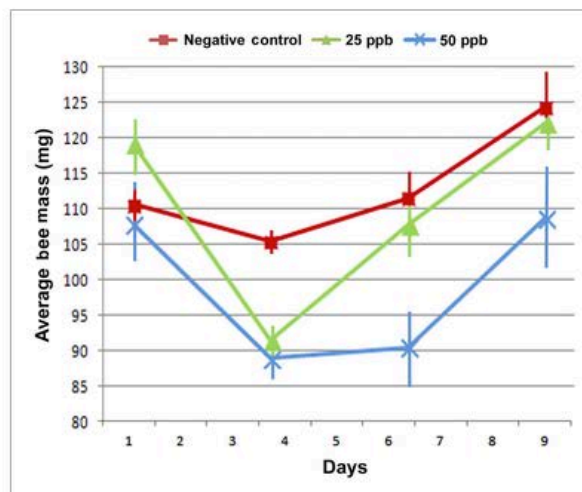


Figure 9 : Effets sublétaux de l'imidaclopride sur la croissance des travailleurs adultes (Abbo et al., 2015).

Enfin, les taux d'expression de gènes codant la vitellogénine ont été étudiés (Figure 10). Les résultats sont là encore significatifs : les ouvrières du groupe témoin présentent un taux d'expression plus de 7000 fois supérieurs à ceux observés chez les abeilles exposés à 50ppm d'imidaclopride (Abbo et al., 2015). Cette lipoprotéine, est majoritairement présente chez la reine et les ouvrières ; elle facilite l'accumulation de lipides dans le corps grave, indispensables à la survie des ouvrières pendant la période hivernale. Elle est également impliquée dans les fonctions immunitaires de l'abeille (Amdam et al., 2004 et 2005 ; Seehus et al., 2006). Une étude récente de l'université d'Avignon a d'ailleurs démontré que plus les taux d'expression de vitellogénine et de transferrine sont importants, et plus la survie de l'abeille augmente (Di Pasquale, 2014).

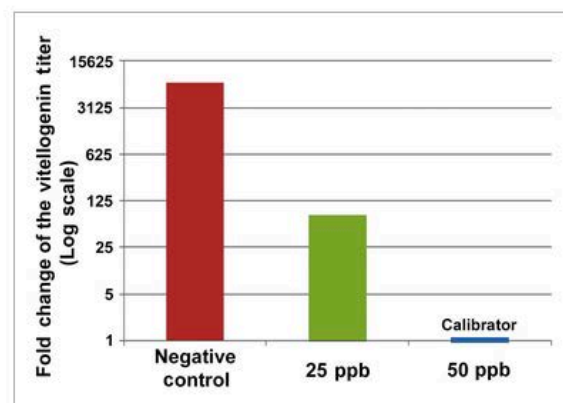


Figure 10 : Les quantités sublétales d'imidaclopride ont significativement réduit les titres de vitellogénine (Vg). Les quantités relatives d'expression de Vg au jour 9 ont montré que les abeilles exposées à 50 ppm d'imidaclopride présentaient le niveau d'expression de Vg le plus bas parmi les 3 groupes expérimentaux et étaient donc utilisées comme témoin. Les abeilles exposées à 25 ppm d'imidaclopride présentaient un niveau d'expression de Vg 28 fois plus élevé que les abeilles exposées à 50 ppm d'imidaclopride et le groupe témoin avait un niveau d'expression Vg 7421 fois plus élevé que les abeilles exposées à 50 ppm d'imidaclopride (Abbo et al., 2015).

On sait également que des mécanismes de détoxification existent chez l'abeille domestique, mais que ces processus sont très gourmands en énergie (Du Rand et al., 2015). Une diminution de l'expression du gène codant la vitellogénine suggère que la baisse des réserves énergétiques contribue à limiter l'efficacité optimale de ces mécanismes de défenses face aux pesticides en milieu naturel (Abbo et al., 2015). Il est également possible que la part énergétique consacrée à la détoxification soit tellement élevée qu'elle influence la nutrition de l'abeille, ce qui pourrait expliquer la perte de masse observée chez les abeilles exposées (Abbo et al., 2015).

Les dernières données démontrent aussi un impact des néonicotinoïdes, ici l'imidaclopride et le thiamethoxam, sur le sperme des mâles reproducteurs de la colonie (Straub et al., 2016). La quantité totale, la viabilité et la quantité vivante de spermatozoïdes ont été scrutées dans une étude suisse. Celle-ci a observé que la quantité totale ne variait pas. En revanche, elle tend vers une diminution notable de la viabilité du sperme, et de la quantité totale de spermatozoïdes vivants (Figure 12). La viabilité serait inférieure d'au moins 10%, tandis que les spermatozoïdes perdraient 39% d'effectifs vivants par rapport aux mâles non exposés à ces néonicotinoïdes (Straub et al., 2016).

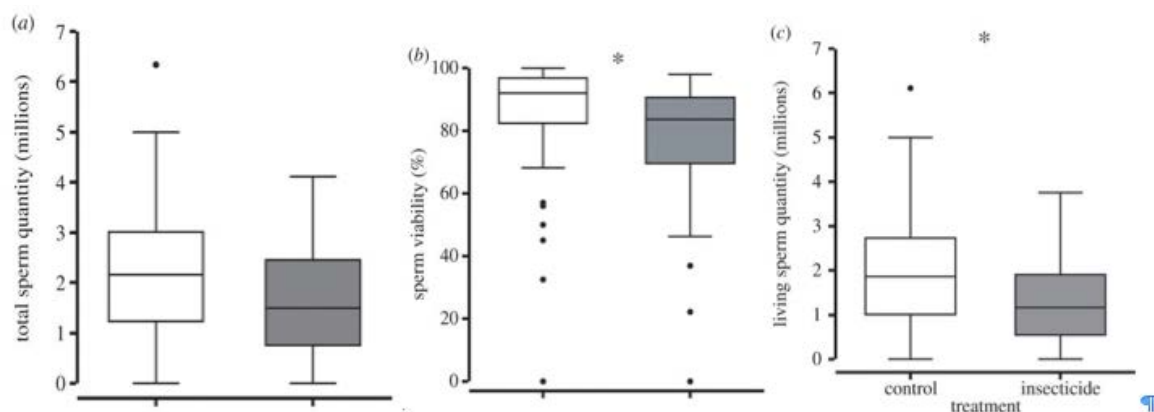


Figure 11 : Évaluation de sperme d'abeille. Évaluation de divers caractères de sperme chez les abeilles mâles (*Apis mellifera*) sous exposition à l'insecticide néonicotinoïde (N = 90) par rapport aux témoins (N = 145). a) La comparaison de la quantité de spermatozoïdes n'a révélé aucune différence significative ($p = 0,1375$). (b) Le pourcentage de spermatozoïdes viables chez les ouvrières de l'abeille a montré des différences significatives ($p = 0,03$). (c) La quantité totale de spermatozoïdes vivants dans les ouvrières de l'abeille a montré une différence significative ($p < 0,05$). Tous les graphiques affichent la plage interquartile (boîte), la médiane (ligne noire dans la boîte), la plage de données (lignes noires horizontales de la boîte) et les valeurs aberrantes (points noirs). Une différence significative entre les groupes de traitement est indiquée par * $p < 0,05$ (Straub et al., 2016)

Bien qu'une petite partie de ce sperme soit utilisée dans la fécondation de la reine (Baer, 2005), une altération de sa viabilité, et donc de sa qualité, peut avoir des conséquences. Aidé par les contractions musculaires dans l'appareil reproducteur féminin, les spermatozoïdes doivent activement nager des oviductes à la spermathèque femelle ; ce processus peut prendre jusqu'à environ quarante heures (Woyke & Ruttner, 1958 ; Wallach et al., 2001), et nécessite donc un sperme viable. De ce fait, les altérations observées pourraient avoir un impact non négligeable sur la pérennité de la colonie.

Malgré tout, dans l'Illinois comme dans d'autres régions du Monde, il y a une utilisation intensive des néonicotinoïdes, sur des cultures telles que le maïs, et pourtant on n'y observe pas forcément de mortalités évoquant le CCD. Cela ne peut donc pas être une cause unique : on parle de problème multifactoriel (Daniels, 2010).

Les recherches sur les néonicotinoïdes continuent de progresser et mettent en avant les problèmes environnementaux et écologiques qui découlent de l'agriculture intensive. Avec ces observations, les apiculteurs s'attendaient à une interdiction totale des néonicotinoïdes. Au lieu de cela, l'ANSES annonce l'autorisation prochainement d'un nouveau néonicotinoïde en France, le sulfoxaflor, alors que les néonicotinoïdes seront interdits en janvier 2018, et, sauf sur dérogation exceptionnelles, jusqu'en janvier 2020 (Le Monde, 2017). Cette nouvelle révolte les apiculteurs et l'Union Nationale de l'Apiculture Française (UNAF), dans un contexte où la récolte de miel en 2017 n'a pas atteint 10 000 tonnes, soit trois fois moins qu'au début des années 1990 (Le Monde, 2017)

b. Le fipronil

α) Présentation

Le fipronil fait partie de la classe des phénylpyrazoles. Il a été mis sur le marché pour la première fois en Europe dans les années 1990. Le fipronil constitue la formule active du Régent, qui est autorisée pour le traitement du maïs, du tournesol, etc. (EFSA, 2013). En 2014, un rapport de l'EFSA (European Food Safety Authority) déclare que le fipronil présente un risque aigu pour les abeilles s'il est utilisé en traitement de semences de maïs (EFSA, 2013). L'Union Européenne l'interdit alors sur le maïs et le tournesol pour l'ensemble des états-membres. Son efficacité sur les arthropodes, au stade larvaire et adulte, résistant aux organophosphorés et aux carbamates, en fait un produit de choix pour les agriculteurs (Gunasekara et al., 2007). La DL50 du fipronil par voie orale est de 4,16ng par abeille (EFSA, 2013).

Il agit sur des récepteurs spécifiques des insectes, et présente donc peu de risques pour l'opérateur, contrairement aux organophosphorés ou aux carbamates (Simon-Delso et al., 2014). En conditions normales, l'acide γ -amino-butérique (GABA), principal neurotransmetteur inhibiteur, se fixe sur son récepteur et permet l'ouverture du canal transmembranaire pentamérique et le passage des ions Cl^- (Barbara et al., 2005). L'influx d'ions Cl^- a pour fonction de limiter et contrebalancer l'activité électrique dans les neurones post-synaptiques. La liaison d'une molécule antagoniste phénylpyrazole sur le récepteur GABA inhibe l'entrée d'ions Cl^- et donc l'apparition du potentiel postsynaptique inhibiteur (Figure 12). Les phénylpyrazoles entraînent donc indirectement une hyperexcitation du système nerveux central en empêchant l'effet inhibiteur du neurotransmetteur GABA (Casida & Durkin, 2013).

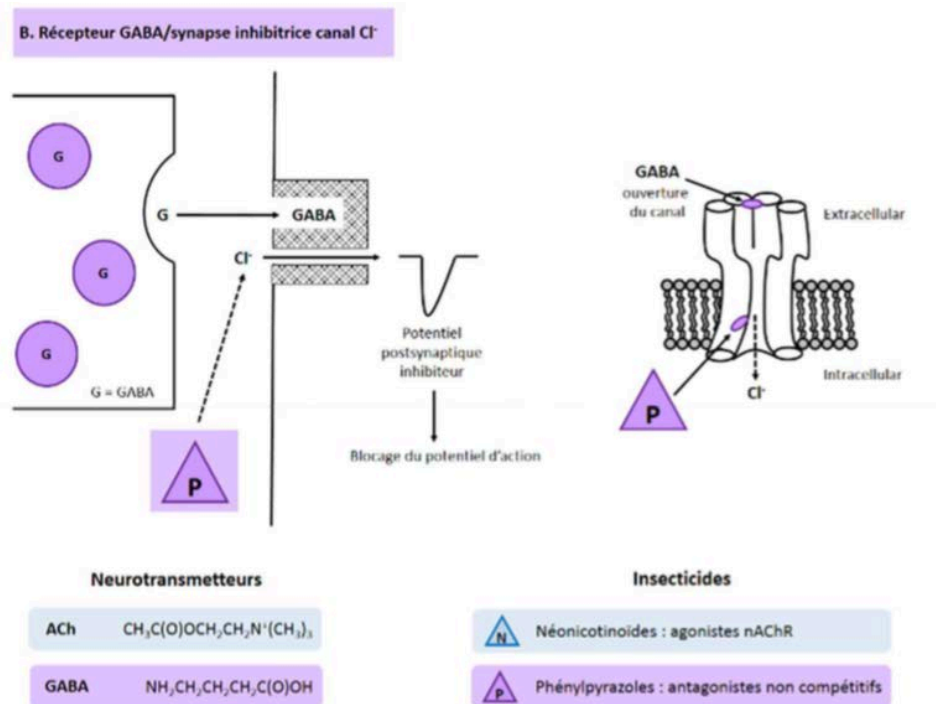


Figure 12 : Sites d'action des phénylpyrazoles localisés sur les cellules postsynaptiques (Casida & Durkin, 2013).

β) Diffusion

Au départ, on ne savait pas si cet insecticide était systémique ou topique. Jusqu'en 2013, il n'était pas établi que le fipronil diffuse dans l'ensemble de la plante (EFSA, 2013), même s'il semblait qu'une absorption soit envisageable. En effet, des rapports montraient que le fipronil pouvait être actif sur des stades précoces d'insectes se nourrissant de feuillage, mais sans en comprendre le mode de diffusion (France, 2004). Des chercheurs n'ont pas observé de phénomène de guttation comme c'était le cas avec les néonicotinoïdes (Tapparo et al., 2011). Cependant, des analyses antérieures montraient que des résidus de fipronil pouvaient émerger en surface de la plante, mais à des concentrations moindres que celles observées pour les néonicotinoïdes (EFSA, 2013). Le seul cas connu était celui des plantules de tournesol, qui pouvaient être en mesure d'absorber le fipronil et de le faire diffuser *via* le xylème dans la plante (Sur et al., 2012).

Des études de translocation réalisées avec du [14C]-fipronil sur le maïs, le tournesol et la betterave sucrière ont mis en évidence une absorption d'environ 5%,

ce qui reste relativement faible (Simon-Delso et al., 2015). Le fipronil pourrait même être associé à des polymères pour d'améliorer sa diffusion à l'intérieur de la plante (Dieckmann et al., 2010). Ses propriétés physicochimiques, notamment en termes de solubilité dans l'eau quand il est combiné à un polymère, ainsi que son pKa, lui confèrent des propriétés systémiques permettant son absorption et son transfert dans tous les tissus végétaux (BonMatin et al., 2014).

Les études menées sur les pommes de terre, le riz, le tournesol, la betterave sucrière, le chou, le coton et le maïs ont montré que le composé principal était métabolisé par hydrolyse en amide-fipronil et oxydé en sulfone-fipronil et en sulfure-fipronil.

Des résidus de fipronil, d'amide-fipronil, de fipronil-sulfone et d'acide fipronil-carboxylique, ainsi que des dérivés indéterminés mineurs, ont été trouvés dans les composants de la capsule après le traitement des semences dans du coton (France, 2005). Enfin, le fipronil et ses dérivés desulfinyl et sulfone ont été quantifiés dans les charges de pollen et le miel (BonMatin et al., 2007 ; Chauzat et al., 2011).

Même si la solubilité du fipronil, seul et non polyméré, est faible en comparaison avec celles des néonicotinoïdes, elle demeure néanmoins suffisamment importante pour en tenir compte dans l'impact environnemental à l'échelle d'*Apis mellifera* ; l'étude de BonMatin *et al.* acquiesce par ailleurs le fait que plusieurs paramètres régissent la solubilité d'un produit dans l'environnement (BonMatin et al., 2014).

χ) Contamination

Il semble que la contamination soit principalement due à l'activité de butinage. En effet, dans des études qui ont concerné les néonicotinoïdes et le fipronil, ces deux produits ont été détectés dans des échantillons de pollen (Mullin et al., 2010 ; Chauzat et al., 2009). Le fipronil était présent à hauteur de 28,5µg/kg de pollen, et jusqu'à 1500µg/kg dans les échantillons d'abeilles de l'étude américaine (Mullet et al., 2010).

Les pratiques agricoles pourraient avoir un impact sur les colonies d'abeilles. En effet, en Uruguay, des colonies entières ont disparu après que certains paysans ont traité leur soja avec du fipronil, en le pulvérisant directement sur les plantations. La diffusion étant moindre avec cet insecticide, il est donc resté en surface. Les échantillons récoltés d'abeilles mortes ont montré qu'elles contenaient en moyenne 160 µg/kg de fipronil. Dans les mêmes colonies, des prélèvements ont été effectués sur le miel, qui montrait des concentrations de 70µg/kg pour environ 6% des échantillons (Pareja et al., 2011). Une contamination par les poussières aériennes est également à l'étude et pourraient compléter les données toxicologiques (Marzaro et al., 2011).

L'ampleur de la contamination semble également varier en fonction de la saison comme le montrait une expérience en Espagne en 2010. La contamination était la plus forte au printemps, alors qu'elle était inexistante durant l'hiver (Bernat et al., 2010). Mais tout porte à croire que les expositions au fipronil sont également systématiques désormais dans le paysage agricole mondial.

δ) Toxicité du fipronil à des doses sublétales

Plusieurs études ont montré récemment que le fipronil entraînait une surmortalité dans les colonies d'abeilles, à des doses bien inférieures que les DL50 par contact direct ou par ingestion (EFSA, 2013 ; Figure 13)

Les premiers travaux de Decourtye portaient sur la comparaison de la toxicité chronique à des doses sublétales de neuf insecticides, dont le fipronil. Le but était d'étudier l'exposition *via* une solution nutritive à base de saccharose additionné d'insecticides à des concentrations croissantes. Sur les neuf pesticides, seuls deux ont révélé leur toxicité vis-à-vis des abeilles. Son équipe a démontré qu'en utilisant des concentrations allant de 2,2µg/L à 9µg/L de fipronil, qui correspondent à des doses de 0,075 à 0,3ng/abeille, le fipronil provoquait la mortalité de 40,6% à 91,1% des individus des colonies exposées par rapport aux groupes témoins dont la mortalité ne dépassait pas 6,6% (Decourtye et al., 2005).

Test substance	Toxicity endpoint	Species	Value ¹	Reference
fipronil	Acute oral LD ₅₀	<i>Apis mellifera</i>	0.00417 µg/bee	EFSA (2006)
MB 46136	Acute oral LD ₅₀	<i>Apis mellifera</i>	0.0064 µg/bee	EFSA (2006)
RPA 200761	Acute oral NOEL	<i>Apis mellifera</i>	0.29 µg/bee ²	EFSA (2006)
fipronil	Acute contact LD ₅₀	<i>Apis mellifera</i>	0.00593 µg/bee	EFSA (2006)

¹ Values highlighted in **bold** were used for risk assessment

² based on a single nominal concentration of 10.3 mg/kg (NOEC) equivalent to 0.29 µg/bee (NOEL)

Figure 13 : Toxicité du fipronil et de ses principaux métabolites MB 46136 et RPA 200761 (EFSA, 2013)

D'autres travaux majeurs ont porté sur l'exposition directe au fipronil. Deux voies d'exposition ont été étudiées pour refléter au mieux la réalité du terrain agricole : la voie orale, et la voie locale. Les abeilles ont reçu pendant onze jours le fipronil à raison d'un cinquième de DL50, soit environ 0,1ng/abeille/jour, et d'un cinquantième de DL50. Après une semaine d'exposition, les abeilles, qui ont été exposées par voie orale et par voie locale à 0,1ng/abeille/jour de fipronil, sont toutes mortes (Alioune et al., 2009). Celles qui ont été exposées à la dose inférieure ne présentent pas de surmortalité par rapport aux individus témoin, mais elles présentaient une mobilité

réduite, et une consommation accrue d'eau a été observée (Alioune et al., 2009). Enfin, les abeilles survivantes et exposées n'ont pas réagi positivement aux tests olfactifs de type PER (Proboscis Extension Response) (Alioune et al., 2009). On a donc, dans les cas où le fipronil n'est pas mortel, des symptômes inquiétants de désorientation et de locomotion qui peuvent nuire à la pérennité de la colonie.

Des travaux ont également mis en avant la toxicité accrue pour *Apis mellifera* d'une association entre le fipronil et *Nosema ceranae*, une microsporidie pathogène pour l'abeille qui joue un rôle prépondérant dans le CCD (**chapitre → II.3.**).

ε) Symptômes moteurs, comportementaux et effets sur l'apprentissage

On vient de voir que le premier symptôme est une répercussion sur l'activité locomotrice induite par des doses de 0,01ng/abeille appliquées chroniquement (Alioune et al., 2009). Ceci n'avait jamais été observé lors d'une application aiguë (El Hassani et al., 2005).

De cette première alerte découle la réduction de l'activité de butinage. En 2011, des expériences ont porté sur l'activité de butinage, grâce à un système RFID précédemment décrit, dans des conditions semi-naturelles (Figure 14). Les doses de 0,06ng/abeille et 0,3ng/abeille n'ont pas eu d'effet sur le retour des abeilles à la ruche. Cependant, le nombre de vols à la concentration la plus élevée a chuté durant le premier jour qui a suivi l'exposition (Decourtye et al., 2011). Cette même dose a provoqué un allongement du temps de retour des abeilles dans la ruche, et cet allongement a persisté durant 72 heures (Decourtye et al., 2011). D'autres travaux publiés en 2004 suggèrent que l'activité de butinage est perturbée au delà d'une exposition aiguë ou orale à une concentration de 0,02ng/abeille (Colin et al., 2004)

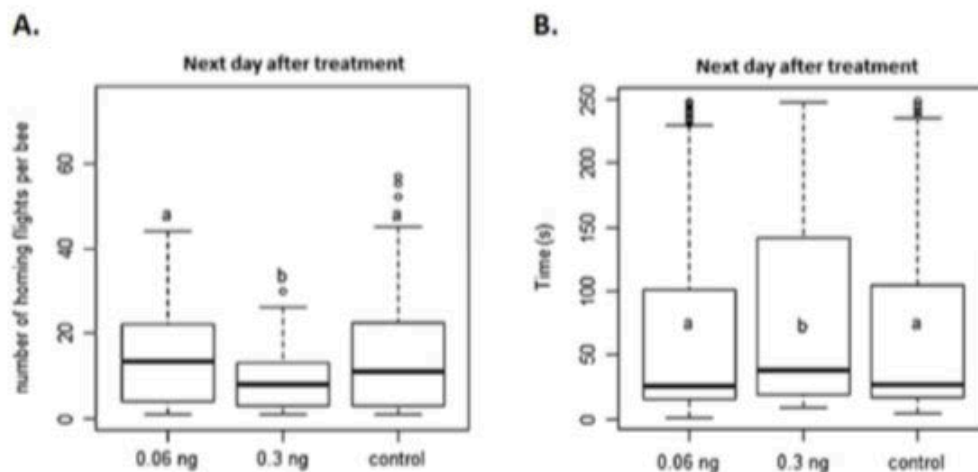


Figure 14 : Effet d'une intoxication orale et aiguë au fipronil (0,06 ou 0,3 ng/abeille) sur l'activité de butinage des abeilles 24 h après traitement A) Nombre de vols de butinage par abeille (nombre d'abeilles n= 103, 122, 105). (B) Durée des vols de retour à la ruche (s) (n= 1537, 1791, 891). Des lettres différentes indiquent des différences significatives ($p < 0,025$) (Decourtye et al., 2011).

Enfin, dans l'étude où Decourtye avait démontré la toxicité sub létale du fipronil (Decourtye et al., 2005), il a également apporté les preuves de l'impact du fipronil sur les capacités d'apprentissage de la colonie. Aux doses de 0,15 ng et 0,075 ng/abeille/jour, les réponses aux tests ont été respectivement de 7,1% et 27,2%, alors que les témoins ont répondu au test PER à hauteur de 56,2% (Decourtye et al., 2005). Là encore, c'est une découverte majeure qui met en lumière le potentiel néfaste du fipronil qui diffuse dans l'environnement à très faibles doses.

φ) Symptômes physiologiques

Des prélèvements ont détecté des altérations morphologiques sur les cellules du couvain. A une concentration d'un 1µg/kg de fipronil, les cellules intestinales des larvées traitées présentaient une vacuolisation de leur cytoplasme, des noyaux pycnotiques, signe d'une activité transcriptionnelle faible (Aufauvre, 2013). De plus, les cellules se détachaient dans la lumière intestinale, ce qui laisse suggérer que le fipronil a provoqué une nécrose intestinale, voire une apoptose (da Silva Cruz et al., 2010), comme le ferait l'imidaclopride (Gregorc & Ellis, 2011)

On voit donc que l'impact des néonicotinoïdes et du fipronil est considérable sur les facultés de déplacement, de mémorisation, ainsi que sur leurs capacités physiologiques. Les interdictions d'utilisation en Europe sur les cultures céréalières et maraîchères permettront, dans les prochaines années, de mieux mesurer l'impact de ces molécules pour déterminer jusqu'à quel niveau elles peuvent être responsables des effondrements de colonies auxquelles la planète doit faire face depuis près de dix ans. Malheureusement, le chemin est encore long, et les travaux sont à leurs prémices. Sans compter que des facteurs potentiels de stress pour les abeilles s'ajoutent au fur et à mesure des recherches. C'est le cas notamment d'une découverte faite en 2017 concernant un adjuvant de pesticides, un surfactant organosiliconé (Fine et al., 2017). Ce composé est un puissant tensio-actif, dont le seul effet attendu est de faciliter la pénétration d'un insecticide (EPA, 2016). Il n'est, par conséquent, pas surveillé. Or, les travaux de Fine et al. Montrent que ce composé pourrait amplifier une affection virale latente et entraîner plus rapidement la mort des colonies, en agissant directement au niveau du couvain (Fine et al., 2017). Les symptômes observés, comme le retard de l'éclosion ou la métamorphose nymphale, correspondent d'ailleurs à ceux observés dans les plantations d'amandiers de Californie en 2014 (Wardell, 2016). C'est une nouvelle voie de recherche qui semble pleine de promesses.

B. *Varroa destructor*

a. Historique et épidémiologie

La première observation de ce parasite remonte à 1904, lorsque Jacobson décrit un équilibre entre le parasite et *Apis cerana*. Cette abeille a une très bonne capacité d'épouillage, ce qui lui permet de se débarrasser du parasite mécaniquement, sans intervention extérieure. De plus, le cycle de reproduction chez *Apis cerana* est d'environ 17 jours, contre 21 jours pour l'abeille domestique européenne. Ceci a pour conséquence de rendre impossible la transformation des larves de varroas en adultes dans tout autre endroit que les couvains mâles ; il y a donc une limite à la contamination.

Néanmoins, les capacités productives mellifères d'*Apis cerana* se révèlent largement inférieures à celle de sa cousine européenne. La logique a alors voulu qu'il soit importé des colonies européennes d'*Apis mellifera* à travers l'Asie du Sud Est, notamment *via* le transsibérien. Il est probable que la première rencontre entre le *Varroa* et *Apis mellifera* ait eu lieu au Japon en 1957 (Fernandez & Coineau, 2010). Ce n'est qu'à partir de 1964 que *Varroa* est formellement identifiée sur des colonies européennes en Sibérie, puis en 1971 au Paraguay suite à des échanges entre le Japon et le Paraguay (Fernandez & Coineau, 2010).

Puis la mondialisation, les échanges commerciaux et les transhumances se sont multipliés, ce qui facilita l'expansion de la parasitose à travers le monde. *Apis mellifera* revint infectée en Europe, ce qui entraîne l'affaiblissement et la mort des colonies lors de l'hivernage. Introduit en Europe en 1980, il a fait son apparition dès 1982 dans les ruchers français, notamment à cause du commerce d'abeilles entre l'Europe et l'Asie. En 1987, c'est l'Amérique du Nord qui est à son tour touchée par le fléau (Fernandez et Coineau, 2010).

Dès les années 1990, l'Ecosse est contaminée en raison du commerce et de l'échange des reines. On estime la vitesse de propagation à huit kilomètres par an (Mark Daniels, 2010).

La varroase est considérée comme la maladie la plus grave et la plus destructrice de ruches de par son impact sur la vie de la colonie, sa forte capacité de diffusion et sa grande adaptabilité à l'environnement extérieur. Par ailleurs, sa grande résistance aux traitements phytosanitaires ou alternatifs, tels que le thymol, en fait un ennemi redoutable pour les ruchers (Clément et al., 2015). C'est désormais la seule maladie à déclaration obligatoire (MDO) depuis le décret n° 2006-178 du 17 février 2006, qui fixe la nouvelle liste des maladies réputées contagieuses et à déclaration obligatoire.

b. Anatomie

Dans les travaux, il ne sera pas fait de distinction d'espèces entre *Varroa destructor* (Photo 1), et *Varroa jacobsoni*, qui sont deux espèces proches et dont les seules différences sont visibles sur les séquences d'ADN (Navajas, 2010).



Photo 1 : *Varroa destructor* (par Kika De La Garza, Subtropical Agricultural Research Center Weslaco, Texas, USA, 2005)

Le *Varroa* fait partie de l'embranchement des arthropodes, du sous-embranchement des chélicérates, et de la classe des arachnides. Il fait partie du taxon des acariens. C'est un parasite hématophage, comme la tique, d'environ 2mm (Photo 1). Le *Varroa* possède quatre paires de pattes comme l'ensemble des acariens, et ne possède ni antennes, ni ailes, ce qui le distingue de la classe des Insectes. Il possède un rostre, appelé également gnathosoma (étymologiquement :

partie du corps qui porte les mâchoires), très développé, qui porte les pédipalpes sensoriels à l'extérieur, ainsi que les chélicères et l'hypostome au centre (Fernandez & Coineau, 2002). Son corps, appelé également idiosoma, est fait d'une seule pièce, à la différence des araignées qui sont constituées de deux pièces, et des insectes comme les abeilles qui sont constituées d'une tête, d'un thorax, et d'un abdomen.

c. Cycle de vie et contamination

Il existe un synchronisme important entre le cycle de vie du *Varroa* et celui de l'hôte. La coordination des deux cycles est telle que lorsque les *Varroa* sont trop nombreux par rapport à la population du couvain, qui n'est pas inquiété par l'infestation. Certains oocytes de la femelle *Varroa* deviennent plus petits, et la fertilité des femelles présente diminue. Il s'agit d'un phénomène réversible si la reine de la colonie peut à nouveau pondre suffisamment (RosenKranz, 1990). La femelle fondatrice *Varroa* va quitter l'ouvrière sur laquelle elle était accrochée au moment de l'operculation (Photo 2), ce qui lui permet de se glisser à l'intérieur de la cellule. La femelle fécondée est capable de pondre de deux à huit œufs dans une seule cellule, qui donneront plusieurs femelles et un seul mâle (Clément et al., 2015). Elle se glisse donc dans l'alvéole du couvain juste avant l'operculation et se reproduit avant la naissance de l'abeille adulte. Puis elle pond plusieurs œufs, et le premier est toujours un mâle. Les œufs passent par les stades de deutonymphe, protonymphe, puis de larve, avant de devenir adultes (Fernandez & Coineau, 2010). Ce dernier est ensuite capable de féconder les autres œufs qui sont forcément des femelles (Fernandez & Coineau, 2010), puis il meurt dans la cellule. Ce sont les femelles filles qui, une fois fécondées et adultes, peuvent s'accrocher à la future abeille adulte suite à l'éclosion. Une femelle *Varroa* peut avoir plusieurs cycles de pontes, de même que le mâle peut féconder plusieurs femelles (Clément et al., 2015). Il s'agit d'un système dit haplodiploïde. En effet, si les mâles sont toujours haploïdes et porteurs d'un chromosome X, les femelles sont toujours diploïdes, ce qui leur permet de choisir ou non d'être fécondées afin d'avoir une descendance orientée sexuellement ; c'est un système que l'on retrouve également chez les insectes.

Le nombre de femelles matures sera fonction du type de couvain qui est infecté. Dans le cas d'une infection d'un couvain mâle, pour lequel la durée d'operculation est plus importante, les femelles arrivant à maturité seront plus nombreuses, ce qui permettra de diffuser la parasitose de façon exponentielle. Il existe également une autre hypothèse concernant les infestations plus importantes des couvains mâles ; certaines substances attireraient les femelles fondatrices, telles que les esters, le linéolate de méthyle, le palmitate de méthyle, le palmitate d'éthyle, ou l'acide palmitique. Ces substances sont généralement beaucoup plus abondantes dans les couvains de faux bourdons (Fernandez & Coineau, 2010).



Photo 2 : Abeille parasitée par *Varroa destructor* (Source internet <https://tpeabeille.wordpress.com/2015/12/28/des-especes-nefastes/>)

Le *Varroa* semble également être en mesure de tromper le comportement hygiénique des ouvrières qui sont capables de repérer les abeilles infectées et de les exclure de la ruche (Fries et al., 1996). En effet, *Varroa destructor* a la capacité d'imiter les hydrocarbures cuticulaires (HC) de ses hôtes afin de tromper les ouvrières (Kather et al., 2015). Ceci pourrait en partie expliquer la raison pour laquelle le *Varroa* a pu si facilement s'exporter et continuer à se développer à travers le monde. Ce phénomène, très répandu chez les parasites d'insectes, est appelé mimétisme chimique (Bagnères & Lorenzi, 2010). *Varroa destructor* est capable

d'imiter passivement les hydrocarbures cuticulaires en fonction du stade de développement.

D'après les dernières études, il semblerait que cette faculté à imiter les odeurs corporels des hôtes soit plus développée chez les sérotypes présents chez *Apis cerana* que les sérotypes dits « coréens » retrouvés sur *Apis mellifera*. De plus, il est quasiment certain que le mécanisme de mimétisme chimique, que l'on pensait passif (Kather et al., 2015) et consistait simplement en l'imprégnation des HC de l'hôte par le *Varroa*, est en fait un mécanisme qui pourrait être actif ; le *Varroa* présent sur *Apis cerana* semblerait induire des modifications chimiques de son hôte, ce qui expliquerait en partie la bonne adaptation de ce sérotype sur d'autres espèces (Le Conte et al., 2015)

d. Action spoliatrice

Le *Varroa* femelle s'accroche par le biais de petites aiguilles, ce qui permet la succion de l'hémolymphe afin d'assurer la nutrition au détriment des couvains. Cette action spoliatrice diminue significativement le nombre de cellules dans l'hémolymphe et de protéines. Les pertes protéiques peuvent atteindre près de 20% par individu (Le Conte & Albouy, 2014). Les répercussions seront visibles dans la qualité de la gelée royale fabriquée par les nourrices, entraînant un développement anarchique des larves. La vie des abeilles après éclosion est alors réduite à une petite quinzaine de jours, voire moins si elles ont été exposées à plusieurs acariens. Il semblerait que ceci affecte également le poids moyen des abeilles (De Jong, 1982 ; De Jong et al., 1984). Enfin, on note un raccourcissement de l'abdomen et une malformation des ailes dans différentes études, d'origine non pathogène, qui est différente des symptômes observés lors d'une infection par Deformed Wing Virus (DWV : virus de l'aile déformée), un agent pathogène viral bien connu des apiculteurs (Marcangelli et al., 1992)

e. Action vectrice

Il existe enfin un dernier point majeur dans la varroase : la transmission de pathogènes lors de la piqûre. Il peut s'agir de virus, tels que les loques, le DWV, le virus israélien de la paralysie aiguë (IAPV : Israelite Acute Paralysis Virus), ou de bactéries, qui provoquent une surmortalité (Clément et al., 2015). On estime d'ailleurs que c'est cet aspect du parasitisme qui est le plus dévastateur pour la colonie (Abbo et al., 2016). L'exemple le plus à l'étude à l'heure actuelle est le cas de DWV. Dans des zones dépourvues de *Varroa destructor*, la charge virale de chaque abeille dans les colonies est de l'ordre de mille copies par individu, alors que ce chiffre grimpe à un milliard lorsque le *varroa* est présent (Martin et al., 2012). Des tests ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) ont révélé que les couvains infectés par *Varroa destructor* contiendraient significativement plus d'ARN (Acide RiboNucléique) des virus DVW et du Kashmir Bee Virus (KBV), qui sont deux des virus les plus mortels pour les colonies (Shen et al., 2005). Il semble que

l'association *Varroa*-DWV soit l'association la plus meurtrière connue à ce jour sur la population mondiale des abeilles domestiques (Martin et al., 2012). Les dernières données viennent confirmer cette hypothèse (Figure 15). Plus les abeilles sont exposées au *Varroa*, et plus les taux de DWV sont importants (Abbo et al., 2016). Ce virus à ARNm entraîne des déformations aérodynamiques, particulièrement au niveau des ailes, ainsi qu'abdominales (Clément et al., 2015). *Varroa destructor* serait également un activateur d'autres virus, tels que le KBV, le virus israélien de la paralysie aigüe (IAPV). Ce dernier semblerait être le deuxième plus gros responsable du CCD (Paudel et al., 2005).

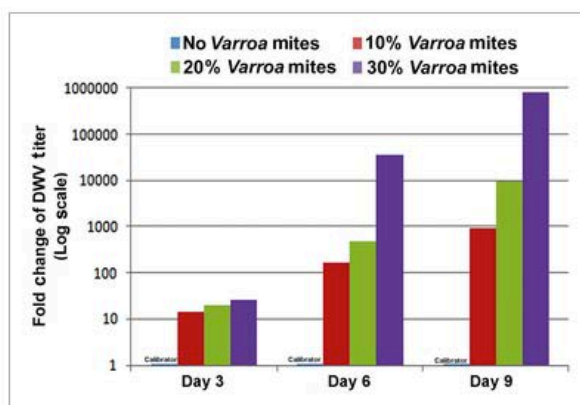


Figure 15 : Quantification relative de la charge de DWV chez les travailleurs adultes exposés à des niveaux variables d'acariens *Varroa* (0%, 10%, 20% et 30%). Le groupe témoin sans exposition à *Varroa* présentait le niveau de DWV le plus bas parmi les 4 groupes à chaque instant après l'infestation de *Varroa* et a donc été utilisé comme témoin. Le niveau de virus dans les autres groupes a été exprimé sous la forme d'une différence de n fois par rapport au témoin à chaque instant (Abbo et al., 2016).

Enfin, il existe une protéine dans sa salive qui s'attaque au système immunitaire des abeilles, ce qui les affaiblit, permet le développement des virus présents et entraîne des malformations mortelles sur les futures abeilles (Abbo et al., 2016). Dans plusieurs expériences, les chercheurs ont exploré l'immunité humorale et l'immunité cellulaire des abeilles (Figure 16 et figure 17).

Dans le cas de l'immunité humorale, qui est principalement régi par deux gènes codant deux peptides antimicrobiens (AMP), l'hyménoptacine et la défensine, il est clairement établi que la co-infection par *Varroa* et DWV entraîne une augmentation de l'expression de ces deux gènes, et donc une forte réponse immunitaire. Plus le

taux d'infestation était important, et plus la réponse était importante (Abbo et al., 2016)

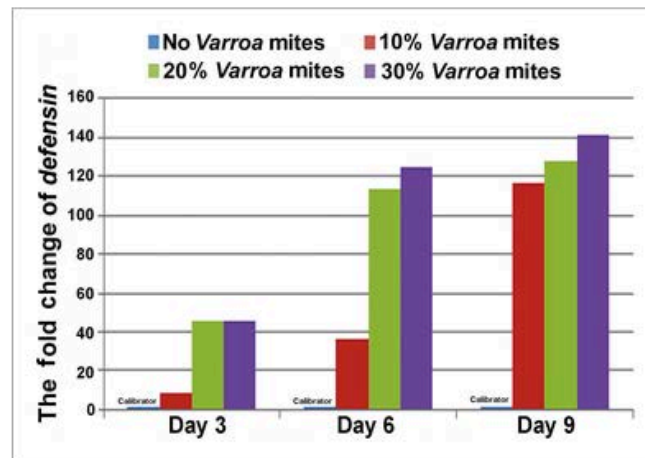


Figure 16 : Expression relative de la transcription immunitaire défensive en réponse à l'association *Varroa* / DWV. L'expression de la défensine était fortement régulée par le niveau de provocation par *Varroa* / DWV et la durée de l'alimentation de *Varroa*. Le groupe témoin sans challenge *Varroa* / DWV présentait le niveau d'expression de défensine le plus bas parmi les 4 groupes à chaque instant et était donc utilisé comme témoin. Le taux d'expression de la défensine dans les autres groupes a été exprimé sous la forme d'une différence de n fois par rapport au témoin à chaque instant (Abbo et al., 2016)

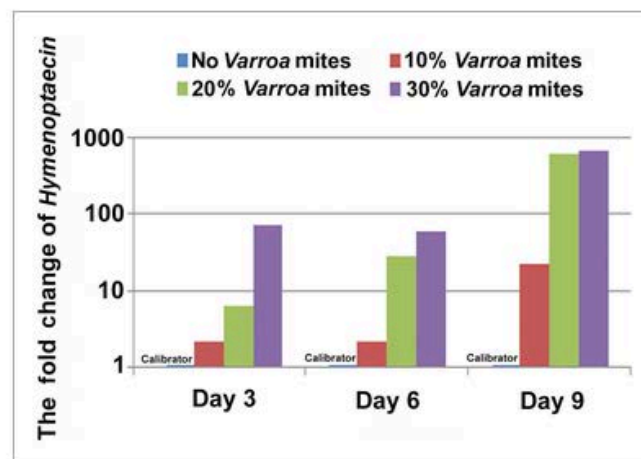


Figure 17 : Expression relative de la transcription immunitaire de l'hyménoptaecine en réponse à l'association *Varroa*/DWV. L'expression de l'hyménoptaecine a été fortement régulée par le niveau de provocation par *Varroa*/DWV et la durée de l'alimentation de *Varroa*. Le groupe témoin sans challenge *Varroa* / DWV présentait le niveau le plus bas d'expression d'hyménoptaecine parmi les 4 groupes à chaque point de temps et était donc utilisé comme témoin. Le taux d'expression de l'hyménoptaecine dans les autres groupes a été exprimé sous la forme d'une différence de n fois par rapport au témoin à chaque instant (Abbo et al., 2016).

En revanche, l'immunité cellulaire se comporte d'une manière complètement différente. Cette voie défensive, qui passe par l'expression du gène *Eater*, semble

se comporter comme une réponse rapide, innée, en l'absence d'anticorps tels que les deux molécules citées précédemment (Figure 18). En effet, la réponse s'atténue rapidement, comme si la réponse humorale prenait le relais. D'autres études devraient déterminer dans les prochaines années si cette réponse est fonction de la population d'abeilles ou du type de DWV auquel elles sont confrontées qui entraînent ces réponses immunitaires (Abbo et al., 2016).

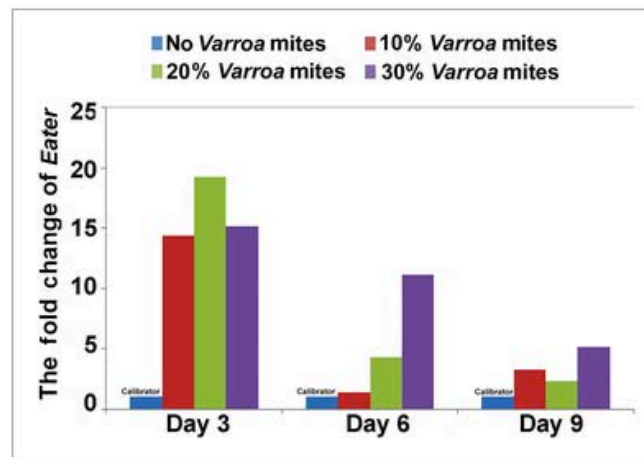


Figure 18 : Expression relative de la transcription immunitaire *Eater* en réponse à l'association *Varroa* / DWV. L'expression de *Eater* a été fortement régulée par le niveau de provocation au *Varroa*/DWV et la durée de l'alimentation de *Varroa*. Le groupe témoin sans test *Varroa*/DWV présentait le niveau le plus bas d'expression de *Eater* parmi les 4 groupes à chaque point de temps et était donc utilisé comme témoin. Le niveau d'expression de *Eater* dans les autres groupes était exprimé par une différence de n fois par rapport au témoin à chaque point de temps.

Les réponses immunitaires existent bel et bien chez les abeilles, mais il est possible que les infestations soient tellement importantes et chroniques qu'elles épuisent intégralement la colonie. On pense que les pertes importantes sont en fait dues à la combinaison de deux mécanismes : un affaiblissement du système immunitaire, et surtout la sélection de souches très résistantes de DWV par *Varroa destructor* suite à l'acquisition d'une résistance naturelle (Ryabov et al, 2014). Il semblerait en effet que lorsque l'abeille est uniquement exposée au DWV, celui-ci reste latent et n'entraîne pas de mortalité (Ryabov et al., 2014). Le *Varroa* semblerait contribuer à une sorte de sélection. Les études menées à Hawaï, au Royaume-Uni et aux Etats-Unis montrent que l'effondrement des colonies ne coïncide pas avec l'arrivée de *Varroa*, mais survient généralement dans un délai de deux à trois ans après l'infestation. Ce

temps de latence pourrait correspondre à la durée nécessaire à la sélection de variants viraux adaptés à la transmission par l'acarien (Martin et al., 2012). Ce sont donc plutôt les virus très virulents qui seraient à l'origine des pertes importantes au sein des colonies (Ryabov et al., 2014 ; Daniels, 2010). Bien évidemment, d'autres facteurs de stress, tel que les pesticides ou d'autres pathogènes, ont certainement un impact considérable sur les colonies d'abeilles.

C. *Nosema ceranae* et *Nosema apis*

a. Historique

Nosema ceranae est une microsporidie eucaryote unicellulaire, ubiquitaire, présent assez largement chez les animaux. C'est un parasite intracellulaire strict, mais peu de données sont disponibles sur sa répartition tissulaire au sein de l'hôte (Aufauvre, 2013). Deux espèces cohabitent sur l'ensemble des continents.

Nosema apis est le parasite indigène européenne qui infecte l'abeille. Elle a été décrite au début du XX^{ème} siècle par un zoologiste allemand, Enoch Zander. C'est l'espèce que l'on pensait être la seule jusqu'en 2005 responsable de la nosérose européenne sur *Apis mellifera* (GDAS 27).

Nosema ceranae, découverte par un chercheur suédois, Ingemar Fries, a été découverte à Taïwan et en Espagne (Higes et al. , 2006 ; Huang et al. ; 2007). L'espèce a été décrite en Chine pour la première fois, chez l'espèce asiatique *Apis cerana* (Fries et al., 1996), avant d'effectuer un changement d'hôte vers *Apis mellifera* (Botias et al., 2012a). Ce transfert pourrait être de la même origine que l'apparition de *Varroa destructor* en Europe, par le transfert de ruches et de marchandises apicoles entre les différents continents.

D'un point de vue morphologique, *Nosema apis* diffère par des spores plus petites et un filament polaire beaucoup plus enroulé (environ 30 spires) que celui de *Nosema ceranae* (GDSA27).

Aujourd'hui, il semble même que *Nosema ceranae* soit bien plus largement présente à travers le monde et serait même en train de remplacer définitivement *Nosema apis* chez l'abeille domestique européenne (Chen et al., 2012). Toutefois, les spores de *Nosema ceranae* étant plus sensibles aux variations de températures, il semble que les deux espèces cohabitent encore dans les régions nordiques d'Europe.

La nosérose fait partie de la liste des maladies réputées contagieuses (LMRC), au même titre que la loque américaine, l'acariose à *Tropilaelaps clarae* et le petit coléoptère de la ruche, *Aethina tumida*, depuis la parution du décret n° 2006-178 du 17 février 2006 (d'après Légifrance).

b. Cycle de vie et contamination

Peu de données sont disponibles concernant cette microsporidie, on ne peut donc que faire l'hypothèse d'un cycle de vie semblable à d'autres microsporidies connues.

Comme souvent, tout commence au stade de la spore, entité très résistante qui se disperse dans l'environnement extérieur, notamment face aux températures extrêmes (Fenoy et al., 2009) (Amigo et al., 1996 ; Fayer, 2004). L'intérieur de la spore renferme le sporoplasme binucléé. Elle possède une paroi épaisse qui lui assure une survie longue de plusieurs mois, voire plusieurs années dans le milieu extérieur (GDAS27). Deux zones se distinguent à l'intérieur. D'une part, il existe une zone moins épaisse, le micropyle, qui se rompt lors de la germination. Plus bas, le polaroplaste est constitué de plusieurs membranes lamellaires et tubulaires. A l'autre extrémité, la vacuole postérieure occupe la majeure partie du cytoplasme. De part et d'autre, le filament polaire, enroulé sur lui-même dans la spore, sera la structure qui se détend et pénétrera la cellule hôte.

L'abeille mellifère ingère des spores en se nourrissant *via* le pollen et les réserves de miel : on parle de transmission féco-orale. Lors de la trophallaxie, qui correspond à un échange de nourriture entre abeilles, on peut également avoir une contamination interindividuelle. Mais la principale source de contamination découle du nettoyage des cadres par les ouvrières, où elles sont en contact permanent avec les déjections de leurs congénères, donc potentiellement en contact avec des spores de *Nosema* (GDAS 27). Enfin, d'autres sources de contamination sont possibles : pillage de colonies contaminées et affaiblies, échange de mâles, manipulations apicoles.

Une fois l'abeille mellifère infectée, *Nosema* effectue principalement son développement dans les cellules du ventricule appelé intestin moyen, au niveau des cellules épithéliales (Higes et al., 2010). Il arrive également que l'on retrouve le parasite dans les glandes hypopharyngées, salivaires, les tubes de Malpighi, etc. (Chen et al., 2009 ; Copley & Jabaji, 2012). La spore va alors dévagner son tube polaire au niveau du micropyle qui rompt, et percer la membrane plasmique (= péritrophique chez l'abeille, membrane chitinique fabriquée par les cellules du ventricule) de la cellule afin de transférer le sporoplasme binucléé vers le cytoplasme de la cellule épithéliale. Cette étape est très rapide et se déroule en deux secondes environ (GDSA 27).

Après transfert, s'ensuit la phase de multiplication qui est divisée en deux étapes. Dans un premier temps, une phase de prolifération a lieu dans le cytoplasme, appelé mérogonie. Le méronte prend une forme allongée, se divise par fission cytoplasmique, ce qui entraîne un élargissement de la cellule intestinale, une réorganisation mitochondriale autour des mérontes (Aufauvre, 2013).

Dans un second temps, vient la phase de différenciation, ou sporogonie, qui correspond à la fin du cycle. Les sporontes deviennent des sporoblastes à la suite d'une ultime division. Les différentes structures impliquées dans la germination, dont le tube polaire, sont formées. Un épaissement de la membrane chitinique des sporoblastes s'effectue et permet la formation de spores matures (Keelin & Fast, 2002). La particularité de *Nosema* est la production de spores auto-infectieuses, c'est-à-dire qu'elles ne nécessitent pas un retour en milieu extérieur pour recommencer un nouveau cycle. Ceci permettrait une dissémination tissulaire du parasite beaucoup plus rapide (Higes et al.; 2007). Enfin, un mécanisme encore inconnu suggère que *Nosema* est capable d'empêcher l'apoptose des cellules ventriculaires afin d'améliorer le développement parasitaire (Higes et al.; 2013).

On estime qu'il faut environ trois jours au parasite pour achever son cycle de développement, et que cela aboutit à la production de plusieurs millions de spores par individu (Paxton et al., 2007 ; Smart & Sheppard, 2012).

La transmission est soit horizontale, c'est à dire entre individus de même génération, soit verticale. La transmission verticale a été suggérée par des prélèvements sur des ovaires de reines, qui étaient infectés par *Nosema*, ce qui pourrait amener une transmission entre individus de générations successives (Traver & Fell, 2012).

c. Nosérose et insecticides

Une étude a montré qu'il existait une synergie d'action entre *Nosema ceranae* et plusieurs insecticides (Aufauvre, 2013). C'est le cas de l'imidaclopride, qui a un fort impact sur l'immunité sociale des colonies. On sait que l'abeille a peu de moyens de défenses intrinsèques, et que l'immunité collective est majeure pour la survie de la colonie (Evans et al., 2006 ; Aufauvre, 2013). A une concentration de 70µ/kg d'imidaclopride, le taux de mortalité bondit (Alaux et al., 2010).

On constate également une consommation accrue de saccharose par les abeilles, qui est le signe d'un stress supplémentaire en présence des deux perturbateurs (Alaux et al., 2009 ; Figure 19). On s'aperçoit que si l'imidaclopride entraîne une augmentation faible de la consommation de saccharose, la nosérose accroît fortement la consommation de saccharose, de même que l'association *Nosema*/imidaclopride (Alaux et al., 2009). Cela suggère également qu'en augmentant l'appétit de l'abeille, la nosérose va donc l'exposer davantage à l'environnement extérieur et donc aux pesticides (Alaux et al., 2009).

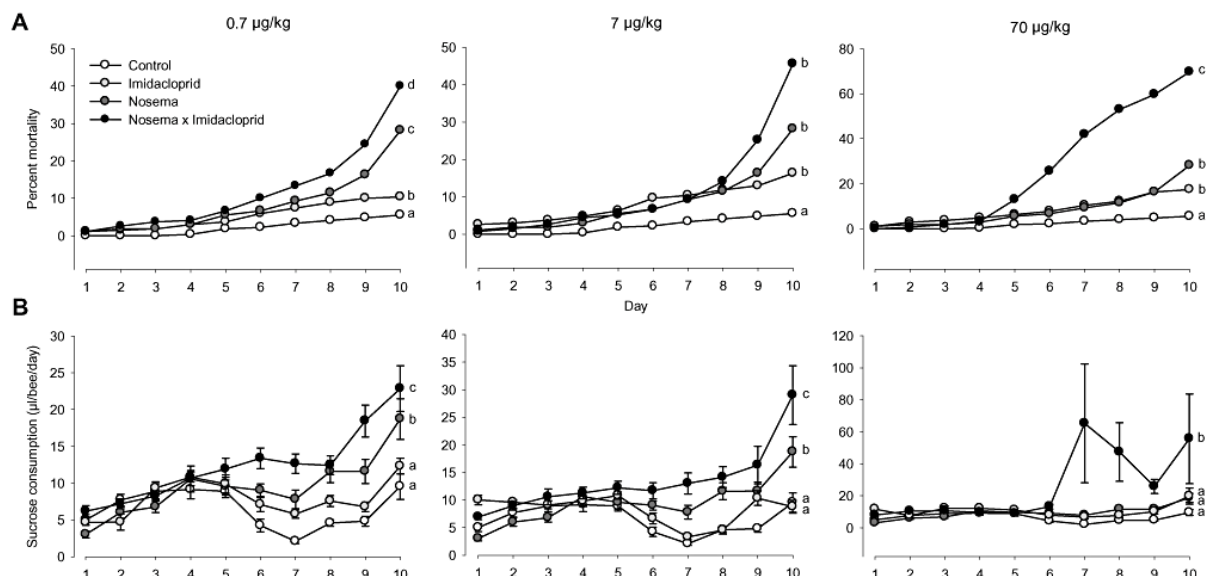


Figure 19 : Effet de l'infection par *Nosema* et / ou de l'exposition à l'imidaclopride sur la mortalité des abeilles et les demandes énergétiques.

A. Effet sur la mortalité. La mortalité est exprimée en pourcentage du nombre cumulé d'abeilles mortes par cage et par jour ($n = 270$ abeilles). Trois colonies ont été analysées, avec trois réplicats en cage pour chaque colonie ($n = 30$ abeilles par cage). Chaque lettre indique des différences significatives entre les traitements ($P < 0,05$).

B. Effet sur la demande énergétique. La consommation de saccharose est exprimée par la quantité de solution de saccharose (50% p / v, distribution ad libitum) consommée par jour et par abeille ($n = 30$ abeilles par cage) pendant les 10 h de traitement. Les mêmes cages que dans A ont été analysées. Chaque lettre indique des différences significatives entre les traitements ($P < 0,05$) (Alaux et al., 2009).

De plus, l'association entre *Nosema* et l'imidaclopride entraînerait une diminution de l'activité de la glucose-oxydase (GOX), enzyme permettant la production de peroxyde d'hydrogène au sein de la colonie, antiseptique naturel présent dans la nourriture des larves afin de stériliser la nourriture (Alaux et al, 2009 ; Figure 20). Celle-ci est majoritairement fabriquée dans les glandes hypopharyngées (HPG). La diminution de la taille de ces glandes ne semble pas avoir d'impact sur la production de GOX, bien que la diminution de la taille des HPG soit liée à la présence de *Nosema* (Wang & Moller, 1969). Il ne semble donc pas y avoir de lien entre la taille des HPG et la production de GOX (Alaux et al., 2009)

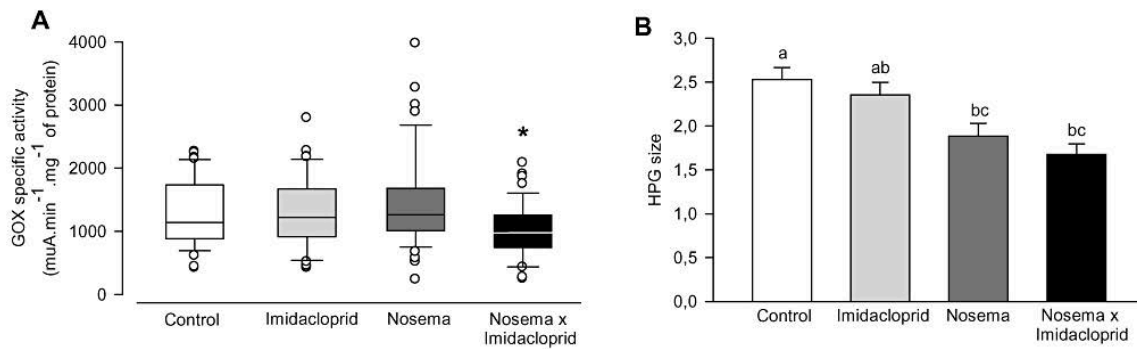


Figure 20 : Effet de l'infection par *Nosema* et / ou de l'exposition à l'imidaclopride sur l'immunité sociale.

A. Activité de la glucose oxydase au jour 10 sur huit abeilles par cage pour chaque groupe expérimental (n = 192 abeilles). Les boîtes montrent la 1^{ère} et la 3^{ème} gamme interquartile avec la ligne indiquant la médiane. Whiskers englobent 90% des individus, au-delà de laquelle chaque aberration est représentée par des cercles. * indique une différence significative entre les groupes *Nosema* x imidaclopride et les trois autres groupes (P <0,05).

B. Taille des glandes hypopharyngées (HPG) au jour 10 dans sept à huit abeilles par cage pour chaque groupe expérimental (n = 191 abeilles). Pour chaque paramètre, trois colonies ont été analysées, avec deux réplicats en cage pour chaque colonie. La taille a été indexée de 1 à 5 (voir Procédures expérimentales). Chaque lettre indique des différences significatives entre les traitements (P <0,05). Les données montrent la moyenne ± SE.

D'autres études ont montré que les néonicotinoïdes augmentaient de manière significative la sensibilité des abeilles à l'infection par *Nosema ceranae* (Alaux et al., 2009 ; Vidaux et al., 2011 ; Pettis et al., 2012 ; Wu et al., 2012). C'est le cas notamment avec l'imidaclopride auquel des colonies ont été exposées à des doses encore inférieures aux doses pour lesquelles on observe des effets sur la longévité des ouvrières et leur activité de butinage.

Des études ont également été faites spécifiquement sur les reines (Figure 21), et montrent des similitudes de résultats, malgré des capacités physiologiques supérieures de défenses chez cette population particulière (Dussaubat et al., 2016). Non seulement une surmortalité a été constatée, mais les durées de vie moyennes des reines ont aussi considérablement chuté lors d'une double exposition aux néonicotinoïdes et à *Nosema ceranae* (Dussaubat et al., 2016). Il est clairement mis en évidence une croissance importante de *Nosema* dans les colonies exposées à l'imidaclopride (Pettis et al., 2012), ce qui laisse à penser que la synergie des deux éléments combinés est délétère pour les abeilles domestiques.

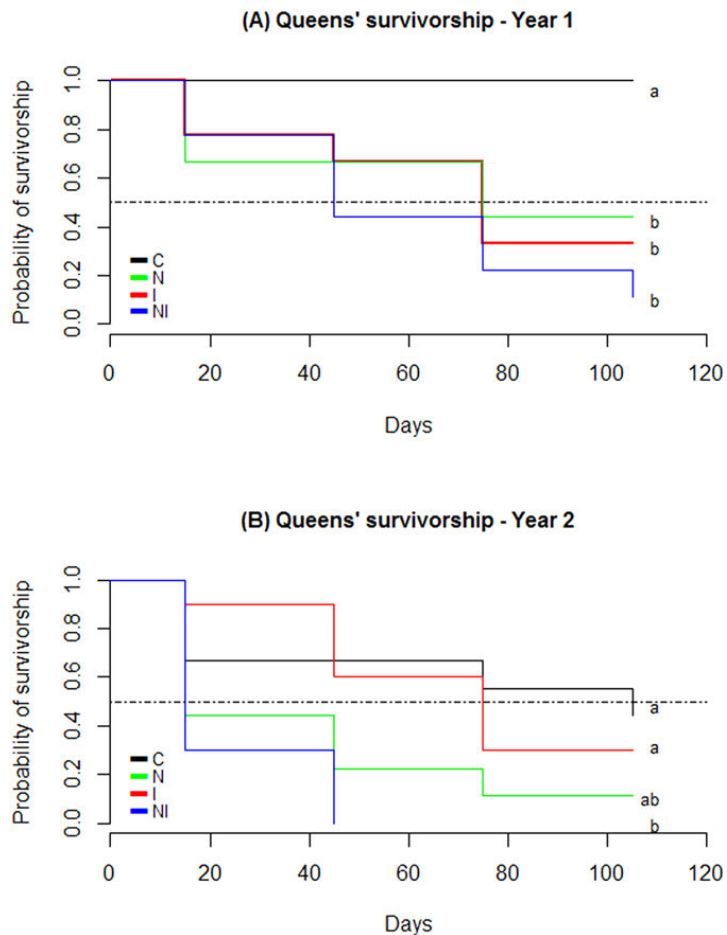


Figure 21 : Courbes de survie des reines abeilles dans le champ.

En laboratoire, les reines ont été divisées en quatre groupes pour être parasités et exposés aux pesticides: reines infectées par *N. ceranae* (N), reines exposées à l'imidaclopride (I), infectées et exposées à des reines d'imidaclopride (NI) et à des reines témoins. (C). Les reines ont ensuite été introduites dans des noyaux d'accouplement placés dans le champ pendant 3 mois. (A) Courbes de survie pour l'année 1 (n = 8, 9, 9, 9 pour C, I, N et NI) et (B) courbes de survie pour l'an 2 (n = 9, 10, 9, 10 pour C, I, N et NI). Le jour 0 correspond à l'introduction des reines dans les noyaux. La durée de vie médiane (T50) est représentée par une ligne point-tiret. Des lettres différentes indiquent des différences inférieures à 5% de signification. Test de Log-Rank pour 2010: C vs. N: p-value = 0.0151; C contre I: valeur p = 0,0058; C contre NI: valeur p = 0,0002; I contre N: valeur p = 0,774; N contre NI: valeur p = 0,212; I contre NI: valeur p = 0,312; et test Log-Rank pour 2012: C vs. N: p-value = 0.0778; C contre I: valeur p = 0,643; C contre NI: valeur p = 0,0046; I contre N: valeur p = 0,0787; N contre NI: valeur p = 0,219; I contre NI: valeur p = 0,001 (Dussaubat et al., 2016)

Une collaboration entre l'INRA et le CNRS a mis la lumière sur les effets de deux autres insecticides associés à *Nosema* : le thiaclopride et le fipronil.

Les expériences ont été réalisées sur six groupes différents, en sensibilisant les abeilles à *Nosema* (Figure 22). Dans un second temps, on les a exposés au fipronil et au thiaclopride ; le résultat est spectaculaire. Alors que l'on atteint 47% de mortalité dans les groupes uniquement exposés à *Nosema*, ce taux est au delà des 80% quand le fipronil entre en jeu, et de 71% avec le thiaclopride (Vidaux et al., 2011).

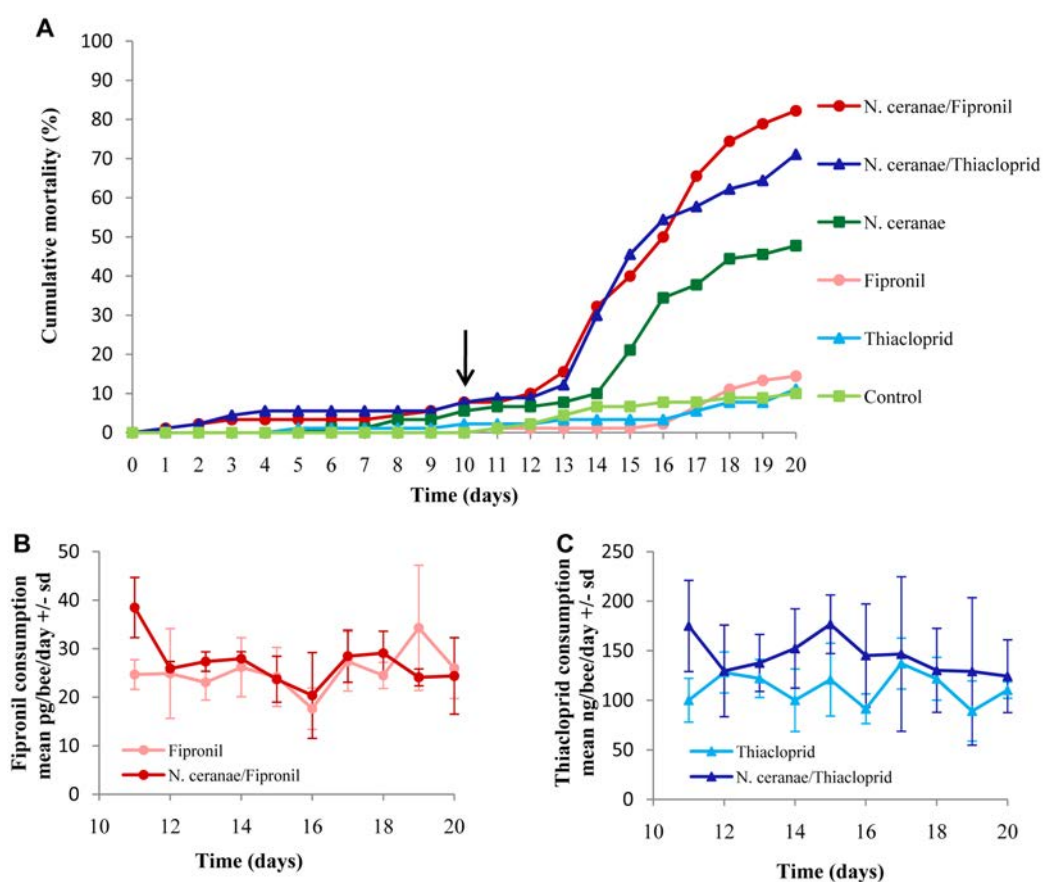


Figure 22 : Effet de l'infection par *N. ceranae* sur la sensibilité des abeilles aux insecticides.

A. Pourcentage de mortalité d'abeilles (i) témoin non infecté (carré vert clair), (ii) infecté par *N. ceranae* (carré vert foncé), (iii) non infecté et exposé de façon chronique au fipronil (cercle rouge clair) (iv) non infectés et chroniquement exposés au thiaclopride (triangle bleu clair), (v) infectés par *N. ceranae* puis exposés de façon chronique au fipronil (cercle rouge foncé) et (vi) infectés par *N. ceranae* puis exposés de façon chronique au thiaclopride (triangle bleu foncé). La flèche indique le temps d'exposition aux insecticides (10 jours p.i.). Les données représentent le pourcentage de mortalité cumulée calculé à partir de 3 cages contenant chacune 50 abeilles. Les moyennes des consommations de fipronil (B) et de thiaclopride (C) (pg ou ng / abeille / jour +/- écart-type, sd) ont été contrôlées quotidiennement jusqu'à 20 jours p.i. pour les abeilles infectées (rouge foncé ou bleu) et non infectées (rouge clair ou bleu) (Vidaux et al., 2011)

L'étude a également montré que l'association de *Nosema* et des pesticides pouvait avoir un effet sur le nombre de spores présentes dans chaque abeille (Figure 23). Si le fipronil n'accroît pas la production de spores, comme pour l'imidaclopride dans des précédents travaux (Alaux et al., 2009), le thiaclopride a en revanche potentialisé la production de spores par *Nosema* (Vidaux et al., 2011).

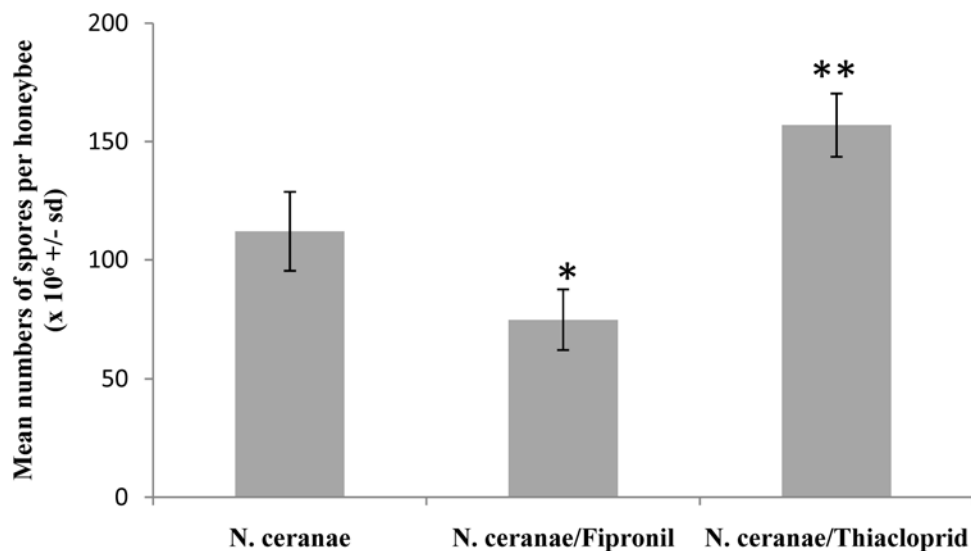


Figure 23 : Effet de l'exposition aux insecticides sur la production de spores de *Nosema ceranae*. La production de spores dans le tube digestif (intestin et rectum) a été évaluée à 20 jours p.i. Les données représentent le nombre moyen de spores / abeilles ($\times 10^6$ +/- écart-type, sd) de 15 abeilles domestiques, 20 jours p.i. Les astérisques indiquent le niveau de signification à $p < 0,05$ (*) et $p < 0,01$ (**). (Vidaux et al., 2011)

Cette étude montre également que la dose aiguë nécessaire pour tuer 50% d'un échantillon (DL50) ne rend pas compte de la toxicité chronique à des doses sublétales (Vidaux et al., 2011). Rappelons que le DL50 est la valeur de référence de toxicité aiguë des insecticides (Vidaux et al., 2011).

Lors de cette expérience, les chercheurs se sont rendus compte que les abeilles exposées uniquement à des pesticides à des doses sublétales n'étaient pas plus décimées qu'avec la présence de *Nosema ceranae*. Cependant, elles présentaient des symptômes anormaux, tels que des tremblements, des troubles de la coordination, qui les empêcheraient potentiellement de rejoindre leur essaim en milieu naturel (Vidaux et al., 2011).

L'évaluation de la toxicité chronique est donc primordiale pour mieux aborder la survie de l'abeille domestique, sans compter qu'en milieu naturel, les abeilles sont exposées à de nombreux agents stressants, comme le *Varroa*, des virus, des acaricides. Tous ces facteurs pourraient à terme condamner l'abeille et entraîner des mortalités bien supérieures à celles constatées *in vitro*.

d. Symptômes

α) Symptômes comportementaux

Les premiers symptômes sont avant tout comportementaux. Les abeilles éprouvent des difficultés à voler et récoltent moins de pollen. En effet, la machinerie cellulaire est essentiellement utilisée à des fins parasites, ce qui entraîne une baisse de l'énergie disponible pour l'abeille et notamment pour ses muscles alaires. Les vols semblent donc être moins longs. Il s'avère également que les abeilles retournent moins souvent à la colonie, et mettent deux fois plus longtemps à y revenir dans le cas d'un vol normal, par rapport à une abeille saine (Kralj & Fuchs, 2010). L'abeille serait donc globalement plus fatiguée et moins présente dans la colonie, tout en produisant moins de miel.

A contrario, les abeilles ont un comportement paradoxal en sortant plus souvent au cours d'une même journée (Dussaubat et al., 2013). Il est possible que cela soit en lien avec un besoin énergétique plus important, la volonté d'évacuer les spores loin de la ruche, compenser les faibles capacités de vol au détriment de sorties plus nombreuses, ou encore pour préserver la colonie en isolant les individus infectés (Dussaubat et al., 2013). On observe une trophallaxie moins marquée chez les ouvrières, certainement moins partageuses de nourriture, et encore une fois peut-être dans un but de limiter la transmission parasite. Ceci a pour conséquence de réduire les pontes, qui peut même conduire à un phénomène de supersédure, qui correspond au remplacement de la reine sans relation avec le rythme chronobiologique de la colonie (Dussaubat et al., 2013).

Il semble également que l'apprentissage olfactif soit moins bon chez les abeilles infectées par *Nosema ceranae*, même si cela reste à l'heure actuelle encore peu significatif et nécessitera des études complémentaires (Piiroinen & Goulson, 2016).

β) Symptômes physiologiques

Nosema se développe principalement au niveau de l'épithélium intestinal, et cela va entraîner une première conséquence grave sur l'abeille. Normalement organe résistant et se régénérant rapidement chez les insectes (Sahai-Hernandez et al., 2012), il est en proie à un développement rapide du parasite au sein des cellules basales (Higes et al., 2007). Ces cellules présentent de larges vacuoles dans leur cytoplasme, des membranes cellulaires rompues, et des noyaux dits pycnotiques, c'est-à-dire que la chromatine est extrêmement condensée (Higes et al., 2007). Ces lésions entraînent une destruction progressive de l'épithélium, qui peut donc aller potentiellement jusqu'à l'arrêt de la fonction digestive (Garcia-Palencia et al., 2010). En effet, il a été démontré que le renouvellement cellulaire dépendait de la voie de signalisation Wingless (Garcia-Palencia et al., 2010), et que les quatre gènes impliqués dans l'activation de cette voie sont relativement peu exprimés dans les intestins grêles des abeilles infectées (Dussaubat et al., 2012).

Des modifications hormonales et phéromonales sont également à noter. Les activités et l'organisation sociale d'une colonie dépendent fortement de ces voies de signalisation chimiques interindividuelles. Les phéromones permettent notamment de répartir les tâches selon l'âge des individus: on nomme ce phénomène le polyéthisme d'âge. Ce phénomène découle de l'action d'hormones au niveau individuel et de phéromones au niveau social.

L'hormone juvénile III, appelée également Juvenile Hormone (JH), est l'hormone facilitant le passage de la nourrice au statut de butineuse. Cette hormone inhibe la synthèse de vitellogénine, une hormone dont le rôle est l'inverse de la JH et qui permet de garder une abeille à l'intérieur de la colonie pour effectuer ses tâches liées au couvain (Amdam et al., 2003), ainsi que de la protéger contre les différents facteurs de stress oxydatif (Dussaubat et al., 2016). Dans les colonies infectées, les taux de JH sont largement supérieurs par rapport aux abeilles non infectées, et ceci à des stades de développement identique (Ares et al., 2012). De plus, le gène codant la vitellogénine est moins exprimé chez les nourrices, alors qu'on attend exactement l'inverse pour cette tranche d'individus (Goblirsch et al., 2013). Les

abeilles infectées seraient donc matures plus rapidement et seraient incitées à devenir des butineuses plus précocement (Goblirsch et al., 2013).

L'oléate d'éthyle, une phéromone également impliquée dans le passage de l'abeille vers une activité de butinage, est majoritairement présent en grande quantité chez les ouvrières les plus âgées. Cette molécule a pour fonction de retarder l'activité de butinage chez les abeilles les plus jeunes (Leoncini et al., 2004), notamment en fonction des conditions climatiques. Plus l'infection par *Nosema* est importante, plus ces taux sont importants chez les ouvrières selon deux études (Dussaubat et al., 2010 ; Maisonmasse, 2010). Cela laisse à penser que les ouvrières infectées sont plus actives en dehors de la ruche grâce à l'augmentation de la JH causée par *Nosema*, mais qu'elles imposent également un retard important de maturation des abeilles non infectées du même âge (Dussaubat et al., 2013).

Enfin, la reine est également affectée. Il est important de préciser que même si la reine a de fortes ressemblances avec les ouvrières, il semble qu'elle réagisse de manière complètement différente, et soit beaucoup plus résistante que les ouvrières (Dussaubat et al., 2016). Sa capacité à augmenter les taux de vitellogénine, indispensable pour lutter contre le stress oxydatif, et les activités enzymatiques tels que la GST (glutathion-S-transférase) ou la CAT (catalase), nécessaires à la protection contre les xénobiotiques et le stress oxydatif, lui confère une protection bien plus importante que les ouvrières. Il semble également qu'elle soit en mesure d'intensifier les mécanismes de détoxification grâce à la synthèse de deux enzymes, CaE alpha et CaE p (Dussaubat et al., 2016). Toutefois, malgré ces augmentations physiologiques, notamment de CAT qui lutte contre les espèces réactives de l'oxygène (ROS) largement retrouvées dans les infections à *Nosema*, cela paraît insuffisant au regard du stress imposé par le parasite, et n'empêche pas la mortalité, notamment en cas d'infection conjointe avec l'imidaclopride (Dussaubat et al., 2016).

χ) Symptômes biologiques

On a vu plus haut que le métabolisme cellulaire de l'abeille était détourné au profit de la croissance du parasite. La réorganisation mitochondriale permet d'apporter à *Nosema* l'ATP nécessaire à son développement. De plus, une étude montre que les microsporidies pourraient détourner la voie de la glycolyse afin de produire davantage d'énergie (Williams, 2009 ; Alliferis et al.; 2012).

Ce détournement conduit à un déséquilibre nutritionnel de l'abeille qui se traduit par un stress nutritionnel. Le taux d'acides aminés libres chute chez les abeilles contaminées (Aliferis et al.; 2012). De plus, les hydrates de carbone se font plus rares chez une abeille dont c'est habituellement la principale source d'énergie en vue de la fabrication d'ATP cellulaire (Aliferis et al. ;2012). C'est le cas par exemple du tréhalose, un disaccharide de glucose, qui est deux fois moins présent chez les abeilles infectées (Mayack & Naug, 2010).

En revanche les taux de glucose restent significativement normaux, ce qui pourrait être le signe d'une dégradation du tréhalose en glucose et donc d'une demande énergétique accrue lors de l'infection (Mayack & Naug, 2010). Ce pillage énergétique bouleverse la biologie de l'abeille et semble se traduire par une augmentation de l'appétit et de la consommation de saccharose (Alaux et al., 2009), mais ne se traduit pas par une augmentation de l'espérance de vie de la colonie. En revanche, il semble que l'apport de saccharose en quantité limitée affecte l'espérance de vie. La survie de l'abeille et donc de la colonie ne serait donc en jeu que dans le cas où elle n'arriverait pas à supporter le stress énergétique imposé par *Nosema ceranae* (Mayack & Naug, 2009)

ε) Effets sur le système immunitaire

Apis mellifera possède un certain nombre de gènes impliqués dans l'immunité humorale telle que « Imd » et « Toll » (desquels découlent la défensine et l'hyménoptacine), JNK, JAK/STAT (Evans et al., 2006), ainsi que dans l'immunité cellulaire. Mais ses capacités défensives restent plus faibles que chez d'autres insectes telles que la drosophile ou encore le moustique (AuFauvre, 2013).

Contrairement à ce qui se produisait lors de l'infection par *Varroa destructor*, les études suggèrent plutôt une diminution significative de l'expression de plusieurs gènes impliqués dans les immunités humorale et cellulaire, notamment des AMP (défensine et hyménoptacine) (Antunez et al., 2009, Dussaubat et al., 2012). En revanche, ce phénomène semble s'estomper après douze jours d'infections (Chaimanee et al., 2012) et les niveaux de transcription de certains gènes liés à l'immunité tels que la défensine ou la glucose oxydase sont même supérieurs à la normale dix jours après l'infection (McDonnell et al., 2013). Malgré tout, cette augmentation de transcription de gènes ne s'est pas traduit par une activité enzymatique supérieure ou inférieure avec ou sans infection à *Nosema*, de même que les hémocytes restent à des valeurs normales (THC : Total Hemocytes Counts) (Alaux et al., 2009 ; Figure 24).

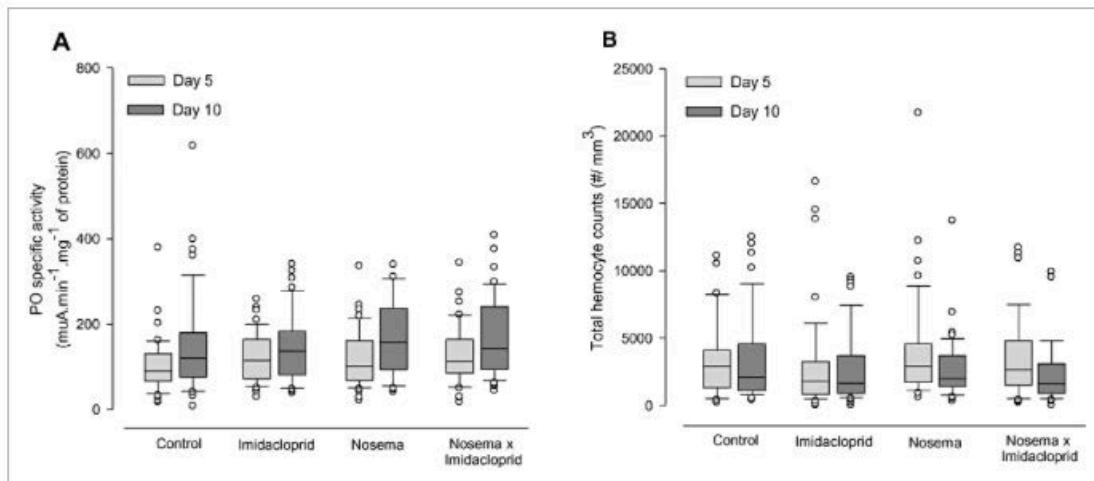


Figure 24 : Effet de l'infection par *Nosema* et / ou de l'exposition à l'imidaclopride sur l'immunité individuelle.

A. Nombre d'hémocytes totaux aux jours 5 et 10 de sept à huit abeilles par cage pour chaque groupe expérimental (n = 373 abeilles).

B. Activité de la phénoloxydase aux jours 5 et 10 chez huit abeilles par cage pour chaque groupe expérimental (n = 384 abeilles). Pour chaque paramètre, trois colonies ont été analysées, avec deux réplicats en cage pour chaque colonie. Les boîtes montrent la 1ère et la 3ème gamme interquartile avec la ligne indiquant la médiane. Whiskers englobent 90% des individus, au-delà de laquelle chaque aberration est représentée par des cercles (Alaux et al., 2009)

Concernant l'immunité collective, les chercheurs se sont principalement intéressés à la GOX (glucose-oxydase), principalement produite dans les glandes hypopharyngées (Ohashi et al., 1999). *Nosema* semble en mesure de réduire largement l'activité enzymatique de la glucose-oxydase qui est à l'origine du peroxyde d'hydrogène, lorsqu'elle est associée uniquement à l'imidaclopride (Aufauvre, 2013). Cette substance est fabriquée par les ouvrières afin d'aseptiser la nourriture destinée au couvain (Sano et al., 2004). Si cette production n'est pas maintenue, les risques de contamination sont élevés et la survie de la colonie peut être en jeu. Le maintien des mêmes niveaux de production nécessiterait un nombre d'ouvrières bien supérieur ; par conséquent l'apport alimentaire de l'extérieur pourrait s'en trouver amputé et mettre également en jeu la vie de la colonie entière. La présence seule de *Nosema* semblerait ne pas avoir d'impact significatif sur la production de GOX (Alaux et al., 2009).

D. Israel Acute Paralysis Virus (IAPV)

a. *Historique*

Le virus israélien de la paralysie aiguë (en anglais Israel Acute Paralysis Virus, IAPV) a été décrit pour la première fois en Israël en 2002 (Maori et al., 2007a).

En 2007, d'importants travaux ont été effectués afin d'expliquer l'apparition du CCD aux Etats-Unis et de trouver les responsables de l'effondrement sans précédent des colonies d'abeilles. Une approche métagénomique a été utilisée pour détecter les potentiels pathogènes associés au CCD (Cox Foster et al., 2007). Elle a décrit de nombreux pathogènes déjà cités comme ravageurs de colonies, mais il est apparu aux yeux de la communauté scientifique une corrélation frappante entre la présence de l'IAPV et le déclenchement du CCD. La concentration en virus dans les colonies atteintes du CCD est beaucoup plus importante que dans les colonies qui ne l'ont pas été (Daniels, 2010).

Sur l'analyse d'une trentaine de colonies affectées par le phénomène, vingt-cinq étaient porteuses du virus, alors que ce pathogène n'est présent que dans 5% des cas sur des colonies sorties indemnes de l'effondrement (Cox-Foster et al., 2007). Un virus finalement courant, quand on découvre qu'il est également présent sur des colonies australiennes importées, et dans des échantillons de gelée royale en Chine. Dès lors, les recherches sur ce virus se sont intensifiées afin de comprendre par quels mécanismes l'IAPV et les virus apparentés tels que le KBV peuvent causer autant de mortalité sur les colonies d'abeilles. Après analyse de plusieurs génomes provenant de ruchers de Californie, Maryland ou Pennsylvanie qui avaient bénéficié d'importations australiennes, il s'est avéré que la présence de l'IAPV aux Etats-Unis est antérieure au CCD et aux importations d'abeilles australiennes. La difficulté d'expliquer la mortalité des colonies est que les virus peuvent être impliqués dans l'hécatombe, sans toutefois en être à l'origine. Toutefois, le virus reste un sérieux candidat à l'explication de l'effondrement des colonies en 2006, et pour l'instant qualifié de marqueur significatif du CCD (Chen & Evans, 2007).

b. Caractéristiques

Comme la majorité des virus découverts à ce jour chez *Apis mellifera*, il s'agit d'un virus à ARN simple brin positif de 9487 nucléotides, du groupe IV, au genre des *Dicistroviridae*, famille des Picornavirus (Maori et al., 2007a). Sa capsule icosaédrique mesure 27nm de diamètre. Il présente deux cadres ouverts de lecture (ORF, Open Reading Frame) susceptibles d'être traduits en deux groupes de protéines : l'un constitue la capsid du virus, l'autre est un ensemble de protéines non structurales (Olivier & Ribière, 2006). Il ressemble fortement au KBV, ainsi qu'à l'ABPV (Acute Bee Paralysis Virus). On retrouve une homologie de séquences d'ARN respectivement de 65,9% et 73,8% avec ceux-ci.

Récemment, des versions ADN de segments génomiques de virus à ARN non-rétro ont été trouvées dans leurs génomes respectifs, et l'échange réciproque de séquences génomiques entre l'abeille domestique et le virus a été démontré (Maori et al., 2007b). En particulier, l'IAPV et les abeilles échangent des séquences génomiques, et les abeilles portant des segments des séquences virales sont résistantes aux IAPV (Maori et al., 2007b). Environ 30% des abeilles étudiées sont porteuses de séquences génomiques d'origine virale (Maorie et al., 2007a).

c. Contamination

Comme vu dans le chapitre du *Varroa destructor*, il semble que la dissémination de cet acarien depuis les années 1980 à travers le monde a eu pour effet de modifier la prévalence de certains virus, et leur impact sur la vie des colonies. En effet, les virus ne semblent être réellement pathogènes seulement dans les cas où la colonie est affaiblie. Or, le *Varroa* est à la fois un vecteur de virus, mais son action spoliatrice affaiblit aussi les individus d'une colonie. Avant l'expansion de *Varroa destructor*, le virus ABPV, proche cousin de l'IAPV, n'avait jamais été détecté en association avec une maladie ou des mortalités en conditions naturelles. Après l'arrivée de l'acarien en Europe, il a été démontré que l'ABPV était transmis par l'acarien et que cette infection virale était l'une des principales causes de mortalité d'abeilles adultes et de couvain, entraînant des surmortalités de colonies (Ribière et al., 2008). La co-

infection par plusieurs virus semble d'ailleurs être la règle plutôt que l'exception ; en effet, il est rare de trouver des abeilles infectées par un seul virus (Schmittgen & Livak, 2008). L'IAPV suit ce modèle d'après les dernières études (Di Prisco et al., 2011). Il semble également que les colonies les plus fortes, c'est-à-dire avec le plus de nourriture, de couvains et d'ouvrières soient plus aptes à résister au virus (Figure 25). C'est ce que montre une étude, qui indique que non seulement les taux d'abeilles infectées dans les colonies fortes sont plus faibles, mais que la survie est supérieure par rapport aux colonies faibles infectées (Chen et al., 2014).

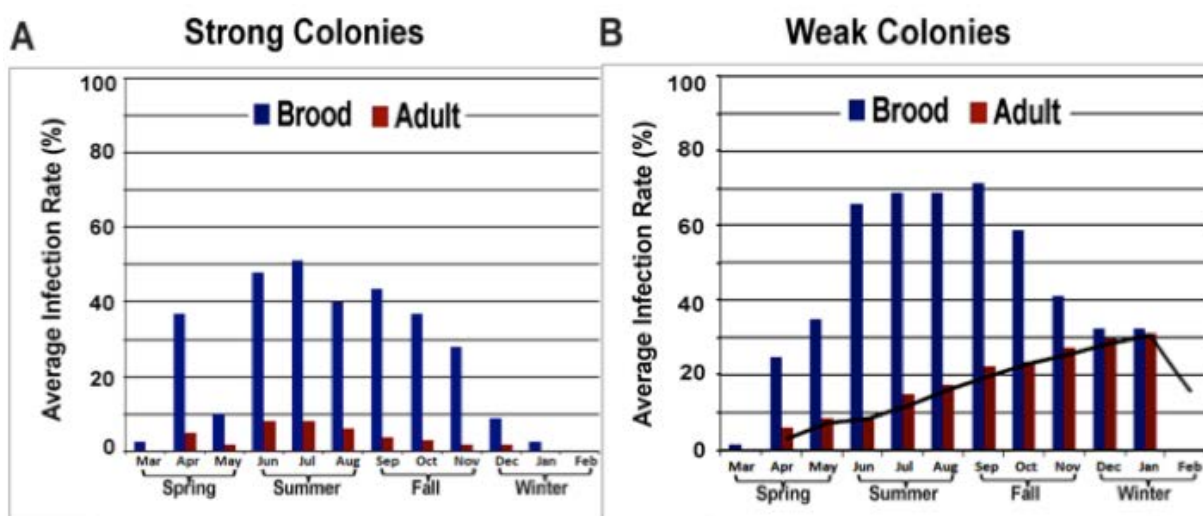


Figure 25 : Prévalence moyenne de l'infection par le virus IAPV en un seul mois. (A) colonies fortes. (B) Colonies faibles. Pour les colonies fortes et faibles, la prévalence de l'infection par le virus IAPV dans la couvée était significativement plus élevée que chez les abeilles adultes. Alors que les fortes colonies ne présentaient pas de variation saisonnière significative de l'infection par le virus IAPV, le taux d'infection de l'IAPV chez les abeilles adultes dans les colonies faibles augmentait du printemps à l'été et à l'automne et atteignait son maximum en hiver. Toutes les colonies fortes ont survécu pendant les mois froids de l'hiver tandis que les colonies faibles se sont effondrées avant février (Chen et al., 2014).

Les travaux actuels sur le CCD indiquent que des résultats préliminaires tendraient à montrer que ce phénomène serait transmissible, et donc potentiellement dû à un ou des agents pathogènes. En effet, le transfert d'essaims non atteints par le CCD dans du matériel ayant contenu des colonies touchées par le CCD a conduit à l'obtention de colonies qui sont plus faibles, dont les populations d'ouvrières sont moins nombreuses, que des colonies transvasées dans du matériel préalablement irradié, donc vierge de toute pathogénicité (Pettis et al., 2007).

d. Dissémination

L'IAPV infecte tous les stades de développement et les sexes différents d'*Apis mellifera*. Une étude récente montre que le virus se développe principalement dans les tissus nerveux et intestinaux, ainsi que dans les glandes hypopharyngiennes (Figure 26). Le virus est aussi retrouvé dans la nourriture, notamment dans la gelée royale, ce qui suggère qu'elle facilite la transmission horizontale (Chen et al., 2014). Or, la gelée royale est un produit synthétisé en partie grâce aux glandes hypopharyngiennes et nourrit les reines et les larves. La gelée royale, ainsi que les nectars partagés par les travailleurs adultes, fournissent ainsi une voie importante pour le mouvement viral dans la colonie (Chen et al., 2014).

La détection d'importantes populations d'IAPV dans les voies digestives et les fèces de la reine vont dans le sens d'une contamination par voie alimentaire, lors de la trophallaxie entre membres de la colonie (Figure 26). La dissémination semble être également possible par voie verticale. En effet, les ovaires de la reine sont généralement infestés par le virus, de la même façon que le sperme des mâles est contaminé. Il paraîtrait possible que la transmission soit même vénérienne (Chen et al., 2014).

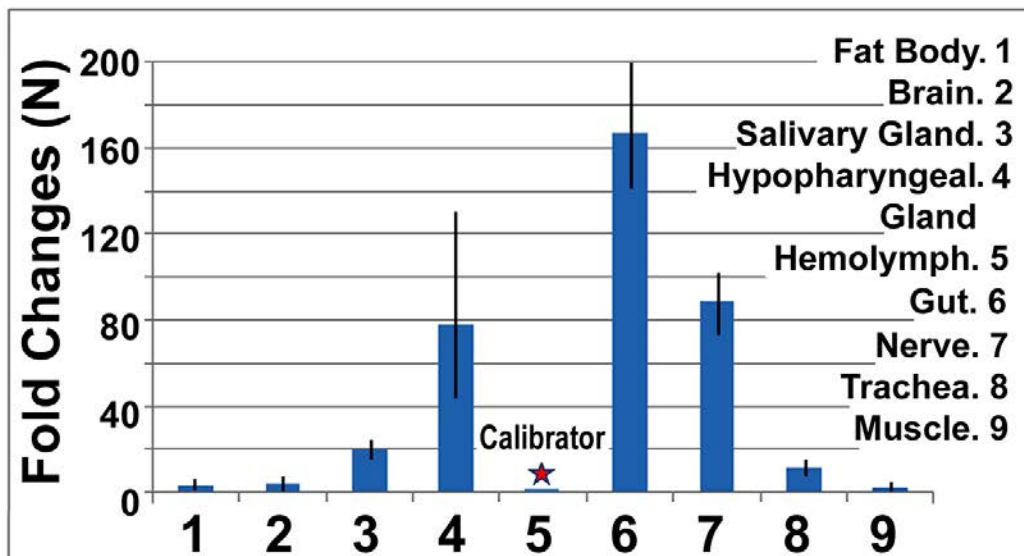


Figure 26 : Abondance relative de l'ARN du brin négatif des copies du génome de l'IAPV dans différents tissus d'abeilles mellifères et analyse d'hybridation in situ des tissus somatiques et germinaux de la reine (Chen et al., 2014).

Quand les colonies sont en bonne santé, le virus persiste par transmission verticale et existe à l'état latent sans perturber l'immunité de l'hôte. Mais si les abeilles vivent dans des conditions stressantes telles que l'infestation par *Varroa destructor* ou d'autres pathogènes, le virus se reproduit rapidement et devient plus contagieux, entraînant la mort des hôtes et l'effondrement possible de la colonie (Chen et al., 2014).

e. Symptômes moteurs

On a vu dans les voies de dissémination que le virus se développait dans le système nerveux de l'abeille, compatible avec les pathologies observées. En effet, les abeilles infectées en milieu naturel peuvent présenter des ailes frissonnantes et une paralysie progressive, symptômes typiques d'une altération de la fonction nerveuse (Maori et al., 2007a). Généralement, les abeilles meurent près de la ruche (Daniels, 2010). Une étude confirme ce développement rapide qui interfère avec l'ensemble des capacités des abeilles. Ainsi, dans une étude parue en 2013, l'inoculation de quarante-huit virus IAPV dans l'hémolymphe d'une tête d'abeille conduisait à près de sept millions de copies, vingt-quatre heures plus tard (Li et al., 2013). Ces chiffres, qui évoluent peu après vingt-quatre heures, laissent supposer que l'IAPV est virulent très rapidement (Figure 27). Il possède d'excellentes capacités de réplication et peut aisément disperser les ouvrières désorientées par la présence envahissante de réplicats dans l'hémolymphe.

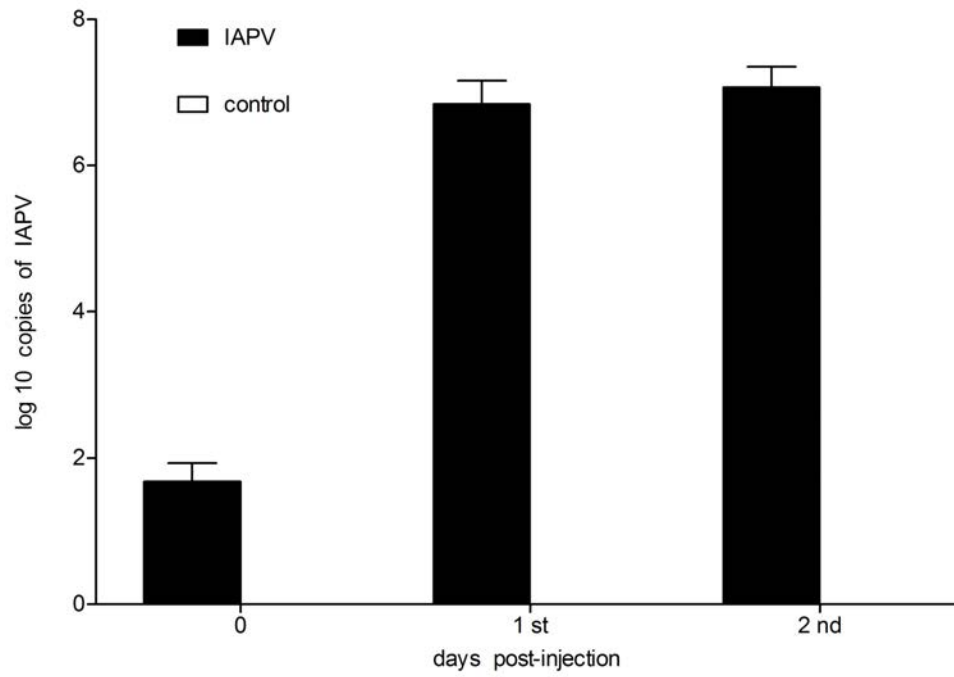


Figure 27 : Le nombre exact de copies de l'IAPV dans les têtes d'abeilles. Le nombre exact de copies d'IAPV dans les têtes d'abeilles collectées au jour 0, jour 1 et jour 2 après des injections avec 1 μ L de IAPV (dilution 1: 200) et 1 μ L de PBS respectivement (d'après Li et al., 2013).

α) Symptômes comportementaux

Les chercheurs se sont intéressés aux perturbations comportementales induites par l'infection virale. Les résultats démontrent une altération de l'apprentissage et des capacités d'orientation (Li et al., 2013).

i. Apprentissage et mémorisation

L'infection par l'IAPV modifie également le seuil de sensibilité au saccharose, qui mobilise la mémoire olfactive de l'abeille. Une étude récente a comparé la sensibilité des abeilles au saccharose après leur avoir injecté des concentrations croissantes de solution d'IAPV et de solution neutre appelée « PBS » (137 mM NaCl; 3 mM KCl; 10 mM Na₂HPO₄; 2 mM KH₂PO₄, pH 7.2) (Li et al., 2013). Une première dilution de solution contaminée au 1/500^{ème} est injectée aux abeilles et les données sont comparées à une injection de PBS, du jour de l'inoculation jusqu'au troisième jour après injection. Les abeilles des deux groupes sont exposées à des concentrations croissantes en saccharose, de 0,1% à 30%. Il s'agit à nouveau d'un test d'extension du proboscis (PER). Sur la figure ci-après, on observe deux points importants. D'abord, l'effet de seuil est marqué et bien connu chez les abeilles ; au-delà d'une concentration en saccharose de 10%, la réponse est très importante et presque automatique. D'autre part, on voit qu'à des concentrations plus faibles, l'infection par l'IAPV entraîne une réactivité élevée aux faibles concentrations en saccharose trois jours après l'inoculation (Figure 28).

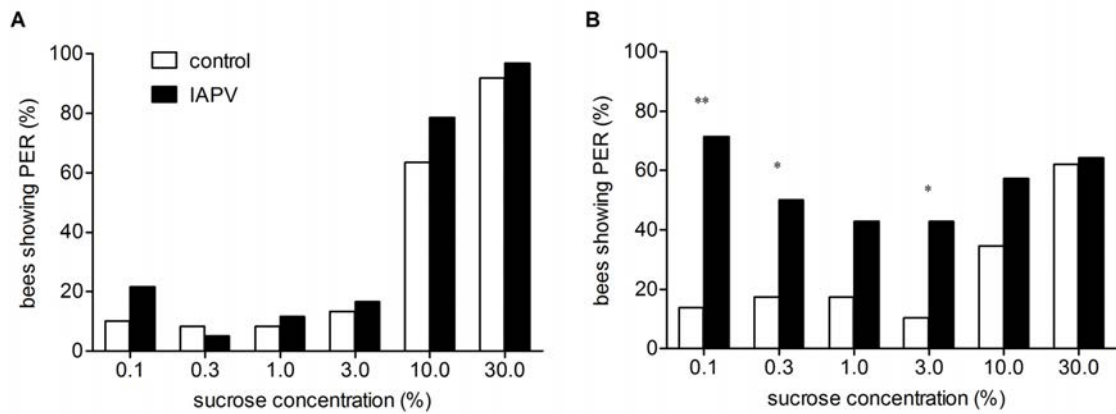


Figure 28 : Comparaisons entre les abeilles injectées par l'IAPV et les abeilles injectées par PBS dans leur capacité de réaction au saccharose (1)

La réponse au saccharose des abeilles injectées avec IAPV avec une dilution de 1/500^{ème} et des abeilles injectées avec du PBS ont été testées aux jours 0 (A) et 3 (B) après l'injection. Le nombre d'abeilles testées au jour 0 après l'injection est de 60 pour chaque groupe; le nombre d'abeilles testées au jour 3 pour le groupe ayant reçu une injection d'IAPV est de 14 et 29 pour le groupe ayant reçu une injection de PBS (* = $p < 0,05$, ** = $p < 0,01$) (d'après Li et al., 2013).

Sont ensuite étudiées les données collectées à la suite d'une injection de solution contaminée diluée au 1/200^{ème} et de la même injection de solution tampon PBS. Les données n'ont pas été récoltées à la même saison, ce qui explique que l'effet de seuil soit moins marqué. En effet, la première partie de l'expérience avait eu lieu en septembre 2011, qui ne correspond à un pic floral, tandis que cette partie s'est déroulée en avril 2012. La diversité florale entre à chaque saison pourrait finalement expliquer des réactivités différentes. Cependant, on observe le même phénomène : à de faibles concentrations de saccharose, près de 60% des abeilles inoculées par la solution contaminée depuis trois jours sont plus sensibles aux concentrations de saccharose que leurs voisines non infectées et sensibilisées aux mêmes concentrations (Figure 29). L'IAPV a donc modifié profondément le comportement des abeilles face au saccharose, comme le faisait le DWV (Li et al., 2013).

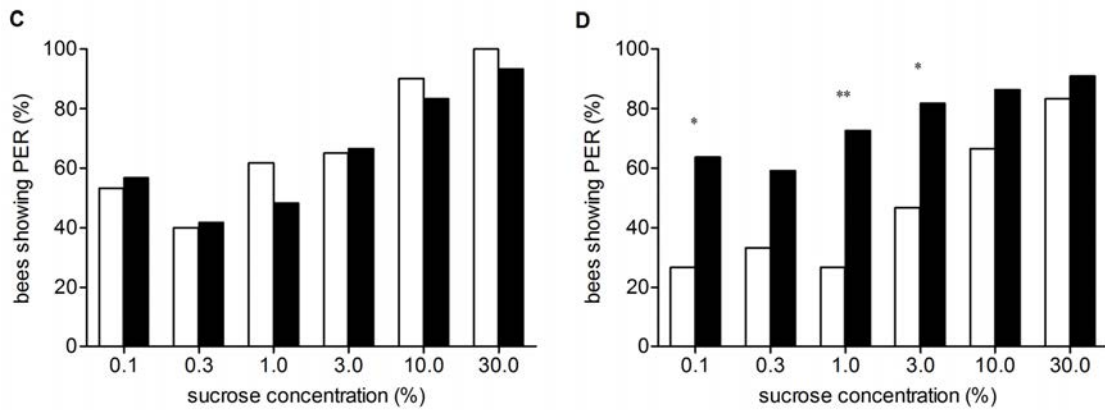


Figure 29 : Comparaisons entre les abeilles injectées par l'IAPV et les abeilles injectées par PBS dans leur capacité de réaction au saccharose (2)

La réponse au saccharose des abeilles injectées avec IAPV avec une dilution de 1/200^{ème} et des abeilles injectées avec du PBS testées aux jours 0 (C) et 2 (D) après l'injection. Le nombre d'abeilles testées au jour 0 après l'injection est de 60 pour chaque groupe; le nombre d'abeilles testées au jour 2 pour le groupe ayant reçu un IAPV est de 22 et 30 pour le groupe ayant reçu une injection de PBS (* = $p < 0,05$, ** = $p < 0,01$) (d'après Li et al., 2013).

D'après ces travaux et ceux de Mueller et Iqbal, les virus interfèrent avec l'apprentissage associatif, correspondant à un mécanisme du type « stimulus-réponse au stimulus », et avec la mémorisation. Dans le cas de l'IAPV et du DWV, l'apprentissage non associatif, comme la sensibilisation et l'accoutumance, n'est pas altéré. Ce type d'apprentissage se décrit plutôt comme une augmentation ou à une diminution d'une réponse attendue à la suite d'une stimulation répétée, et entraînant un effet de seuil tel une sensibilisation (Iqbal et Mueller, 2007). Or, on pensait que la sensibilité au saccharose faisait uniquement partie de l'apprentissage associatif. Mais les butineuses sont plus sensibles au saccharose, ce qui contredit l'hypothèse que la sensibilité au saccharose n'est liée qu'au seul mécanisme d'apprentissage associatif. Ces mécanismes sont tout à fait nouveaux et remettent en cause les connaissances dans ce domaine chez les invertébrés et les mammifères (Iqbal et Mueller, 2007).

ii. Capacité d'orientation

L'orientation de l'abeille dans l'espace est essentielle pour multiplier les voyages entre le milieu extérieur et la ruche. D'après cette même étude comparative, les abeilles sont totalement désorientées et perdent leur capacité à rentrer dans la ruche (Li et al., 2013). Cette expérience a de nouveau bénéficié de la technologie de radiofréquence (RFID) afin de localiser les différentes abeilles, comme lors des précédents travaux sur les doses sublétales de néonicotinoïdes (Schneider et al., 2012). Deux groupes de vingt individus ont été formés : l'un réunissait les abeilles infectées, l'autre rassemblait les abeilles saines injectées par la PBS afin de provoquer le même stress induit par l'injection de part et d'autre. Si les données se confondent au premier jour après l'injection, l'étude indique formellement que les abeilles inoculées par l'IAPV ne rentrent quasiment plus à la ruche à partir du deuxième jour (Figure 30). Au troisième jour, elles sont indétectables, tandis que le groupe sain compte encore près de la moitié de son effectif initial (Li et al., 2013). Le virus semble diminuer les capacités de mémorisation. Ainsi, la capacité à rentrer au domicile, également dénommé « capacité de retour » (« homing ability ») est altérée (Li et al., 2013).

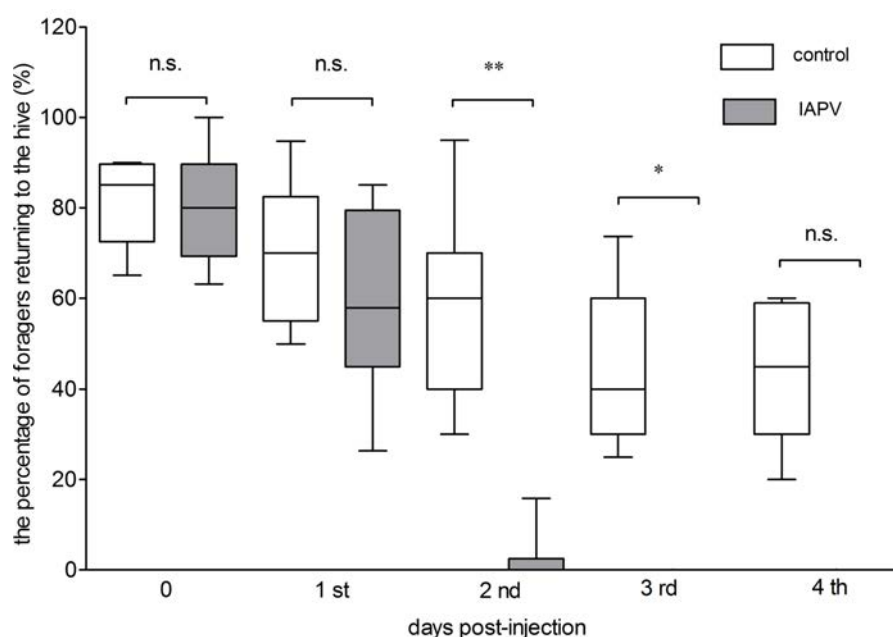


Figure 30 : Effets de l'IAPV sur la capacité de retour des abeilles butineuses. L'abscisse représente des jours après que les butineuses ont été injectées avec du PBS et de l'IAPV respectivement. L'ordonnée représente le pourcentage de butineuses partant et revenant à la ruche par jour. * = $p < 0,05$, ** = $p < 0,01$, n.s. = non significatif (d'après Li et al, 2013).

La présence d'IPAV dans les colonies entraîne l'altération de quatre fois plus de gènes chez les adultes par rapport au couvain. Ceci pourrait en partie expliquer les mécanismes encore flous interagissant avec l'apprentissage associatif et non associatif, et qui conduisent à ces dérèglements comportementaux (Iqbal & Mueller, 2007). Enfin, les adultes activent leur système immunitaire en présence de l'IAPV, ce qui n'est pas le cas dans le couvain (Chen et al., 2017).

On voit donc que les symptômes sont assez peu spécifiques et encore méconnus à l'heure. Malgré cela, on sait que les colonies contaminées massivement par l'IAPV sont retrouvées à proximité de la ruche. Or, dans le phénomène apparu en 2007, on ne retrouve pas les abeilles près de la ruche. A nouveau, il est probable que l'IAPV ne soit qu'une des nombreuses causes ayant conduit à une décimation colossale des ruchers à travers le monde depuis une dizaine d'années.

E. Le frelon asiatique *Vespa velutina*

a. Historique

Le frelon à pattes jaunes, *Vespa velutina*, couramment nommé frelon asiatique par simplification, est une espèce invasive de *Vespoidea*, originaire d'Asie. Elle a été décrite pour la première fois par Lepletier en 1836 à partir de spécimens recueillis sur l'île de Java. On distingue une douzaine de variétés, dont la variété *nigrithorax*, étymologiquement « à thorax noir », décrite à Darjeeling par Du Buysson (Rome et al., 2015).

Son aire de répartition va de l'Afghanistan jusqu'au sud-est de la Chine, du nord de l'Inde jusqu'à l'archipel indonésien (Villemant et al., 2011). En novembre 2005, on découvre la présence de la variété *nigrithorax* pour la première fois en Europe, et plus précisément en France, dans le Lot-et-Garonne (Villemant et al., 2006). Il est probable qu'une importation accidentelle *via* le commerce de bonzaïs et de poteries en provenance de Chine soit à l'origine de l'invasion par cette espèce de notre continent (Villemant et al., 2006). Suite à cette observation, une seconde suivra à Tombeboeuf, ville proche du premier lieu de découverte du frelon. Il s'agit alors de la première nidification de *Vespa velutina* observée en France par les entomologistes. Ceci est la preuve formelle que *Vespa velutina* est adaptée au climat européen. Par la suite, on apprendra que l'importateur de poterie avait déjà signalé le vol de ces frelons autour de sa maison, et qu'il les avait identifiés comme tels puisqu'il revenait lui-même d'un voyage en Asie (Villemant et al., 2006).

Depuis 2006, non seulement le frelon étend son territoire en Asie en conquérant des régions plus septentrionales comme la Corée (Kim et al., 2006 ; Choi et al., 2012), mais il s'est également adapté au climat continental européen qui est similaire à celui de son aire d'origine, et se disperse à la vitesse d'environ soixante kilomètres par an sur l'ensemble des territoires français et européen (Rome et al., 2015). Depuis 2005, l'INPN (Inventaire National du Patrimoine Naturel) est chargé du suivi de l'invasion grâce à la collecte précise des coordonnées des nids en zone urbaine, périurbaine et rurale. Entre 2004 et 2009, il est estimé, grâce à ces données, que le frelon asiatique a conquis près de 200 000 km² dans le sud-ouest de la France. En 2017, c'est la

quasi totalité de la France qui est désormais envahie (Rome Q., 2017 ; Figure 31). Son adaptabilité environnementale, sa diversité génétique et son comportement de prédation envers les insectes, notamment *Apis mellifera*, sont tellement performants qu'il est désormais impossible d'éradiquer cette espèce, et que seule une lutte sélective est possible afin de protéger au mieux l'apiculture (Villemant et al., 2010). Le frelon asiatique *Vespa velutina nigrithorax* est d'ailleurs classé dans la liste des dangers sanitaires de deuxième catégorie pour l'abeille domestique *Apis mellifera* sur tout le territoire français par arrêté du Ministère de l'agriculture depuis 2012 (JO du 28 décembre 2012, texte 58/130, source Légifrance).

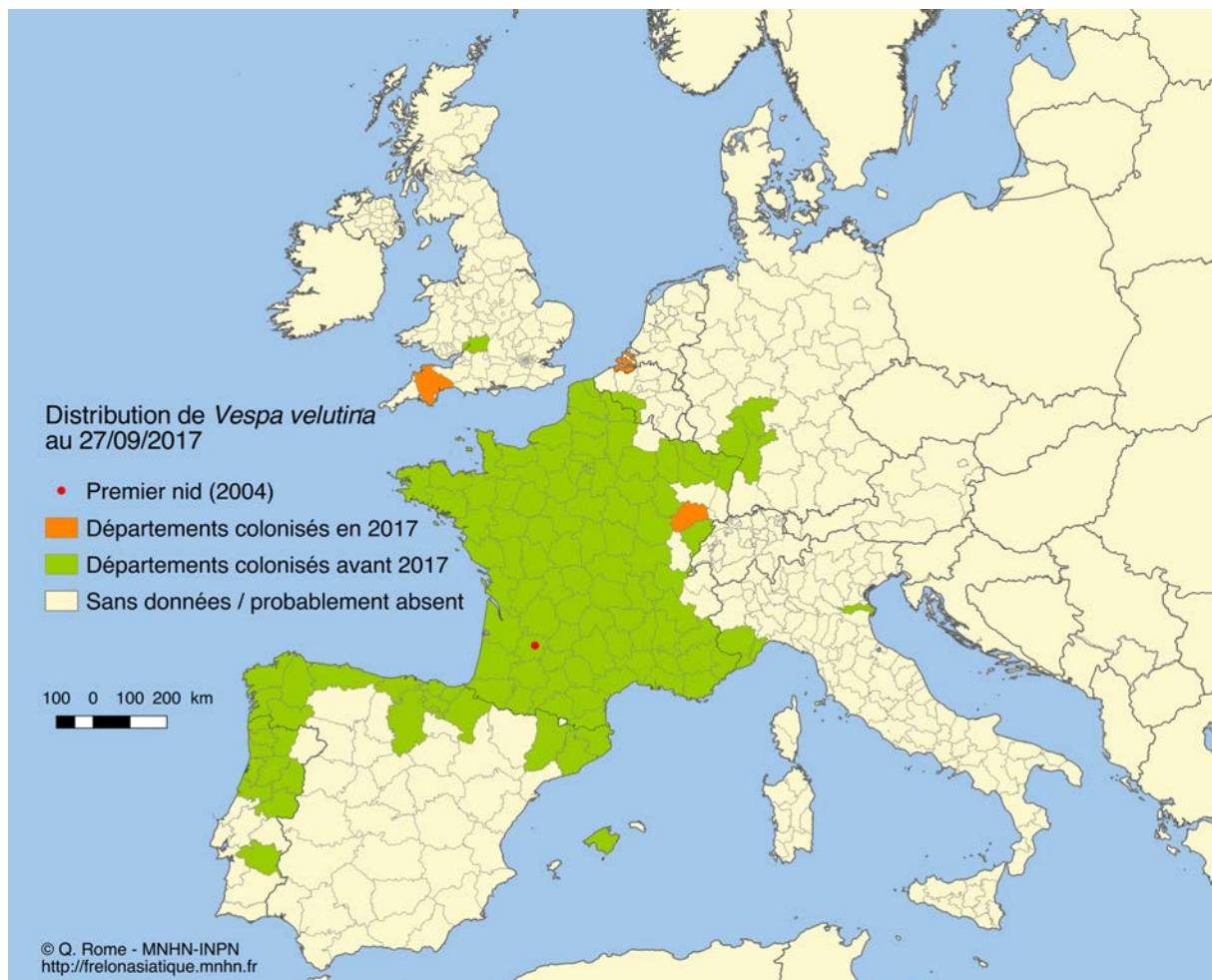


Figure 31 : Progression de l'invasion de *Vespa velutina* en Europe (sources : INPN (France), Dirección General de Calidad y Evaluación Ambiental y Medio Natural (Espagne), ICNF, NATIVA et SOS Vespa (Portugal), CARI et CiEi / DGARNE (Belgique), CREA et Università de Torino (Italie), R. Witt (Allemagne), NNSS et NBU (Grande Bretagne)).

b. Anatomie

Le frelon possède un corps non velu en trois parties. La tête porte les antennes, les yeux composés, trois ocelles dorsales et un appareil buccal de type broyeur-lécheur. Le thorax est d'un brun-noir velouté caractéristique pour la variété *nigrithorax*. Il porte deux paires d'ailes et trois paires de pattes. Ses pattes sont brunes avec une extrémité jaune, c'est pourquoi on entend parfois parler de « frelon à pattes jaunes ». L'abdomen est nettement séparé du thorax par un resserrement caractéristique des Apocrites. Les trois premiers segments abdominaux sont bruns et bordés d'une fine bande jaune. Le dernier segment possède une large bande jaune-orangée, qui le distingue du frelon européen *Vespa crabro*, entièrement jaune et noir sur l'abdomen, et brun-roux sur le thorax.



Photo 3 : *Vespa velutina nigrithorax* capturée à Toulouse (Par Didier Descouens — Travail personnel, CC BY-SA 3.0, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=26722179>)

Les ouvrières *Vespa velutina* mesurent entre 17 et 26 mm La reine, quant à elle, mesure de 24 à 32 mm de long et le mâle de 20 à 26 mm (Rome & Villemant, 2013). La taille des individus est donc légèrement inférieure à celle de *Vespa crabro*, dont la reine peut atteindre 35mm (Rome et Villemant, 2013).

c. Alimentation

Le frelon asiatique est un insecte carnivore comme les autres Vespoidae, dont le régime est principalement constitué d'insectes sociaux, de papillons, d'araignées, voire même de restes de vertébrés (Matsura & Yamane, 1990 ; Edwards, 1980). C'est un insecte diurne contrairement au frelon européen.

Généralement, les larves sont nourries avec de la viande, tandis que les ouvrières se nourrissent de liquides sucrés, et de fruits mûrs en automne. Les ouvrières peuvent également solliciter les larves afin que celles-ci leur fournissent un liquide protéiné destiné à nourrir par trophallaxie la reine et les autres adultes (Matsura & Yamane, 1990). L'analyse des boulettes a montré que les insectes sociaux, tels que les abeilles domestiques, représentent jusqu'à 37% du régime selon la localisation du nid (Figure 32). Les guêpes sont également visées, ainsi que certains diptères (Villemant et al., 2011). D'après les dernières données, plus le frelon s'installe en zone urbanisée, et plus son régime alimentaire tend à se composer d'*Apis mellifera*. Ceci serait dû à la faible diversité de proies disponibles en milieu urbain (Muller et al. 2009 ; Beggs et al. 2011)

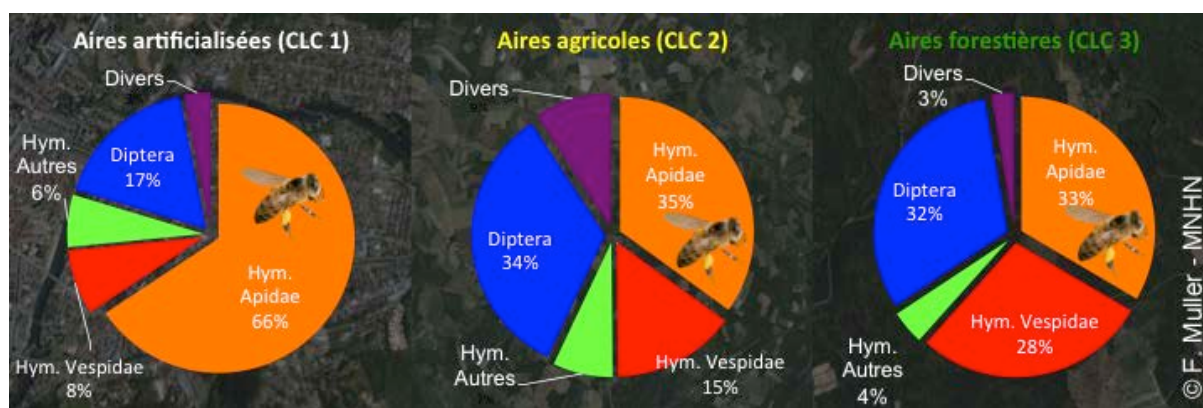
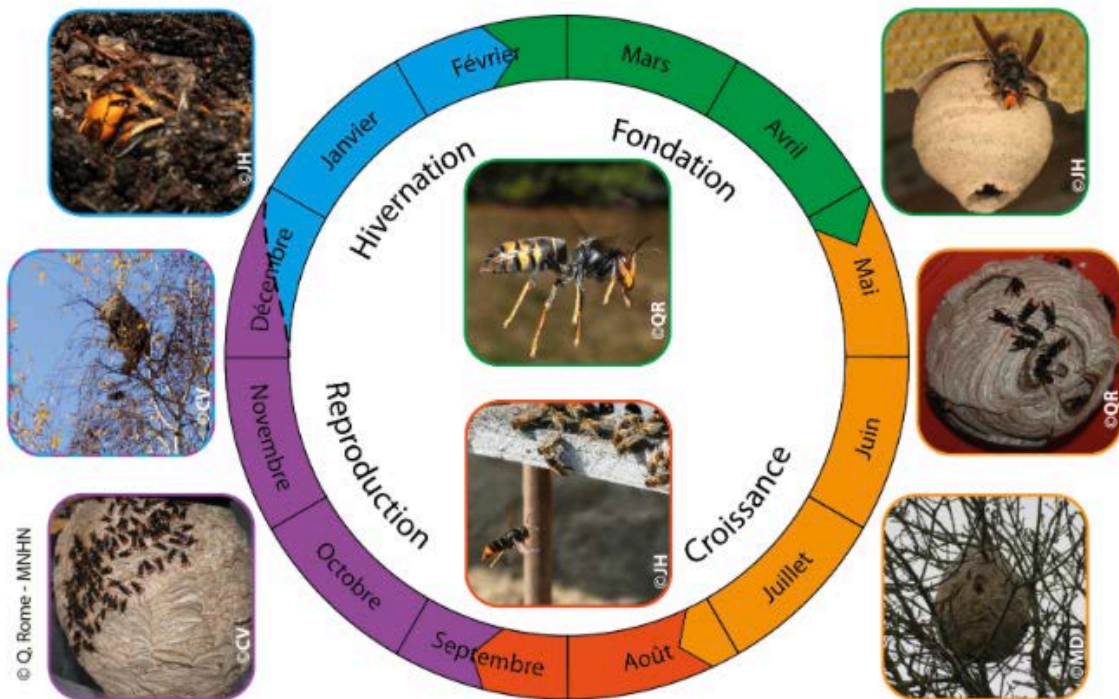


Figure 32 : Spectre de proies de *Vespa velutina* en France dans trois milieux différents (d'après Rome et al., 2011).

d. Cycle de vie en Europe

De façon générale, les frelons ont un cycle de vie annuel (Chauzat & Martin, 2009). En automne, la colonie se concentre sur la production de mâles et de femelles sexués, dont le nombre peut atteindre 300 individus de chaque sexe. Les futures femelles fondatrices quittent le nid pour s'accoupler avec les mâles sexués. En raison des importants besoins nutritionnels de ces individus, le nombre d'ouvrières atteint son maximum pour assurer le nourrissage de ces larves. Une fois fécondées, les reines seront les seuls individus capables d'hiverner ; les mâles, les ouvrières et les larves meurent à la fin de l'automne. Il faut savoir que *Vespa velutina* n'hiverné pas dans les régions où les températures en hiver sont suffisamment élevées. Ainsi, en Asie, on trouve tous les stades de développement à n'importe quel moment de l'année (Foster & Seppa, 1999 ; Takahashi et al., 2004).

Au printemps, la reine fondatrice construit un nouveau nid, y pond quelques œufs qui deviendront ses premières ouvrières environ un mois et demi après la ponte (Figure 33). Un nid vide n'est jamais réutilisé, même s'il peut rester en place durant l'hiver. Les ouvrières seront toujours stériles et sont les seuls individus présents dans le nid jusqu'à la production des individus sexués à partir de septembre. Elles sont diploïdes, donc issues d'œufs fécondés, tandis que les mâles sont haploïdes et issus d'œuf non fécondés. Par la suite, ce sont les ouvrières qui seront chargées de l'extension du premier nid et de l'entretien de la colonie (Rome et al., 2015). La reine aura alors simplement à se consacrer à pondre jusqu'à la fin de sa vie. Une reine ne vit qu'un an, comme chez les autres guêpes sociales ; elle meurt généralement juste avant l'essaimage des futures fondatrices. La colonie atteindra jusqu'à 13 000 individus au mois de novembre, soit près de cinq fois plus que son voisin européen (Rome et al., 2013).



Cycle biologique de *Vespa velutina* en France. Les couleurs de contour des photos correspondent à celles des différentes périodes du cycle (d'après Rome *et al.*, 2013 ; photos : JH = J. Haxaire, MD = M. Duret).

Figure 33 : Cycle biologique de *Vespa velutina* en France. Les couleurs de contour des photos correspondent à celles des différentes périodes du cycle (Rome *et al.*, 2013 ; photos : JH = J. Haxaire, MD = M. Duret).

L'habitat du frelon asiatique est assez caractéristique. Il s'agit d'un nid à ouverture étroite et latérale (ce qui constitue un caractère spécifique pour un *Vespoidea* social en France), constitué de fibres de bois mâché : des alvéoles de bois mâché à l'intérieur, entourées d'une enveloppe striée brun et beige (Rome *et al.*, 2009). Le nid primaire, sphérique, est construit par la reine dans un endroit abrité comme un trou dans un mur, un cabanon abandonné, etc. ; il mesure à peu près la taille d'une orange. Puis, au fur et à mesure que la colonie s'agrandit, les ouvrières étendent le nid primaire qui peut atteindre 60cm de diamètre (Villemant *et al.*, 2006). Enfin, quand le nid primaire ne suffit plus à accueillir toute la colonie, les ouvrières construisent un nid secondaire dans 70% des cas (Rome *et al.*, 2015), de forme ovoïde cette fois. Celui-ci sera alors bien plus visible et généralement placé dans les arbres à des hauteurs de 15 mètres (Rome *et al.*, 2015). Les dimensions sont de l'ordre du mètre de hauteur, pour un diamètre de 80cm (Villemant *et al.*, 2006).

Un des facteurs-clé permettant aux frelons d'être des prédateurs efficaces, est leur capacité à thermoréguler leurs nids. Plus la taille de la colonie augmente, plus la capacité des ouvrières à maintenir une température stable augmente, jusqu'à ce qu'elles soient capables de maintenir une température au nid de 30 °C, même si les températures ambiantes ne dépassent pas 10°C (Martin, 1990). La température élevée des nids permet aux frelons d'être en activité tôt le matin quand les températures sont basses et que de nombreux insectes sont encore immobiles. Cela leur permet aussi de répondre par des attaques efficaces si le nid est dérangé par temps froid ou pendant la nuit. Enfin, les larves de frelons, à la différence de celles des abeilles domestiques, peuvent tolérer de plus grandes variations de températures (Chauzat & Martin, 2009). Le réchauffement climatique favoriserait l'extension de cette espèce invasive adaptée au climat chaud et humide.

e. Prédation de l'abeille

En France comme en Asie, le frelon à pattes jaunes est un prédateur actif d'abeilles. Il s'est d'ailleurs fait remarquer à la fois par ses nids imposants et par son activité de chasse autour des ruchers du Sud-Ouest. Chaque nid contient au moins autant d'individus que trois nids de *Vespa crabro*. De ce fait, il exerce sur les ruchers une pression beaucoup plus importante que le frelon indigène (Villemant et al. 2008).

Les frelons se placent en vol stationnaire à l'entrée de la ruche. Dès qu'une butineuse rentre à la ruche, elle est capturée par une ouvrière de frelon asiatique, et une ouvrière prend le relais de la chasse. Une fois l'abeille capturée par les ailes, le frelon la tue par un grand coup de mandibules sur la tête (Janet, 1903 ; Rome et al., 2015). Puis il la découpe et ne conserve que le thorax qui renferme les muscles alaires riches en protéines. Ceux-ci serviront à la confection des boulettes distribuées aux larves.

La zone de chasse des frelons est généralement territoriale. Lorsque d'autres frelons entrent dans une zone déjà occupée, ils sont rapidement évincés (Chauzat & Martin, 2009). Il n'y a donc pas d'attaque de masse. La prédation serait plus fréquente en fin de saison, c'est-à-dire quand les abeilles préparent leurs dernières réserves avant l'hivernage (durant les matinées et les après-midis, ce qui est en accord avec le rythme diurne de *Vespa velutina* (Tan et al., 2007). Il semblerait que la prédation soit effective uniquement sur les adultes de la ruche pour le moment. En effet, la taille de l'entrée de la ruche ne permettrait pas l'entrée des frelons à l'intérieur, contrairement à ce qui se passe pour certaines espèces voisines en Asie (Ken et al., 2005). Cependant, la présence permanente de quinze à vingt frelons stresse les abeilles, et cela limite donc leur sortie au moment de constituer les dernières réserves avant l'hiver.

Cette pression est à la fois qualitative et quantitative. En France, il a obtenu rapidement le statut de prédateur majeur d'abeilles dans le milieu apicole. Compte tenu de l'importance quantitative des proies capturées au cours d'une saison par une colonie ayant atteint la maturité, l'impact du frelon sur les populations d'abeilles représente un risque non négligeable pour l'apiculture. La production de miel s'en

trouverait alors réduite, mais surtout les colonies, déjà fragilisées par de nombreux stress environnementaux, voient leur population diminuer drastiquement. Enfin, Il est possible que cette nouvelle pression ait des conséquences sur les services de pollinisation que les abeilles assurent (Muller et al., 2009 ; Villemant et al., 2011). Un autre chiffre vient alimenter cette inquiétude.

Au Cachemire et en Chine, *Vespa velutina* est un véritable ennemi de l'abeille locale (Shah & Shah, 1991), *Apis cerana*. Les pertes peuvent ponctuellement atteindre jusqu'à 30% de la colonie (Ken et al., 2005). En vol stationnaire devant la ruche, les frelons attendent l'arrivée des butineuses, les capturent en vol et les condamnent. Une fois les gardiennes décimées, les frelons arrivent en masse et n'ont plus qu'à piller la ruche (Arca et al., 2015). Or, *Apis cerana* a réussi à s'adapter à la présence de cet insecte et a développé une stratégie de défense en deux temps. D'abord, les ouvrières se réunissent à l'entrée de la ruche, font vibrer leurs ailes par vagues et agitent leur abdomen : c'est un comportement dissuasif qui permet d'éloigner les frelons (Villemant et al., 2008). Ensuite, si l'un des frelons s'approche, il est encerclé puis enfoui sous une masse constituée d'une centaine d'ouvrières. Ce phénomène fait croître la température au-delà des 45°C en l'espace de cinq minutes, et condamne le frelon à la mort par hyperthermie (Ken et al., 2005). Celui-ci est ensuite laissé pour mort au sol. Il s'agit d'une technique très efficace. Néanmoins, son coût énergétique et le temps que les abeilles y consacrent peuvent mettre en péril l'approvisionnement de la ruche, et la survie de la colonie est rapidement en jeu.

Apis mellifera utilise la même stratégie de défense qu'*Apis cerana* contre le frelon à pattes jaunes. Cependant, son exposition à *Vespa velutina* est récent, et l'efficacité de la défense n'est pas optimale. La formation de la boule de chaleur implique environ soixante ouvrières (Villemant et al., 2006) et explique en partie l'échec de la défense. On estime que pendant qu'une ruche d'*Apis cerana* tue dix frelons par jour au Cachemire, la ruche d'*Apis mellifera* ne vient à bout que d'un seul individu (Abrol, 2006)

F. L'agriculture moderne intensive

a. *Définition et historique*

L'agriculture moderne intensive (par opposition à l'agriculture traditionnelle intensive) est un système de production agricole fondé sur l'optimisation de la production par rapport à la surface des terres cultivées. Ce mode de culture nécessite généralement des investissements importants dans la mécanisation, ainsi que dans l'achat d'intrants agricoles : engrais, produits phytosanitaires, matériel agricole et énergie telle que le pétrole (Grosclaude, 2001).

Depuis la fin de la deuxième guerre mondiale, les pays agricoles se réorganisent et décident de moderniser leur agriculture. C'est le cas de la France et de nombreux pays européens qui bénéficieront de l'aide à la reconstruction européenne plus connu sous le nom de plan Marshall. Celui-ci favorisa l'intensification de la production *via* des investissements et des progrès techniques. La mécanisation nécessite des changements radicaux dans les paysages ruraux. Les haies et friches sont abattues ou transformées, les parcelles s'agrandissent : c'est le remembrement, permettant la concentration des terres agricoles. Les surfaces agricoles sont ainsi optimisées et agrandies sans limite (Figure 34). Le bocage, élément clé du paysage français, est désormais menacé. Ainsi, dans les années 60 en France, c'est 750 000 kilomètres de haies qui sont supprimés. Il en reste environ 700 000 kilomètres en 2017, soit trois fois moins qu'au début du XX^{ème} siècle (Source France 2, journal télévisé de 20h, 16/11/2017). Or, ces haies herbacées et arbustives sont essentielles pour abriter un écosystème indispensable à la pollinisation des espaces agricoles. Valérie Giscard d'Estaing dira de l'agriculture qu'elle « est le pétrole verte de la France ». Les fermes laissent place aux entreprises agricoles, qui bénéficient également des progrès scientifiques pour intensifier la production (Griffon, 1999).

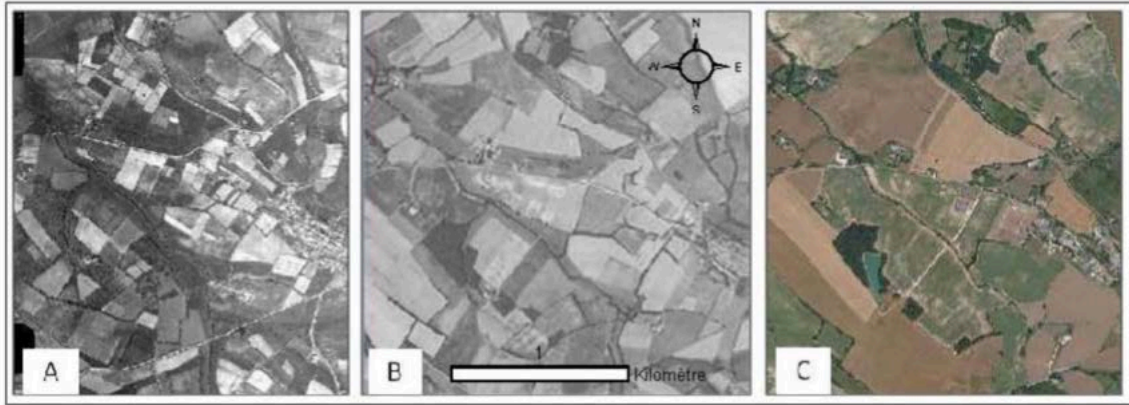


Figure 34 : Evolution des paysages agraires. Exemple de la commune de Puycasquier (Gers), 1950-1980.
 A. Paysage typique de la période avant 1950 avec une mosaïque de petites parcelles de cultures différentes, souvent séparées de haies ;
 B. Entre 1950 et 1980 les paysages changent, avec le remembrement la taille des parcelles s'agrandit, les éléments arbores s'amenuisent ;
 C. Après 1980, les exploitations agricoles s'agrandissent encore et la taille des parcelles augmente, les cultures s'uniformisent sur de grandes surfaces ; en bas à gauche le petit bois a en partie été remplacé par une retenue collinaire permettant l'irrigation du maïs (d'après Rhoné et al., 2016)

Ces évolutions marquent également l'entrée du monde dans un système d'hyperconsommation (Frémont, 1997). Pour exemple, un agriculteur en 1990 nourrit trente personnes quand son prédécesseur n'en nourrissait que sept (De Silgy, 1998). En parallèle, les pays en voie de développement sont confrontés à la révolution verte. Il s'agit d'une politique de transformation des agricultures de ces pays fondée sur l'intensification et l'utilisation de céréales à haut degré de rendement (Griffon, 1999). Cette politique est fondée sur trois éléments que sont les variétés à haut rendement, l'utilisation d'intrants, et l'importance de l'irrigation. Les cultivars locaux ont également été abandonnés et induisent une perte de la biodiversité ; l'apparition hypothétique de nouveaux pathogènes pourrait à leur tour faire craindre une perte massive des récoltes, à moins d'une utilisation colossales d'autres insecticides dont l'impact pourrait être le même sur les population d'insectes et notamment des abeilles qui ne joueraient plus leur rôle dans la pollinisation et entraîneraient assurément une baisse majeure de la productivité. Le maintien d'interactions durables entre les pollinisateurs, et notamment les abeilles, et les cultures semble inéluctable pour envisager une agriculture durable et respectueuse de ce que la biodiversité lui a apporté jusqu'à présent.

b. Impact des modifications de l'habitat sur les abeilles et la diversité florale.

Avec l'apparition de ce mode de culture, les paysages agricoles ont subi de profondes modifications. Les surfaces cultivées ont augmenté partout à travers le monde, même si ce sont surtout les rendements qui ont explosé. Ces terres agricoles sont implantées au détriment de surfaces naturelles et semi-naturelles, comme les prairies permanentes, les friches, les jardins, les haies, etc.. (Goulson et al., 2008 ; Hines & Hendrix, 2005). La fragmentation des surfaces contribue au déclin des colonies. La fragmentation des habitats est d'ailleurs considérée comme la principale raison de l'extinction mondiale de la biodiversité (Quinn & Harrison, 1988).

Les études ont d'abord porté sur des colonies de bourdons qui sont plus faciles à étudier, et montrent très clairement que la présence de ces derniers est liée à la disponibilité des ressources et aux caractéristiques spatiales du terrain sur lequel ils évoluent (Hines & Hendrix, 2005). La présence de jardins à proximité des cultures aurait d'ailleurs un impact positif sur la pollinisation des cultures et la densité de population de bourdons (Goulson et al., 2008).

L'isolement des ressources florales dans les terres sauvages est d'après certaines études un des principaux facteurs expliquant le déclin de l'abondance et de la diversité des abeilles indigènes et la perte de services de pollinisation qui en découle (Kremen et al., 2002). La diversité et l'abondance des abeilles indigènes sont significativement liées à la proportion de habitat entourant la ferme (Steffan & Tschamke, 1999).

Le remembrement a été l'objet d'une thèse d'exercice dans le Gers et a montré l'importance des espèces ligneuses qui assurent la pérennité des apports nutritionnels lors des périodes de disette (Rhoné et al., 2016). En effet, on voit que sur la période d'avril à juin, qui correspond à la saison de croissance du nombre d'individus d'un essaim, la nourriture d'origine ligneuse représente près de 50% des apports de pollen (Figure 35). Le saule est l'une des espèces en début de saison qui est fortement associée au démarrage du couvain (Rhoné, 2015). La floraison des arbres fruitiers en période vernale assure de bonnes récoltes de nectar (Rhoné et al. 2016). Les ronces très présentes dans les haies, les lisières de bois et les friches,

permettent d'assurer la continuité des apports alimentaires protéiques et glucidiques (Rhoné et al., 2016). De plus, il s'avère que le pollen du genre *Rubus* possède d'excellentes qualités nutritionnelles et antioxydantes (Di Pasquale, 2014). De même, les travaux de Rhoné F. (2015) ont montré que la strate herbacée, régulièrement fauchée plus par esthétique que par réelle nécessité, fournissait des pollens et nectars diversifiés indispensables entre la floraison du colza et celle du tournesol (Rhoné, 2015).

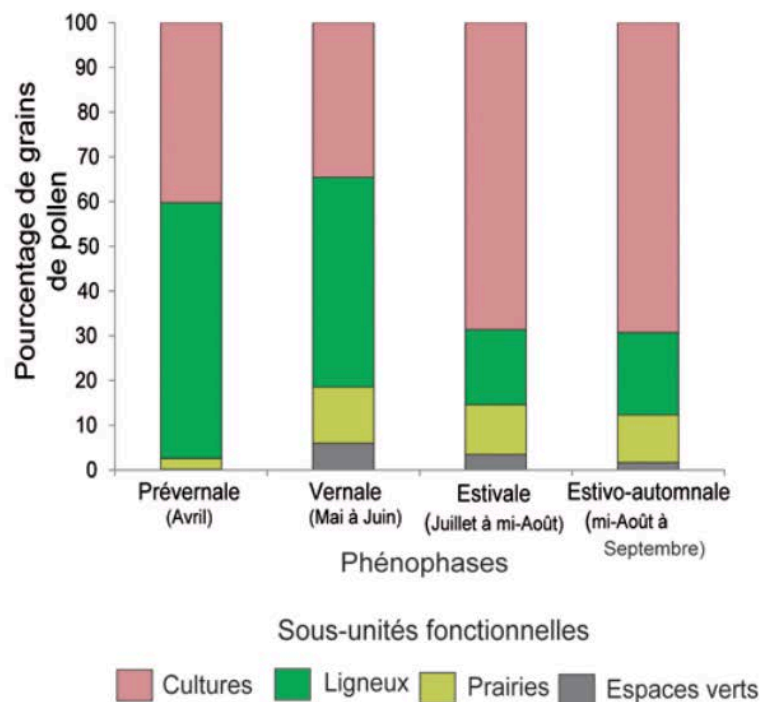


Figure 35 : Contribution des compartiments paysager ou sous-unités fonctionnelles à l'apport de ressources alimentaires (pollen et nectar tout au long de la saison, dans le département du Gers (Rhoné, 2015)

On voit donc toute l'importance de ces paysages morcelés pour le développement de la colonie et les tâches normales au sein d'une colonie. Leur disparition aurait un impact négatif considérable qui est, à l'heure actuelle, difficilement quantifiable. En effet, ce phénomène n'est pas récent, n'a jamais été étudié auparavant, et il s'avère compliqué de mesurer les impacts du remembrement agricole décidé lors des Trente Glorieuses. Quant au fauchage des bordures de champs ou des fossés, qui est devenue systématique dans de nombreuses communes, amoindrit les possibilités de diversification nutritive dans les régions céréalières ou propices à la monoculture.

c. Impact des monocultures sur la santé des abeilles.

La monoculture d'échelle ne diversifie plus les pollens et donc l'alimentation des abeilles, qui se retrouve appauvrie de protéines et vitamines essentielles (Daniels, 2010). La nutrition est une fonction clé pour les abeilles comme pour tout organisme vivant. Elle est nécessaire au développement, à la santé et la survie de l'abeille. Le pollen est essentiel dans le développement larvaire (Haydack, 1970), le travail quotidien de l'ouvrière, et il entre dans la composition des protéines de la gelée royale (Clément et al., 2011).

Dans un environnement classique, la diversité florale permet en général d'avoir des fleurs tout au long de l'année, assurant ainsi une alimentation constante pour les colonies. Bien que les cultures étendues apportent une quantité importante de pollen, cette ressource varie en général avec le temps. En effet, de longues périodes de pénurie de pollen succèdent à la floraison massive des cultures (Odoux et al., 2012 ; Requier, 2013) et entraînent ainsi un vide alimentaire sur de longues périodes et de grandes surfaces : c'est l'apparition des périodes de disette (Figure 36).

Ce phénomène a notamment été observé en France entre 2009 et 2012 à l'aide du dispositif d'observation « ECOBEE ». Ce dispositif créé en 2007 a pour objectifs principaux (i) de suivre les colonies dans une zone de grande culture au cours d'une saison ou sur plusieurs années, (ii) la facilitation de la mise en place d'actions de recherche ponctuelles pour tester des hypothèses spécifiques et des questions d'actualité et (iii) d'apporter des outils pour évaluer les effets de la politique agricole sur les insectes pollinisateurs (INRA Poitou-Charentes, 2013). La thèse Fanny Rhoné dans le Gers a d'ailleurs quantifié ces disettes post-floraisons en récoltant les données sur les poids médians des réserves de miel dans chaque ruche incluse dans l'étude (Rhoné et al., 2016). Ainsi, la monoculture intensive de colza et de tournesol apporte deux pics alimentaires aux colonies, mais surtout deux périodes de vide alimentaire catastrophiques si la diversification florale disparaît (Figure 36). Comme elle l'a montré précédemment, les ressources alimentaires pérennes et durables sont essentiellement garanties par la préservation des espaces semi-naturels peuplés d'espèces ligneuses (Rhoné et al., 2016).

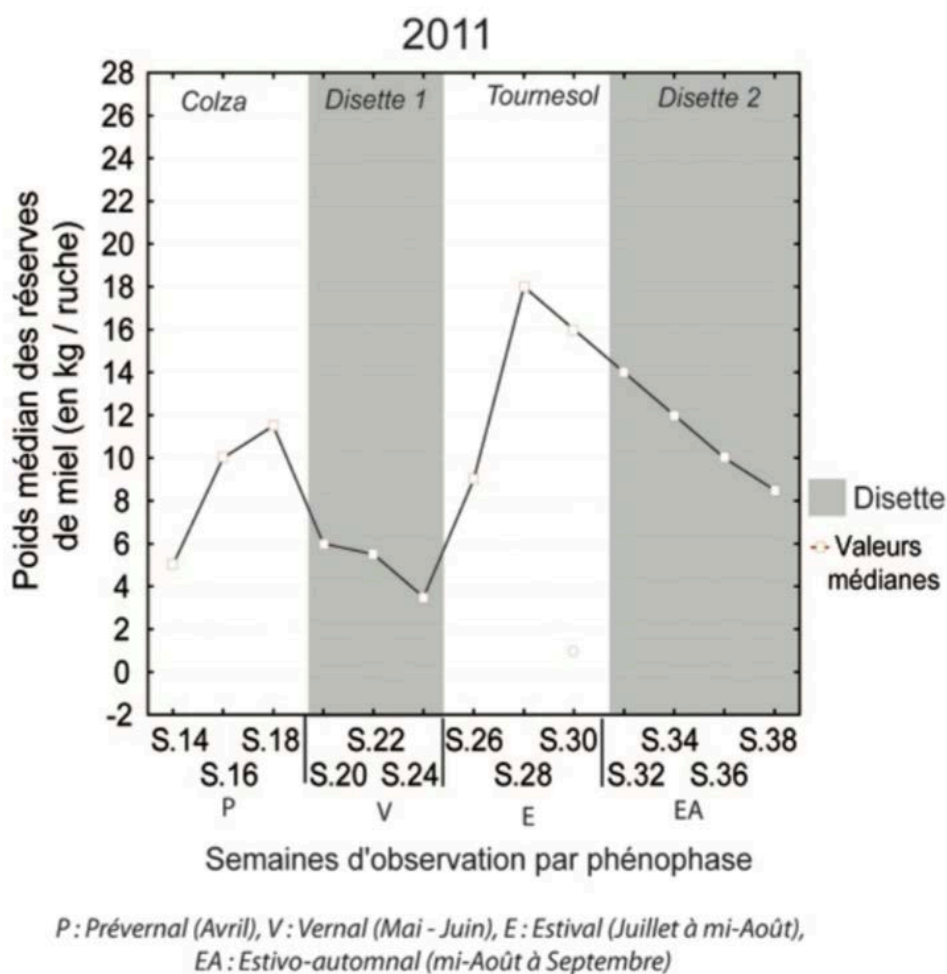


Figure 36 : Variations observées du poids médian des réserves de miel dans les ruches au cours de l'année 2011 (Rhoné et al., 2016)

En temps normal, une abeille butine à une distance comprise entre un kilomètre et trois kilomètres de sa ruche (Clément et al., 2011) ; au risque de ne plus avoir suffisamment d'énergie pour pouvoir revenir, ou de devoir consommer ce qu'elle devait initialement rapporter ; cela équivaudrait à un voyage inefficace (Clément et al., 2011).

De plus, la monoculture, et particulièrement la céréaliculture intensive, rime souvent avec utilisation massive de pesticides dont l'impact n'est plus à démontrer sur la santé et le comportement des abeilles. D'autre part, une étude récente a insisté sur l'importance des mauvaises herbes en dehors des périodes de floraison de masse décrites ci-dessus. 40% des besoins proviendraient des mauvaises herbes et des espèces ligneuses à la fin du printemps (Requier et al., 2015). Or, les plantes adventices sont menacées par l'utilisation de produits phytosanitaires. Par exemple,

le coquelicot, la mercuriale, l'ambroisie sont largement utilisées par les butineuses pour leur pollen nutritif en période de disette et ceci explique l'attrait dominant des abeilles pour les surfaces cultivées après les floraisons massives de colza et de tournesol. En supprimant ces ressources, on s'expose à une disette supplémentaire et à un choix simple pour les abeilles. Elles diminuent le nombre de larves afin de concentrer les apports aux adultes et pérenniser la colonie à l'approche de l'hiver. Cependant, ce choix est valable pour la première génération (Requier et al., 2015). En effet, les butineuses sont généralement les individus les plus âgés et ne seront plus présentes l'année suivante. Il faut normalement assurer la régénération de la colonie durant la période faste du printemps, et cette période intervient en décalage avec les cycles établis artificiellement par les pratiques agricoles actuelles. Les abeilles se retrouvent avec une diversité florale beaucoup plus faible, là où sans monoculture intensive, elles butinent jusqu'à quinze espèces botaniques différentes (Requier et al., 2015). De plus, les butineuses moins représentées l'année suivante emmagasineront moins de réserve pour l'hivernage suivant. De mauvaises réserves et des adultes de moins en moins nombreux auront finalement raison d'une colonie trop affaiblie pour résister à de multiples stress environnementaux et pathogènes. On estime que la survie hivernale ne dépasse pas 30% quand les variations en ressources florales dépendent essentiellement de la céréaliculture intensive (Requier et al., 2013). La perte de diversité florale contribue de ce fait à la non résilience des colonies (Rhoné et al., 2016).

Des expériences ont aussi porté sur l'influence de la quantité de pollen sur les paramètres vitaux des abeilles. Ainsi, en plus des pertes évoquées ci-dessus, une diminution de 10% en quantité de pollen peut causer un raccourcissement de longévité des ouvrières en conditions de laboratoire de deux à trois jours (Requier, 2013). Plus l'abeille consomme de pollen, et plus le développement de ses glandes hypopharyngiennes est rapide et le taux de vitellogénine est élevée, et donc sa survie plus importante (Requier, 2013). Quand on sait que les monocultures entraînent sur des périodes courtes des diminutions de 60% de pollen par rapport à un paysage floral varié (Requier, 2013), les inquiétudes quant à l'avenir des colonies sont pour le moins justifiées. Il apparaît que la quantité de pollen disponible est le facteur qui influence le plus rapidement la durée de survie des ouvrières, beaucoup

plus que la diversité de pollen. Malgré tout, il apparaît également que la diversité et l'abondance florales avantagent les abeilles quand elles sont confrontées à *Nosema ceranae* (Di Pasquale, 2014). En effet, l'apport de pollen à des abeilles infectées offre les mêmes chances de survie qu'à des individus sains (Figure 37)

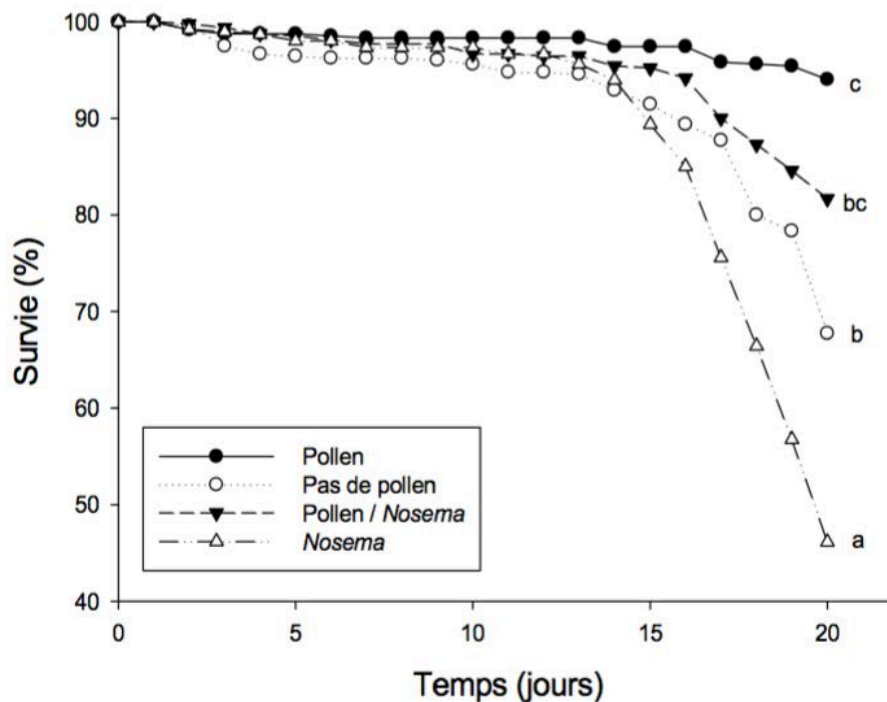


Figure 37 : Effet du pollen et du parasite *Nosema ceranae* sur la survie des abeilles. Nombre de survivantes pendant les soixante jours de l'expérience (régression de Cox, $p < 0,023$) (d'après Di Pasquale, 2014).

Concernant la qualité du pollen, on sait désormais que certains pollens consommés de façon équivalente affectent la santé et la longévité des ouvrières (Di Pasquale, 2014). C'est le cas par exemple du mélange maïs-sorgho, peu riche en protéines et donc en nutriments, qui ne permet pas le développement optimal des glandes hypopharyngiennes et une survie maximale des individus (Di Pasquale, 2014). Ainsi, il vaut mieux privilégier un pollen monofloral de bonne qualité nutritionnelle plutôt qu'un pollen polyfloral, tel que le maïs, le sorgho, le tournesol ou encore le ciste, qui n'augmentera pas les chances de survie des abeilles soumises à divers stress environnementaux (Charrière et al., 2006 ; Höcherl et al., 2012).

L'intégration de plantes entomophiles lors des intersaisons entre le colza et le tournesol pourrait réduire significativement les périodes de disette, de la même façon qu'une conservation, voire une restauration des paysages de bocages et de friches pourrait contribuer à la protection des abeilles sauvages et domestiques (Requier et al., 2015)

d. La pollinisation au service de la monoculture

Pour illustrer ce chapitre, il est intéressant de prendre un exemple très concret. C'est le cas des cultures d'amandiers, en Californie. Cette monoculture remplace la diversité, sur environ 325000 hectares. Cette surface gigantesque nécessite au minimum 36 milliards d'abeilles (Daniels, 2010). Le système agricole dans ces cultures est conçu de telle façon que l'abeille n'est plus un service rendu par la nature, mais bel et bien un outil de travail productiviste. En effet, le rendement maximal des amandiers est obtenu avec les abeilles. Sans abeille, le rendement est d'environ dix kilogrammes d'amandes par hectare. Les abeilles font passer ce chiffre à près de 700 kilogrammes par hectare (Daniels, 2010). L'enjeu économique a, une fois de plus, pris le dessus sur les enjeux environnementaux. En 2006, lors du début de la chute des colonies, il a fallu mobiliser pas moins de la moitié des colonies des Etats-Unis, et ceci dans l'unique but de la culture de l'amandier. En 2012, c'est près de 86% des colonies qui ont été mobilisés ; des importations de colonies étrangères ont même été nécessaires (Daniels, 2010). L'aberration du système et le rendement à n'importe quel prix ont fait que les colonies sont exploitées jusqu'à mort s'en suit, il n'y a de considération que pour les richesses produites sur une période très courte. Seulement, la mobilisation d'une telle quantité de colonies n'est pas sans impact à long terme. Les colonies sont stressées, désorientées. Elles sont constamment sous antibiotiques afin de préserver leur santé à court terme, au risque de voir émerger des pathogènes multirésistants qui diffuseraient parfaitement sur l'ensemble du territoire après cette période faste. En plein essor de la colonie, on impose aux abeilles une quantité astronomique de pollen monofloral peu propice au développement du couvain, qui engendre diverses carences. A cette période, le climat californien est très chaud et sec, notamment ces dernières années, qui provoque un stress supplémentaire à la sortie de l'hiver sur le continent américain

(Daniels, 2010). Enfin, les abeilles sont perfusées en permanence de cocktails vitaminés, hyperprotéinés, aseptisés et riches en acaricides anti-*Varroa*. Le couvain est soumis aux mêmes conditions (Daniels, 2010). La reine, quant à elle, est stimulée de telle sorte qu'elle ne vit même plus durant une saison entière (Daniels, 2010), quand une reine préservée peut vivre jusqu'à trois ans. Au lieu de ça, elles sont poussées à une ponte effrénée dans l'unique but de produire des colonies immenses au service du butinage. C'est justement dans ce type d'apiculture que le CCD est apparu pour la première fois aux Etats-Unis (Daniels, 2010).

En 2005, des chercheurs de l'INRA et du CNRS ont chiffré le service rendu pour l'ensemble des cultures mondiales par les insectes pollinisateurs à 153 milliards d'euros, dont environ 80% impliquent les abeilles domestiques et sauvages (Henry & Vaissière, 2015 ; Gallai et al., 2009). Ainsi, les abeilles sauvages et domestiques contribuent pour 6000€ par hectare à la production agricole (Henry & Vaissière, 2015). En France, près de 70% des cultures dépendent de la pollinisation entomophile (Klein et al., 2007). Le rôle crucial de ces acteurs est désormais l'objet de nombreuses évaluations de la part des autorités en charge de l'intégration du développement durable dans le paysage agricole (EFESE, 2016).

IV. Conclusion

Apis mellifera a un rôle essentiel à jouer dans l'équilibre de la biodiversité mondiale. Son avenir est compromis. L'anthropisation environnementale est en constante progression à travers le monde. Les insecticides utilisés en masse s'avèrent finalement être plus redoutables que prévus, et leurs effets néfastes ont enfin été démontrés. Malgré cela, ils continuent à être diffusés. Cependant, Cuba se présente comme un réservoir apicole mondial, avec des récoltes jamais vues en Europe depuis les années 1950 (France 2, 2018). En effet, l'utilisation des pesticides a été abandonnée après l'effondrement de l'URSS, et la lutte chimique contre l'acarien *Varroa destructor*, qui porte correctement son nom. S'il ne décime jamais une colonie directement, il l'affaiblit fortement et contribue à l'émergence d'infections opportunistes entraînant la mort d'un rucher. C'est le cas de la nosérose, des infections virales comme celle de l'IAPV ou du DWV. La lutte chimique semble partiellement inefficace. Contre toute attente, Les abeilles pourraient résister naturellement à la varroase, comme leurs voisines asiatiques. Une trentaine de gènes a été identifiée et permet la reconnaissance de *Varroa*, notamment sur des colonies d'abeilles noires d'Ecosse, résistantes au *Varroa* (Daniels, 2010). L'expression de ces gènes a permis une forte coopération comportementale et hygiénique au sein d'une colonie. Les individus résistants détecteraient olfactivement mieux le *Varroa* et élimineraient les couvains et nymphes infectés. On pourrait alors envisager des inséminations artificielles de la reine par du sperme mâle porteur de ce génome plus développé (Daniels, 2010). Seulement, en sélectionnant ces spécificités, l'idée de renforcer les abeilles contre les maux actuels est autant à l'ordre du jour que de prendre le risque de sélectionner et de supprimer également d'autres caractéristiques qui pourraient se révéler, un jour, essentielles. La vulnérabilité serait alors très forte en cas d'uniformisation génétique. En outre, l'apparition de nouvelles espèces invasives en Europe occidentale, comme *Vespa velutina*, est un facteur de stress environnemental supplémentaire contre lequel *Apis mellifera* n'est pas préparée. Ce stress lui coûte notamment beaucoup d'énergie en défense, et cette énergie vient désormais à manquer du fait du remembrement croissant des bocages et friches agricoles en étendues infinies, tapissées de monoculture, et notamment de céréaliculture. Ce type de culture entraîne désormais

des carences liées aux rythmes des cultures et apporte une nourriture de bien piètre qualité, souvent imbibée d'insecticides ravageurs.

Différentes questions se posent : les abeilles sont-elles des sentinelles de l'environnement ? Sommes-nous allés trop loin dans l'exploitation de notre planète ? Leur disparition signifie t-elle que la biodiversité est menacée d'extinction ? Est-il trop tard pour inverser la tendance ? Est-ce un cri d'alarme de la part de la nature si fragile qui nous entoure ? Ce qui est, en tout cas possible, c'est que la disparition des abeilles pourrait causer des millions de morts, en cas de diminution des ressources vivrières pollinisées exclusivement par les insectes. De même, près de 71 millions de personnes pourraient alors manquer de vitamines A, B9, et de fruits et légumes (Smith et al., 2015).

Des solutions existent, ou pourraient exister en cas d'effondrement encore plus massif des insectes pollinisateurs. C'est le cas notamment pour les infections à IAPV. Des chercheurs ont récemment développé une technique d'ingestion d'ARNi double brin par l'abeille, qui protégerait les abeilles de la maladie. De même, cette technique pourrait être développée pour l'infection à *Varroa destructor* (Garbian et al., 2012). La solution des robots-abeilles est un deuxième axe possible de développement, tel qu'il est développé dans une série télévisée catastrophe (Hawes, 2016). Des recherches très sérieuses sont menées à Harvard et au Japon. Ainsi, des mini-drones seront capables de transporter des particules mesurant entre dix et cent micromètres (AFP, 2017).

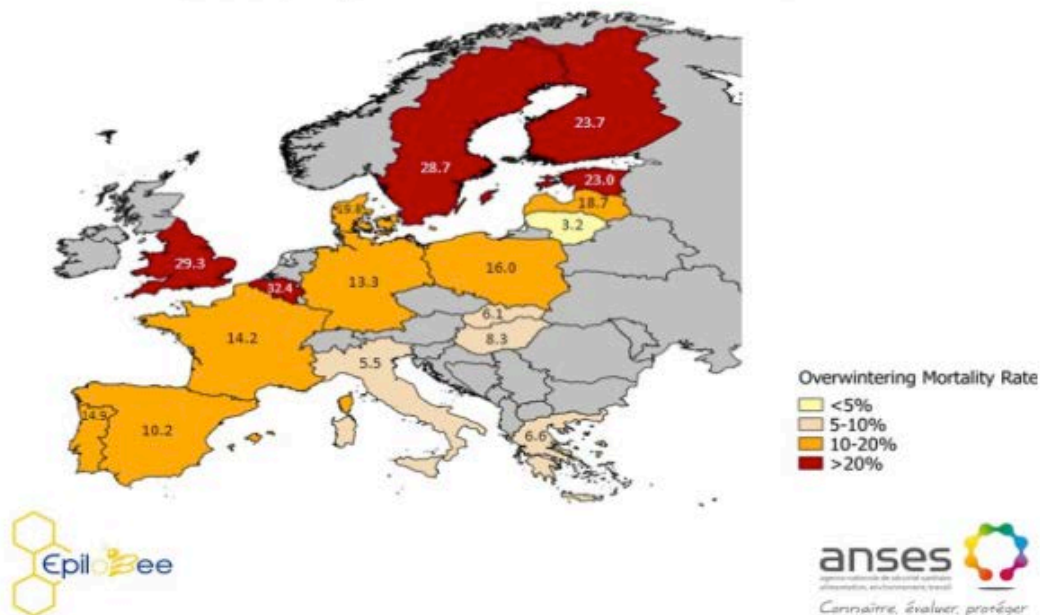
Malgré tout, selon notre avis, la solution la plus sage serait de réduire drastiquement l'usage des pesticides, tout en prenant en compte l'impact sur la productivité agricole. Ce changement de pratique entraînerait bien évidemment un bouleversement de notre mode de vie occidentale.

V. Annexes

Annexe 1 : L'abeille dans la classification du vivant (d'après Gilles Adam, 2010)

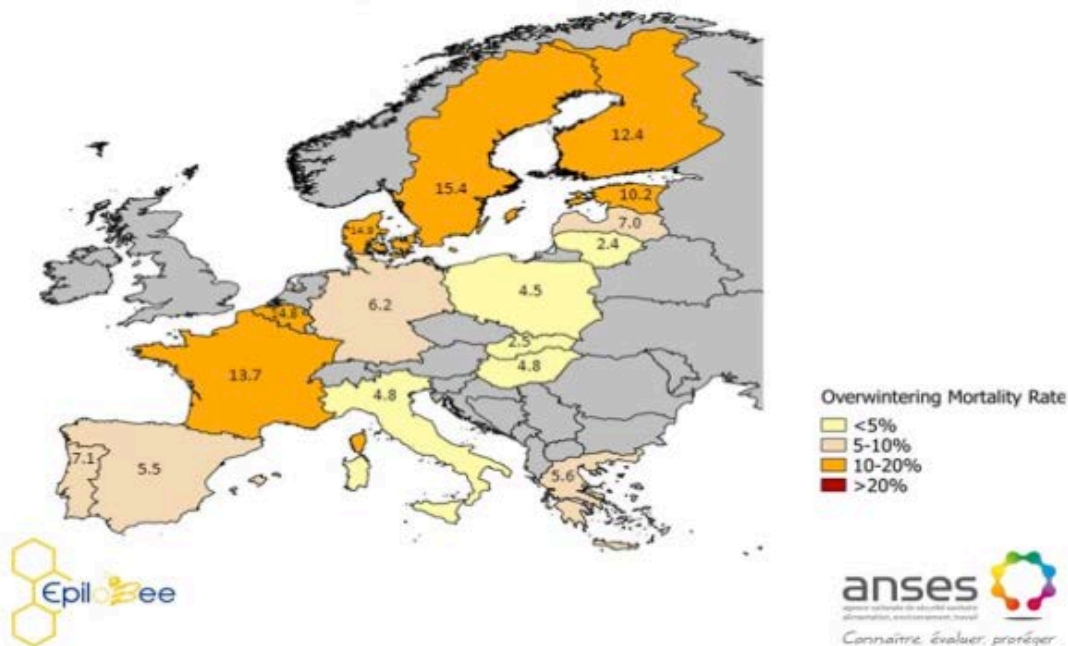
Classification	Taxon	Caractéristiques, exemples
Règne	Animaux	Hétérotrophes pluricellulaires Homme, poissons, vers
Embranchement	Arthropodes	Exosquelette chitineux, articulé Araignées, mille-pattes, crabes, écrevisses
Classe	Insectes	Corps divisé en trois parties : tête, thorax et abdomen Hannetons, pucerons, puces, papillons
Ordre	Hyménoptères	Métamorphose complète Ailes membraneuses Métathorax soudé au premier segment abdominal Guêpes, bourdons, abeilles solitaires
Sous-ordre	Apocrites	Rétrécissement entre le thorax et l'abdomen
Super-famille	<i>Apoidea</i>	Adaptation au régime alimentaire (miel et pollen) : corps couvert de poils, corbeilles à pollen
Famille	<i>Apidae</i>	Insectes sociaux Sécrétion de cire Abeille mellifère, bourdons, <i>Mellipona</i>
Genre	<i>Apis</i>	Sept espèces dont <i>mellifera</i> , <i>dorsata</i> , <i>cerana</i> , <i>florea</i>
Espèce	<i>Apis mellifera</i> L.	
Sous-espèces	<i>Mellifera Carnica</i> <i>Caucasica</i> <i>Ligustica</i>	24 sous-espèces au total, qui se différencient par les caractéristiques morphologiques et comportementales

**Mortalités hivernales des colonies d'abeilles collectées
par le programme EPILOBEE 2012-2013**



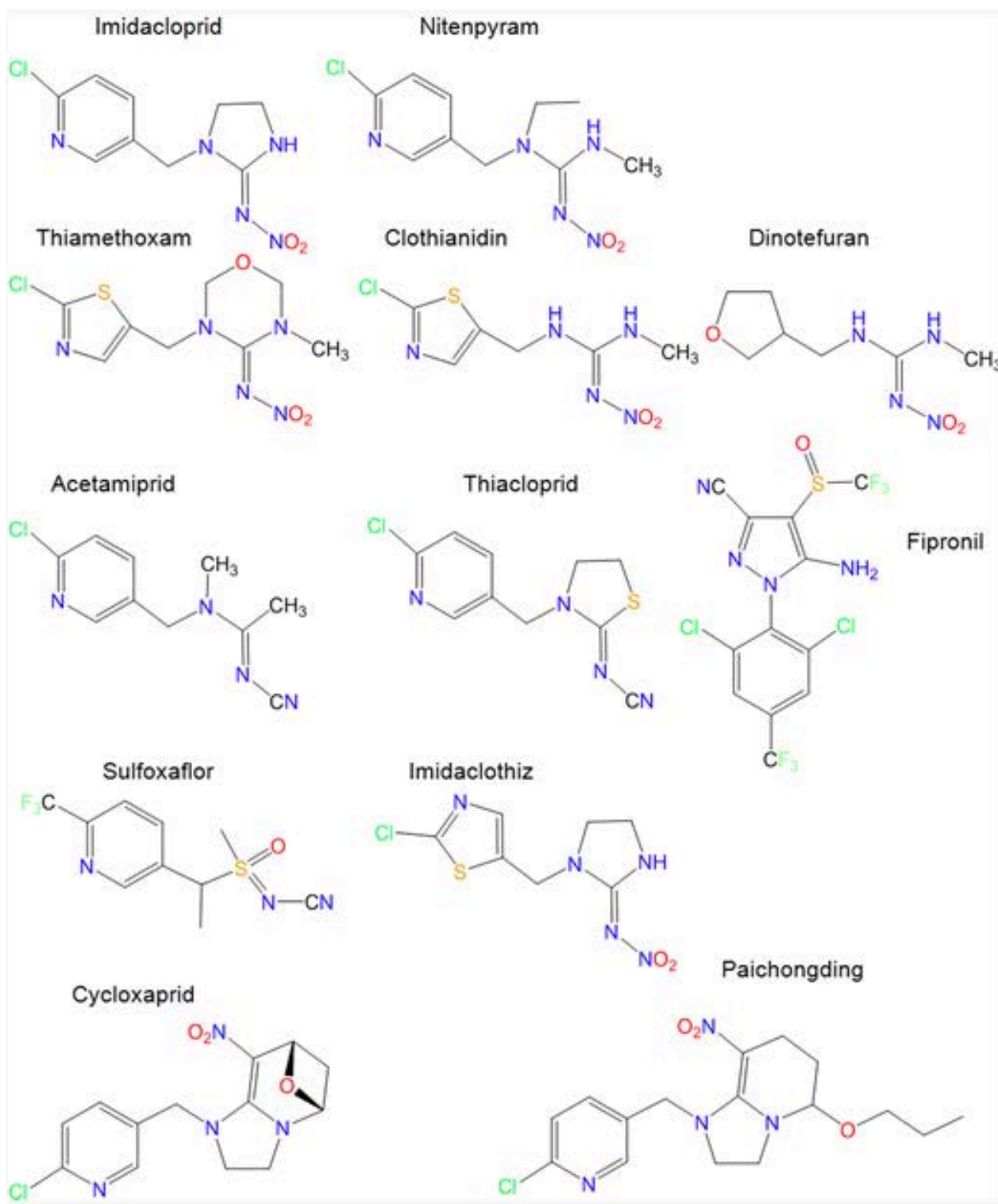
Annexe 2 : Mortalités hivernales des colonies d'abeilles collectées par le programme EPILOBEE 2012-2013 (ANSES, 2017)

**Mortalités hivernales des colonies d'abeilles collectées
par le programme EPILOBEE 2013-2014**



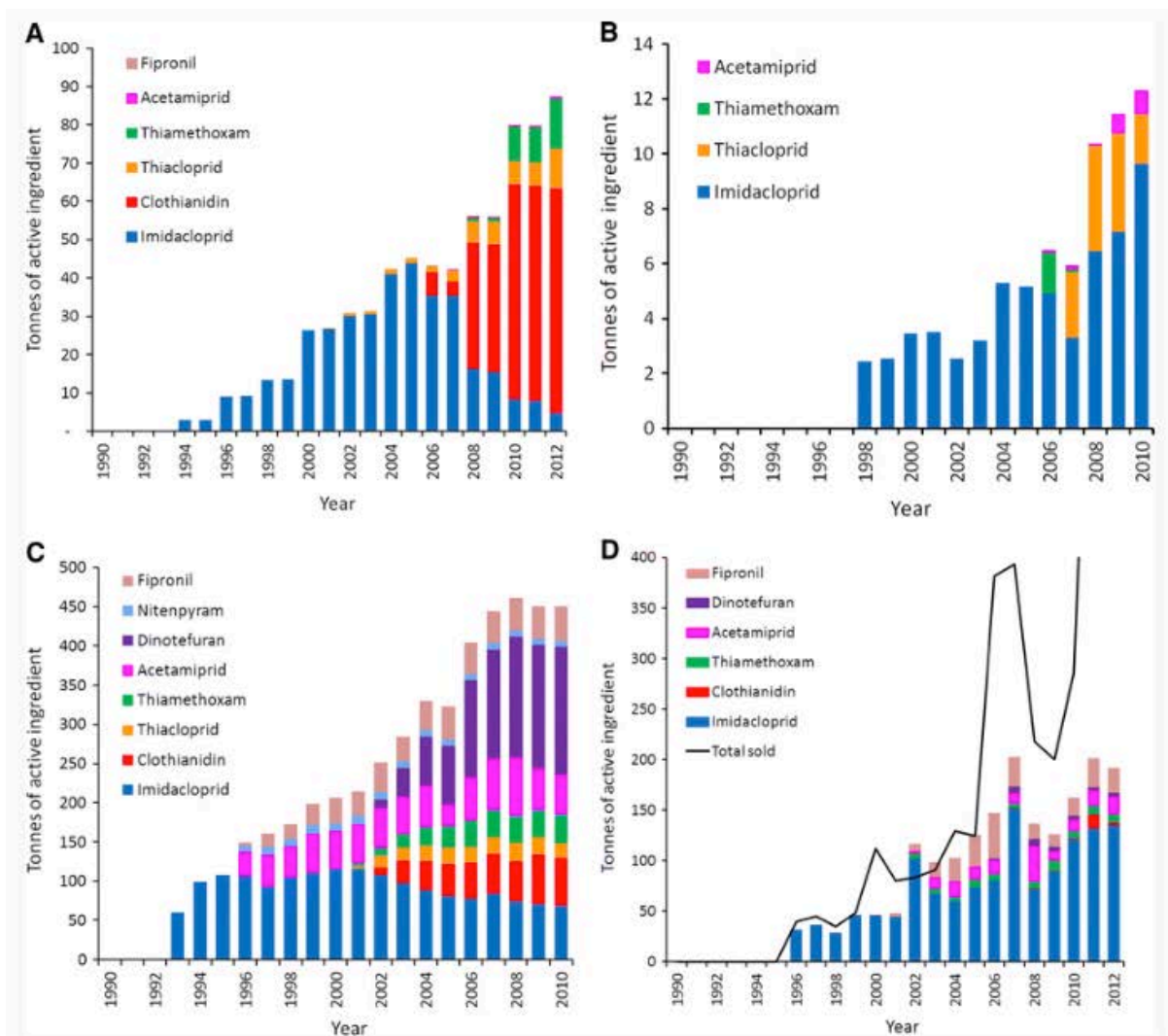
Annexe 3 : Mortalités hivernales des colonies d'abeilles collectées par le programme EPILOBEE 2013-2014 (ANSES, 2017)

Annexe 4 : Noms et formules des principaux néonicotinoïdes.



Annexe 5 : Nombre de cultures sur lesquelles sont utilisées les néonicotinoïdes (colonne 2). Croissance du chiffre d'affaires annuel global (US \$ million) des insecticides néonicotinoïdes. Les chiffres des ventes pour 2003, 2005 et 2007 proviennent de <http://www.agropages.com/BuyersGuide/category/Neonicotinoid-Insecticide-Insight.html>. Les chiffres des ventes pour 2009 et le nombre d'utilisations des cultures (Jeschke et al., 2011). Produits triés par classement des ventes en 2009 (Simon-Delso et al., 2005)

Produit	Utilisations sur cultures (Millions de dollars)	Compagnie	2003 (Millions de dollars)	2005	2007	2009
Imidaclopride	140	Bayer CropScience	665	830	840	1091
Thiamethoxam	115	Syngenta	215	359	455	627
Clothianidine	40	Sumitomo//Bayer CS	<30	162	365	439
Acetamiprid	60	Nippon Soda	60	95	130	276
Thiaclopride	50	Bayer CropScience	<30	55	80	112
Dinotefuran	35	Mitsui Chemicals	<30	40	60	79
niténpyram	12	Sumitomo	45	<10	<10	8

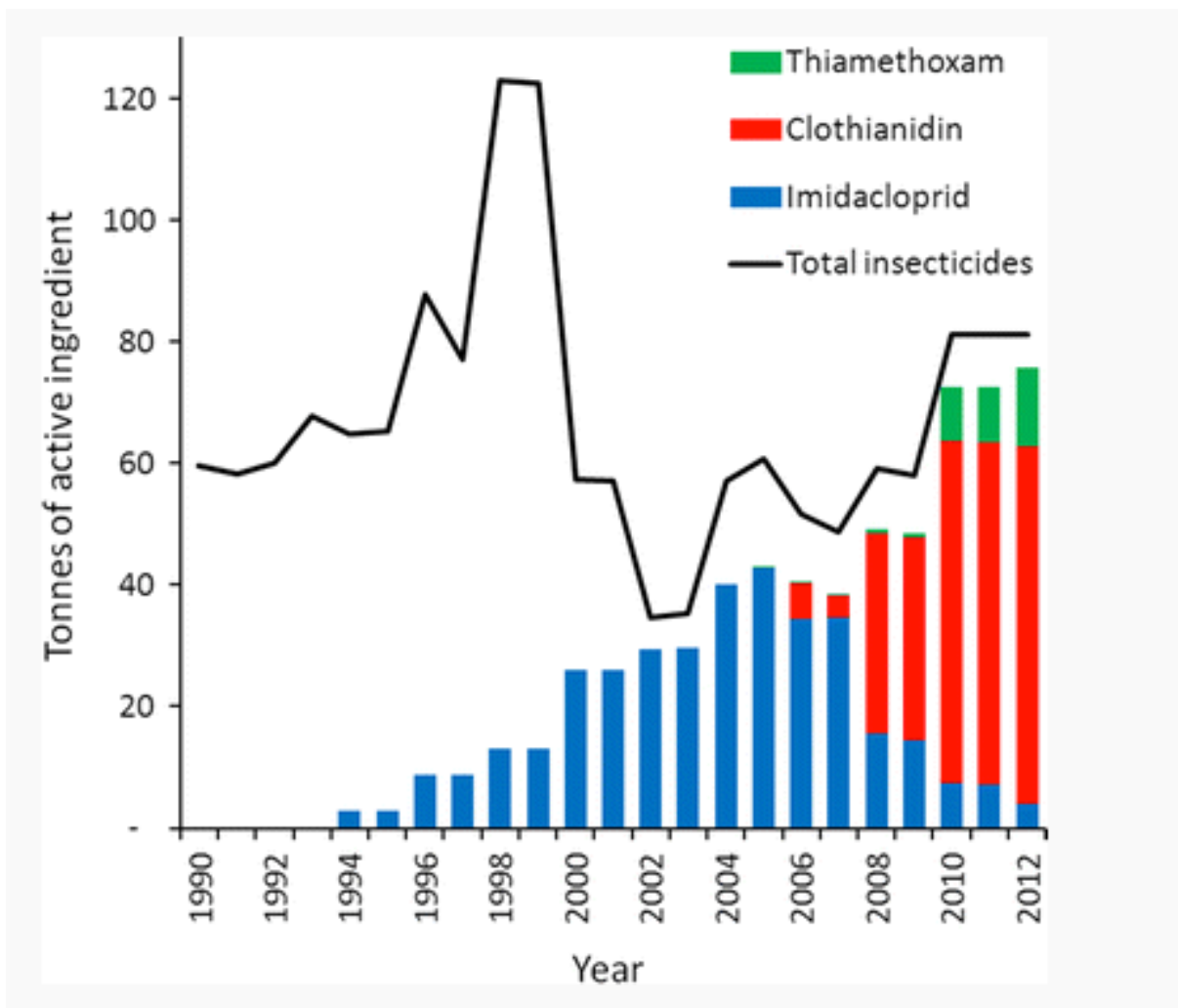


Annexe 6 : a. Tendence de l'utilisation agricole des insecticides néonicotinoïdes en Grande-Bretagne à partir de 1990, mesurée en tonnes d'ingrédient actif appliqué par an. Données provenant de <http://pusstats.csl.gov.uk/index.cfm>.

b. Tendence des quantités d'insecticides néonicotinoïdes vendus en Suède à partir de 1998, mesurées en tonnes de matière active par an. Données de l'Agence suédoise des produits chimiques, KEMI, citées dans (Bergkvist 2011).

c. Tendence de l'expédition nationale d'insecticides néonicotinoïdes et de fipronil au Japon à partir de 1990, mesurée en tonnes de matière active par an. Données de la base de données de l'Institut national d'études environnementales du Japon fournies par Mizuno, R. in litt., 2012.

d. Évolution de la quantité d'insecticides néonicotinoïdes et de fipronil utilisés en Californie à partir de 1990, mesurée en tonnes d'ingrédient actif par an. Données tirées de <http://www.cdpr.ca.gov/docs/pur/purmain.htm>. Les quantités totales vendues sont également indiquées sur le site <http://www.cdpr.ca.gov/docs/mill/nopdsold.htm>



Annexe 7 : Tendence de l'utilisation agricole des insecticides néonicotinoïdes comme traitements de semences en Grande-Bretagne à partir de 1990, mesurée en tonnes de matière active par an (barres). L'utilisation totale de tous les traitements insecticides (ligne continue) est également indiquée. Données de <http://pusstats.csl.gov.uk/index.cfm>

VI. Table des illustrations

Table des figures

Figure 1 : Anatomie générale externe de l'abeille <i>Apis mellifera</i> vue par Deyrolle.....	7
Figure 2 : <i>Apis mellifera</i> dans la classification systématique	8
Figure 3 : Carte d'Europe des mortalités au début de la crise.	26
Figure 4 : Sites d'action des insecticides néonicotinoïdes localisés sur les cellules postsynaptiques.	32
Figure 5 : L'exposition chronique à la clothianidine réduit la santé des abeilles mellifères.....	37
Figure 6 : Les néonicotinoïdes sont deux fois plus toxiques pour les abeilles en présence d'un fongicide commun.....	38
Figure 7 : Proportion de réponses d'extension de proboscis (PER) aux stimulus d'odeurs (CS) pour les abeilles et exposées à la clothianidine et inoculées avec des spores de <i>N. ceranae</i> dans 10 essais de conditionnement CS-US.....	41
Figure 8 : Effets sublétaux de l'imidaclopride sur la survie des travailleurs adultes	43
Figure 9 : Effets sublétaux de l'imidaclopride sur la croissance des travailleurs adultes	43
Figure 10 : Les quantités sublétales d'imidaclopride ont significativement réduit les titres de vitellogénine (Vg).....	44
Figure 11 : Évaluation de sperme d'abeille.	45
Figure 12 : Sites d'action des phénylpyrazoles localisés sur les cellules postsynaptiques (Casida & Durkin, 2013).	48
Figure 13 : Toxicité du fipronil et de ses principaux métabolites MB 46136 et RPA 200761 (EFSA, 2013).....	51
Figure 14 : Effet d'une intoxication orale et aiguë au fipronil (0,06 ou 0,3 ng/abeille) sur l'activité de butinage des abeilles 24 h après traitement.....	53

Figure 15 : Quantification relative de la charge de DWV chez les travailleurs adultes exposés à des niveaux variables d'acariens <i>Varroa</i>	61
Figure 16 : Expression relative de la transcription immunitaire défensine en réponse à l'association <i>Varroa</i> / DWV.....	62
Figure 17 : Expression relative de la transcription immunitaire de l'hyménoptacine en réponse à l'association <i>Varroa</i> /DWV.....	62
Figure 18 : Expression relative de la transcription immunitaire <i>Eater</i> en réponse à l'association <i>Varroa</i> / DWV.....	63
Figure 19 : Effet de l'infection par <i>Nosema</i> et / ou de l'exposition à l'imidaclopride sur la mortalité des abeilles et les demandes énergétiques.....	69
Figure 20 : Effet de l'infection par <i>Nosema</i> et / ou de l'exposition à l'imidaclopride sur l'immunité sociale.	70
Figure 21 : Courbes de survie des reines abeilles dans le champ.....	71
Figure 22 : Effet de l'infection par <i>N. ceranae</i> sur la sensibilité des abeilles aux insecticides.....	72
Figure 23 : Effet de l'exposition aux insecticides sur la production de spores de <i>Nosema ceranae</i>	73
Figure 24 : Effet de l'infection par <i>Nosema</i> et / ou de l'exposition à l'imidaclopride sur l'immunité individuelle.....	80
Figure 25 : Prévalence moyenne de l'infection par le virus IAPV en un seul mois.....	83
Figure 26 : Abondance relative de l'ARN du brin négatif des copies du génome de l'IAPV dans différents tissus d'abeilles mellifères.....	84
Figure 27 : Le nombre exact de copies de l'IAPV dans les têtes d'abeilles.....	86
Figure 28 : Comparaisons entre les abeilles injectées par l'IAPV et les abeilles injectées par PBS dans leur capacité de réaction au saccharose (1).....	88
Figure 29 : Comparaisons entre les abeilles injectées par l'IAPV et les abeilles injectées par PBS dans leur capacité de réaction au saccharose (2).....	89
Figure 30 : Effets de l'IAPV sur la capacité de retour des abeilles butineuses.....	90
Figure 31 : Progression de l'invasion de <i>Vespa velutina</i> en Europe.....	93
Figure 32 : Spectre de proies de <i>Vespa velutina</i> en France dans trois milieux différents (d'après Rome et al., 2011).	95

Figure 33 : Cycle biologique de <i>Vespa velutina</i> en France. Les couleurs de contour des photos correspondent à celles des différentes périodes du cycle.....	97
Figure 34 : Évolution des paysages agraires. Exemple de la commune de Puycasquier (Gers), 1950-1980.....	102
Figure 35 : Contribution des compartiments paysager ou sous-unités fonctionnelles à l'apport de ressources alimentaires	104
Figure 36 : Variations observées du poids médian des réserves de miel dans les ruches au cours de l'année 2011.....	106
Figure 37 : Effet du pollen et du parasite <i>Nosema ceranae</i> sur la survie des abeilles. Nombre de survivantes pendant les soixante jour de l'expérience.....	108

Table des photos

Photo 1 : <i>Varroa destructor</i>	56
Photo 2 : Abeille parasitée par <i>Varroa destructor</i>	58
Photo 3 : <i>Vespa velutina nigrithorax</i>	94

VII. Bibliographie.

Abbo P.-M., Kawasaki J., Hamilton M., Cook S., De Grandi-Hoffman G., Weng Feng L., Jie L., Ping Chen Y (2015) Effects of Imidacloprid and *Varroa destructor* on survival and health of European honey bees, *Apis mellifera*

Abrol D.P. (2006) Defensive behaviour of *Apis cerana* F. against predatory wasps. *Journal of Apicultural Science*. 2006, 50, 39-46.

Adam G. (2010) La biologie de l'abeille, Ecole d'apiculture Sud-Luxembourg

AFP (2017) Des mini-drones pollinisateurs à la rescousse des abeilles.

https://www.sciencesetavenir.fr/nature-environnement/des-mini-drones-pollinisateurs-a-la-rescousse-des-abeilles_110479 (consulté le 10 février 2018)

Aliferis KA, Copley T & Jabaji S (2012). Gas chromatography-mass spectrometry metabolite profiling of worker honey bee (*Apis mellifera* L.) hemolymph for the study of *Nosema ceranae* infection. *J Insect Physiol* 58, 1349–1359.

Alaux, C., Brunet, J.L., Dussaubat, C., Mondet, F., Tchamitchan, S., Cousin, M., Brillard, J., Baldy, A., Belzunces, L.P. and Le Conte, Y. (2009) Interactions between *Nosema* microspores and a neonicotinoid weaken honeybees (*Apis mellifera*). *Environmental Microbiology*, 12, 774–782.

Alkassab A.T. & Kirchner W.H. (2017) Assessment of acute sublethal effects of clothianidin on motor function of honeybee workers using video-tracking analysis.

Alyokhin A, Baker M, Mota-Sanchez D, Dively G, Grafius E (2008) Colorado potato beetle resistance to insecticides. *Am J Potato Res* 85:395–413. Doi:[10.1007/s12230-008-9052-0](https://doi.org/10.1007/s12230-008-9052-0)

Amdam G. et al. (2003) Social exploitation of vitellogenin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100, 1799-1802.

Amdam G.V., Simões Z.L.P., Hagen A., Norberg K., Schrøder K., Mikkelsen O., Kirkwood T.B.L., Omholt S.W. (2004). Hormonal control of the yolk precursor vitellogenin regulates immune function and longevity in honeybees. *Exp. Gerontol.* 39: 767-773.

Amdam G.V., Aase A.L.T.O, Seehuus S.C., Fondrk M.K., Norberg K., Hartfelder K. (2005). Social reversal of immunosenescence in honey bee workers. *Exp. Gerontol.* 40: 939-947.

Andrieu E., Balas G., Denanot J.-P. (2017) « Les abeilles sont menacées d'extinction en Europe », *Le Monde*, 19 octobre 2017 http://www.lemonde.fr/idees/article/2017/10/19/les-abeilles-sont-menacees-d-extinction-en-europe_5203274_3232.html?utm_campaign=Echobox&utm_medium=Social&utm_source=Facebook#link_time=1508409718 (consulté le 22 octobre 2017)

ANSES (2017) Le programme européen EPILOBEE <https://www.anses.fr/fr/content/le-programme-europeen-epilobee> (consulté le 22 octobre 2017)

Antúnez K, Martín-Hernández R, Prieto L, Meana A, Zunino P & Higes M (2009). Immune suppression in the honey bee (*Apis mellifera*) following infection by *Nosema ceranae* (*Microsporidia*). *Environ Microbiol* 11, 2284–2290.

Arca M., Mougél F., Guillemaud. T., Dupas S., Rome Q., Perrard A., Muller F., Fossoud A., Capdevielle-Dulac C., Torres-Leguizamon M., Chen X.X., Tan J.L.,

Jung C., Villemant G., Arnold G. Silvain J.-F. (2015). Reconstructing the invasion and the demographic history of the yellow-legged hornet, *Vespa velutina*, in Europe. *Biological Invasions*, 1-15.

Aufauvre J. (2013) Impact de la microsporidie *Nosema ceranae* et d'insecticides neurotoxiques sur la santé de l'abeille domestique (*Apis mellifera*)

Baer B. (2005) Sexual selection in Apis bees. *Apidologie* 36, 187–200.

Bagnères A-G, Lorenzi MC. (2010) Chemical deception/mimicry using cuticular hydrocarbons. In *Insect hydrocarbons: biology, biochemistry, and chemical ecology* (eds Blomquist GJ, Bagnères A-G), pp. 283–324. New York, NY: Cambridge University Press.

Barbara G.S., Zube C., Rybak J., Gauthier M., Grünewald B. (2005) Acetylcholine, GABA and glutamate induce ionic currents in cultured antennal lobe neurons of the honeybee, *Apis mellifera*. *J Comp Physiol A* 191:823–836

Beggs, J. R., Brockerhoff, E. G., Corley, J. C., Kenis, M., Masciocchi, M., Muller, F., Rome, Q., et al. (2011). Ecological effects and management of invasive alien Vespidae. *BioControl*, 56(4), 505-526.

Bernal J, Garrido-Bailón E, Del Nozal MJ, González-Porto AV, Martín-Hernández R, Diego JC, Jiménez JJ, Bernal JL & Higes M (2010). Overview of pesticide residues in stored pollen and their potential effect on bee colony (*Apis mellifera*) losses in Spain. *J Econ Entomol* 103, 1964–1971.

Bonmatin JM, Marchand PA, Charvet R, Moineau I, Bengsch ER & Colin ME (2005). Quantification of Imidacloprid Uptake in Maize Crops. *J Agric Food Chem* 53, 5336–5341.

Bonmatin J.-M., Marchand P.A., Cotte JF, Aajoud A., Casabianca H., Goutailler G., Courtiade M. (2007) Bees and systemic insecticides (imidacloprid, fipronil) in pollen: subnano-quantification by HPLC/MS/MS and GC/MS. In: Del Re AAM, Capri E, Fragoulis, Trevisan M (eds) Environmental fate and ecological effects of pesticide. La Goliardica Pavese, Pavia, (It), pp. 827–824.

Bonmatin J.-M., Giorio C., Girolami V., Goulson D., Kreuzweiser D.-P., et al (2014) Environmental fate and exposure; neonicotinoids and fipronil. Environ Sci Pollut Res:1–33. doi:[10.1007/s11356-014-3332-7](https://doi.org/10.1007/s11356-014-3332-7)

Botarela (consulté en 2017)

<http://botarela.fr/Poaceae/Description-detail/Reproduction.html>

Botías C., Anderson D.L., Meana A., Garrido-Bailón E., Martín-Hernández R. & Higes M. (2012). Further evidence of an oriental origin for *Nosema ceranae* (Microsporidia: Nosematidae). J Invertebr Pathol 110, 108– 113.

Casida JE, Durkin KA (2013) Neuroactive insecticides: targets, selectivity, resistance, and secondary effects. Annual Revue Entomology 58:99–117

Chaimanee V, Chantawannakul P, Chen Y, Evans JD & Pettis JS (2012). Differential expression of immune genes of adult honey bee (*Apis mellifera*) after inoculated by *Nosema ceranae*. J Insect Physiol 58, 1090–1095.

Charrière J.D., Imdorf A., Koenig C., Gallmann S. et Kuhn R. (2006) Cultures de tournesol et développement des colonies d'abeilles mellifères. 269-274.

Chauvin R. (1968) Traité de Biologie de l'abeille, Masson et Cie.

Chauzat M-P, Faucon J-P, Martel A-C, Lachaize J, Cougoule N & Aubert M (2006). A survey of pesticides residues in pollen loads collected by honey bees in France. *J Econ Entomol* 99, 253–262.

Chauzat M.P., Martin S. (2009) Une nouvelle menace pour les abeilles : l'introduction du frelon asiatique *Vespa velutina* en France, Bulletin Epidémiologique n°32

Chauzat M-P, Carpentier P, Martel A-C, Bougeard S, Cougoule N, Porta P, Lachaize J, Madec F, Aubert M & Faucon J-P (2009). Influence of pesticide residues on honey bee (*Hymenoptera: Apidae*) colony health in France. *Environ Entomol* 38, 514–523.

Chauzat M.-P., Martel A.-C., Cougoule N., Porta P., Lachaize J., Zeggane S., Aubert M., Carpentier P., Faucon J.-P. (2011) An assessment of honeybee colony matrices, *Apis mellifera* (*Hymenoptera: Apidae*) to monitor pesticide presence in continental France. *Environ Toxicol Chem* 30:103–111

Chen Y, Evans JD, Zhou L, Boncristiani H, Kimura K, Xiao T, Litkowski AM & Pettis JS (2009). Asymmetrical coexistence of *Nosema ceranae* and *Nosema apis* in honey bees. *J Invertebr Pathol* 101, 204–209.

Chen Y-W, Chung W-P, Wang C-H, Solter LF & Huang W-F (2012). *Nosema ceranae* infection intensity highly correlates with temperature. *J Invertebr Pathol* 111, 264–267.

Chen Y. & Evans J.D. (2007) Historical Presence of *Israeli Acute Paralysis Virus* (IAPV) in the United States, *American Bee Journal*, 147 :1027-1028

Choi, M.B., Martin, S.J., Lee, J.W.(2012) Distribution, spread, and impact of the invasive hornet *Vespa velutina* in South Korea. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 15(3): 473-477.

Christof W. Schneider et al. (2012) RFID Tracking of Sublethal Effects of Two Neonicotinoid Insecticides on the Foraging Behavior of *Apis mellifera*

Clément H, Le traité Rustica de l'Apiculture (2011)

Colin ME, Bonmatin JM, Moineau I, Gaimon C, Brun S & Vermandere JP (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.

Copley TR & Jabaji SH (2012). Honeybee glands as possible infection reservoirs of *Nosema ceranae* and *Nosema apis* in naturally infected forager bees. *J Appl Microbiol* 112, 15–24.

Cox-Foster D.L., Conlan S., Holmes E., Palacios G., Evans, J.D., Moran N.A., Quan P.L., Briese T., Hornig, M., Geiser D.M., Martinson, V., van Engelsdorp, D., Kalkstein A.L., Drysdale A., Hui, J., Zhai, J., Cui, L., Hutchison S.K., Simons J. F., Egholm M., Pettis J. S., Lipkin W. I. (2007) A metagenomic survey of microbes in honey bee colony collapse disorder. *Science*. 318(5848): 283-287.

Dade H.-A. (1994), Anatomy and dissection of the Honey bee, IBRA, Royaume-Uni.

Daniels M. (2010) *Le mystère de la disparition des abeilles*.

Da Silva Cruz A, da Silva-Zacarin ECM, Bueno OC & Malaspina O (2010). Morphological alterations induced by boric acid and fipronil in the midgut of worker honeybee (*Apis mellifera* L.) larvae : Morphological alterations in the midgut of *A. mellifera*. *Cell Biol Toxicol* 26, 165–176.

Decourtye A., Lacasse E., Pham-delègue MH. (2003) Learning performances of honeybees (*Apis mellifera* L) are differentially affected by imidacloprid according to the season.

Decourtye A, Devillers J, Aupinel P, Brun F, Bagnis C, Fourrier J & Gauthier M (2011). Honeybee tracking with microchips: a new methodology to measure the effects of pesticides. *Ecotoxicology* 20, 429–437.

De Jong D., De Jong PH., Goncalves L.S. (1982) Weight loss and other damage to developing worker honeybees from infestation with *Varroa jacobsoni*. *Journal Api.*, 165-167

De Jong D. (1984) Current knowledge and open questions concerning reproduction in the honeybee mit *Varroa jacobsoni*, *Advances in Invertebrate Reproduction* 3.

Denholm I, Cahill M, Dennehy TJ, Horowitz AR (1998) Challenges with managing insecticide resistance in agricultural pests, exemplified by the whitefly *Bemisia tabaci*. *Philos Trans R Soc B* 353(1376):1757–1767. doi:[10.1098/rstb.1998.0328](https://doi.org/10.1098/rstb.1998.0328)

De Silgy C. (1998) *L'agriculture biologique* Presses universitaires de France n°2632.

Dieckmann Y, Ishaque M, Muenster I, Picard L, Benz A, et al (2010) Systemicity enhancers. Patent No. US 2010/0204045 A1. 1–21

Di Pasquale G. (2014). Influence de l'alimentation pollinique sur la santé de l'abeille domestique, *Apis mellifera* L.. Sciences agricoles. Université d'Avignon.

Dupont F. & Guignard J.-L. (2007) Botanique : Systématique moléculaire, Abrégés Masson

Du Rand E.E., Smit S., Beukes M., Apostolides Z., Pirk, C.W. and Nicolson S.W. (2015) Detoxification mechanisms of honey bees (*Apis mellifera*) resulting in tolerance of dietary nicotine. *Scientific Reports*, 5, 11779

Dussaubat C, Maisonnasse A, Alaux C, Tchamitchan S, Brunet J-L, Plettner E, Belzunces LP & Le Conte Y (2010). *Nosema spp.* infection alters pheromone production in honey bees (*Apis mellifera*). *J Chem Ecol* 36, 522–525.

Dussaubat C, Brunet J-L, Higes M, Colbourne JK, Lopez J, Choi J-H, Martín-Hernández R, Botías C, Cousin M, McDonnell C, Bonnet M, Belzunces LP, Moritz RFA, Le Conte Y & Alaux C (2012). Gut pathology and responses to the microsporidium *Nosema ceranae* in the honey bee *Apis mellifera*. *PLoS ONE* 7, e37017.

Dussaubat C, Maisonnasse A, Crauser D, Beslay D, Costagliola G, Soubeyrand S, Kretzschmar A & Le Conte Y (2013). Flight behavior and pheromone changes associated to *Nosema ceranae* infection of honey bee workers (*Apis mellifera*) in field conditions. *J Invertebr Pathol* 113, 42–51.

Dussaubat C., Maisonnasse A., Crauser D., Sylvie Tchamitchian, Bonnet M. Cousin M., Kretzschmar A., Brunet J.-L., Le Conte Y. (2016) Combined neonicotinoid pesticide and parasite stress alter honeybee queens physiology and survival, *Scientific Reports* 6, Article number: 31430

Edwards R. (1980) *Social wasps : their biology and control*. Rentokil, East Grinstead

EFESE (2016) Le service de pollinisation, Novembre 2016

<https://www.actu-environnement.com/media/pdf/news-27924-cgdd-pollinisation.pdf>

(consulté le 10 janvier 2018)

El Hassani A.K., Dacher M., Gauthier M. & Armengaud C. (2005). Effects of sublethal doses of fipronil on the behavior of the honeybee (*Apis mellifera*). *Pharmacol Biochem Behav* 82, 30–39.

European Food Safety Authority (EFSA) (2013). Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment for bees for the active substance fipronil. *EFSA J* 11, 3158.

Evans JD, Aronstein K, Chen YP, Hetru C, Imler J-L, Jiang H, Kanost M, Thompson GJ, Zou Z & Hultmark D (2006). Immune pathways and defence mechanisms in honey bees *Apis mellifera*. *Insect Mol Biol* 15, 645–656.

Fayer R. (2004). Infectivity of Microsporidia Spores Stored in Seawater at Environmental Temperatures. *J Parasitol* 90, 654–657.

Fenoy S., Rueda C., Higes M., Martín-Hernández R. & del Aguila C. (2009). High-level resistance of *Nosema ceranae*, a parasite of the honeybee, to temperature and desiccation. *Appl Environ Microbiol* 75, 6886–6889.

Fernandez N. & Coineau Y. (2010) *Varroa*, tueur d'abeilles : bien le connaître, pour mieux le combattre, Editions Atlantica ISBN 2-84294-438-4

Fine J.D., Cox-Foster D.L., Mullin C.A. (2017) An Inert Pesticide Adjuvant Synergizes Viral Pathogenicity and Mortality in Honey Bee Larvae, *Scientific Reports* 7, 40499

Foster KR, Seppa P. (1999) Low paternity in the hornet *Vespa crabro* indicates that multiple mating by queens is derived in vespine wasps. *Behavioral ecology and sociobiology*, 46, 252.

Foucart S. & Valo M. (2017) Les apiculteurs dénoncent l'autorisation d'un nouveau néonicotinoïde en France, Le Monde

http://www.lemonde.fr/planete/article/2017/10/19/un-nouveau-neonicotinoide-autorise-en-france_5203468_3244.html (consulté le 22 octobre 2017)

France (2004). Draft assessment report (DAR) on the active substance fipronil prepared by the rapporteur. Member State France in the framework of Directive 91/414/EEC, April, 2004.

France (2005) Draft Assessment Report (DAR). Initial risk assessment provided by the rapporteur Member State France for the existing active substance fipronil of the second stage of the review programme referred to in Article 8(2) of Council Directive 91/414/EEC

France 2 (2018) : Abeilles : to bee or not to be.

https://www.francetvinfo.fr/replay-magazine/france-2/13h15/13h15-du-dimanche-14-janvier-2018_2549723.html (consulté le 10 février 2018)

Frémont A. (1997), La terre, dans Les Lieux de mémoire, tome III (Quarto Gallimard, 1997, p. 3047-3080

Fries I, Feng F, da Silva A, Slemenda SB & Pieniasek NJ (1996). *Nosema ceranae* n. sp. (Microspora, Nosematidae), morphological and molecular characterization of a microsporidian parasite of the Asian honey bee *Apis cerana* (Hymenoptera, Apidae). Eur J Protistol 32, 356–365.

Fries I, Wei HZ, Shi W, Chen SJ. (1996) Grooming behavior and damaged mites (*Varroa jacobsoni*) in *Apis cerana* and *Apis mellifera ligustica*. *Apidologie* 27, 3–11

Gajger I. et al. (2017) Impact of Thiamethoxam on Honey Bee Queen (*Apis mellifera carnica*) Reproductive Morphology and Physiology

Gallai N., Salles J-M., Settele J., Vaissière B. (2009) Economic valuation of the vulnerability of world agriculture confronted with pollinator decline. *Ecological Economics* 68, 810-821.

Garbian Y., Maori E., Kalev H., Shafir S., Sela I. (2012) Bidirectional Transfer of RNAi between Honey Bee and *Varroa destructor*: *Varroa* Gene Silencing Reduces *Varroa* Population

García-Palencia P., Martín-Hernández R., González-Porto A., Marin P., Meana A. & Higes M. (2010). Natural infection by *Nosema ceranae* causes similar lesions as in experimentally infected caged-workers honey bees (*Apis mellifera*). *J Apic Res* 49, 278–283.

Georghiou GP, Mellon RB (1983) Pesticide resistance in time and space. *Pest resistance to pesticides*. Springer. pp. 1–46. Accessible: http://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-4684-4466-7_1.

Gibbons D, Morrissey C, Mineau P (2014) A review of the direct and indirect effects of neonicotinoids and fipronil on vertebrate wildlife. *Environ Sci Pollut Res*. doi:[10.1007/s11356-014-3180-5](https://doi.org/10.1007/s11356-014-3180-5)

Goblirsch M, Huang ZY & Spivak M (2013). Physiological and behavioral changes in honey bees (*Apis mellifera*) induced by *Nosema ceranae* infection. *PLoS ONE* 8, e58165.

Goulson D., Lye G.C. and Darvill B. (2008). Decline and conservation of bumble bees. *Annu. Rev. Entomol. Palo Alto, Annual Reviews* 53: 191-208.

Gregor A. & Ellis J.-D. (2011). Cell death localization in situ in laboratory reared honey bee (*Apis mellifera* L.) larvae treated with pesticides. *Pestic Biochem Physiol* 99, 200–207.

Griffon M. (1999) Développement durable et agriculture : la révolution doublement verte, *Cahiers Agricultures* 1999 ; 8 :259-67

Grosclaude J. (2001), *Sécurité et risques alimentaires*, Volumes 856 à 857, Problèmes politiques et sociaux, La Documentation française.

Gunasekara AS, Truong T, Goh KS, Spurlock F & Tjeerdema RS (2007). Environmental fate and toxicology of fipronil. *Journal Pestic Science* 32, 189–199.

Hawes J. (2016) *Black Mirror : Hated in the Nation*, Saison 3, épisode 6.

Haydak M.H. (1970). Honey bee nutrition. *Annual Review Entomology*. Volume 15: pages 143-156.

Henry M. & Vaissière B. (2015) Seulement 2% des espèces d'abeilles sauvages participe significativement à la pollinisation des cultures ; Presse INRA.

<http://presse.inra.fr/Communiqués-de-presse/abeille-et-pollinisation-des-cultures>

(consulté le 10 janvier 2018)

Higes M, Martín R & Meana A (2006). *Nosema ceranae*, a new microsporidian parasite in honeybees in Europe. *J Invertebr Pathol* 92, 93–95.

Higes M, García-Palencia P, Martín-Hernández R & Meana A (2007). Experimental infection of *Apis mellifera* honeybees with *Nosema ceranae* (Microsporidia). *J Invertebr Pathol* 94, 211–217.

Higes M, Martín-Hernández R & Meana A (2010). *Nosema ceranae* in Europe: an emergent type C nosemosis. *Apidologie* 41, 375–392.

Higes M, Juarranz A, Dias-Almeida J, Lucena S, Botías C, Meana A, García-Palencia P & Martín-Hernández R (2013a). Apoptosis in the pathogenesis of *Nosema ceranae* (Microsporidia: Nosematidae) in honey bees (*Apis mellifera*). *Environ Microbiol Reports* 5, 530–536.

Hines H.M. and Hendrix S.D. (2005). Bumble bee (Hymenoptera: Apidae) diversity and abundance in tallgrass prairie patches: Effects of local and landscape floral resources. *Env. Entomol.* 34(6): 1477-1484.

Höcherl N., Siede R., Illies I., Gätschenberger H., Tautz J. (2012) Evaluation of the nutritive value of maize for honey bees. *Insect Physiol.* 58 : 278-285

Huang W-F, Jiang J-H, Chen Y-W & Wang C-H (2007). A *Nosema ceranae* isolate from the honeybee *Apis mellifera*. *Apidologie* 38, 30–37.

INRA Poitou-Charentes (2013) ECOBEE : un dispositif d'observation des abeilles en milieu ouvert. <http://www.poitou-charentes.inra.fr/Outils-et-Ressources/Dispositifs-experimentaux/Ecobee> (consulté le 10 janvier 2018)

Iqbal J., Mueller U. (2007) Virus infection causes specific learning deficits in honeybee foragers. *Proc R Soc Lond B* 274: 1517-1521.

ITSAP (2011) Résultats de l'enquête COLOSS 2011 à destination de l'ensemble des apiculteurs

Janet, C. 1903. Observations sur les guêpes. C. Naud, Paris.

Jeschke P., Nauen R., Schindler M., Elbert A. (2011) Overview of the status and global strategy for neonicotinoids. *J Agric Food Chem* 59:2897–2908

Johnson R. M., Evans D., Robinson G.E., Berenbaum M.R. (2009) Changes in transcript abundance relating to colony collapse disorder in honey bees (*Apis mellifera*)

Kather R, Drijfhout FP, Shemilt S, Martin SJ. (2015) Evidence for passive chemical camouflage in the parasitic mite *Varroa destructor*. *J. Chem. Ecol.* 41, 178–186

Keeling PJ & Fast NM (2002). Microsporidia: biology and evolution of highly reduced intracellular parasites. *Annu Rev Microbiol* 56, 93–116.

Ken T., Hepburn HR, Radloff SE, Yusheng Y, Yiqiu L, Danyin Z. (2005). Heat-balling wasps by honeybees. *Naturwissenschaften.* 2005, 92, 492-495.

Kim J.-K., Choi M., Moon T.-Y. (2006) Occurrence of *Vespa velutina* Lepeletier from Korea, and a revised key for Korean *Vespa* species (*Hymenoptera: Vespidae*). *Entomological Research*, 36: 112.

Klein A.-M., Vaissière B.E., Cane J.H., Steffan-Dewenter I., Cunningham S.A., Kremen C., Tscharntke T. (2006) Importance of pollinators in changing landscapes for world crops, *Proceedings of the Royal Society* ; 274, 303- 313.

Kralj J & Fuchs S (2010). *Nosema* sp. influences flight behavior of infected honey bee (*Apis mellifera*) foragers. *Apidologie* 41, 21–28.

Kremen C., Williams N.M. and Thorp R.W. (2002). Crop pollinisation from native bees at risk from agricultural intensification. *P. Natl. Acad. Sci. USA* 99(26): 16812-16816.

Le Conte Y (2002). L'abeille dans la classification des insectes. *Abeilles Fleurs* 15–16.

Le Conte Y. & Albouy V. (2014) Nos abeilles en péril, Carnets de Sciences, Editions Quae.

Le Conte Y., Huang Z.Y., Roux M., Zeng Z.J., Christidès J.-P., Bagnères A.-G. (2015) *Varroa destructor* changes its cuticular hydrocarbons to mimic new hosts

Leoncini I, Le Conte Y, Costagliola G, Plettner E, Toth AL, Wang M, Huang Z, Bécard J-M, Crauser D, Slessor KN & Robinson GE (2004). Regulation of behavioral maturation by a primer pheromone produced by adult worker honey bees. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101, 17559–17564.

Li Z., Chen Y., Zhang S., Chen S., Li W., Yan L., Shi L., Wu L., Sohr A., Su S. (2013) Viral Infection affects sucrose responsiveness and homing ability of forager honey bees, *Apis Mellifera L.*, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0077354>

Maisonnasse A. (2010) Communication chimique et régulations sociales dans la colonie d'abeilles (*apis mellifera L.*), *Abeille et Environnement*, Université d'Avignon.

Maori, E., Lavi, S., Mozes-Koch, R., Gantman, Y., Peretz, Y., Edelbaum, O., *et al* . (2007a) Isolation and characterization of IAPV, a dicistrovirus affecting honeybees in Israel: evidence for diversity due to intra- and inter-species recombination. *J Gen Virol* 88: 3428–3438.

Maori, E., Tanne, E. and Sela, I. (2007b) Reciprocal sequence exchange between non-retro viruses and hosts leading to the appearance of new host phenotypes. *Virology* 362: 342–349.

Marcangelli J., Monetti L., Fernandez N. (1992) Malformations produced by *Varroa jacobsoni* on *Apis mellifera* in the province of Buenos Aires Argentina. *Apidologie* 23 : 299-402.

Martin, S. J. (1990). Nest thermoregulation in *Vespa simillima*, *Vespa tropica* and *Vespa analis*. *Ecology. Entomology*

Marzaro M., Vivan L., Targa A., Mazzon L., Mori N., Greatti M., Petrucco Toffolo E., Di Bernardo A., Giorio C., Marton D., Tapparo A., Girolami V. (2011). Lethal aerial powdering of honey bees with neonicotinoids from fragments of maize seed coat. *Bulletin of Insectology*, 64, 118-125.

Matsuura M. and Yamane S. (1990) *Biology of the vespine wasps*. Springer-Verlag, Berlin; New York.

McDonnell CM, Alaux C, Parrinello H, Desvignes J-P, Crauser D, Durbesson E, Beslay D & Le Conte Y (2013). Ecto- and endoparasite induce similar chemical and brain neurogenomic responses in the honey bee (*Apis mellifera*). *BMC Ecol* 13, 25.

Mitchell E.A.D. , Mulhauser B., Mulo M., Mutabazi A., Glauser G., Aebi A. (2017) A worldwide survey of neonicotinoids in honey, *Science*, Vol. 358, Issue 6359, pp. 109-111

Muller, F., Rome, Q., Perrard, A., Villemant, C. (2009). Potential influence of habitat type and seasonal variations on prey spectrum of *Vespa velutina*, the Asian Hornet, in Europe. *Apimondia*, Montpellier, France, 15-20 September.

Mullin CA, Frazier M, Frazier JL, Ashcraft S, Simonds R, Vanengelsdorp D & Pettis JS (2010). High levels of miticides and agrochemicals in North American apiaries: implications for honey bee health. *PLoS ONE* 5, e9754.

Navajas M.J. (2010). "Tracking the colonisation history of the invasive species *Varroa destructor*". In Maurice Sabelis; Jan Bruin. *Trends in Acarology. Proceedings of the 12th International Congress*. Springer. pp. 375–378

Odoux J.F., Feuillet D., Aupinel P., Loublier Y., Tasei J.N. (2012). Territorial biodiversity and consequences on physico-chemical characteristics of pollen collected by honey bee colonies. *Apidologie* 43: 561-575.

Ohashi, K., Natori, S., and Kubo, T. (1999) Expression of amylase and glucose oxidase in the hypopharyngeal gland with an age-dependent role change of the worker honeybee (*Apis mellifera* L.). *Eur J Biochem* 265: 127–133.

Olivier V, Ribière M. (2006) Taxonomy of *Apis mellifera* viruses. *Virologie* : 10 : 267-78.

Papach A. et al (2017) Larval exposure to thiamethoxam and American foulbrood: effects on mortality and cognition in the honey bee *Apis mellifera*

Pareja L, Colazzo M, Pérez-Parada A, Niell S, Carrasco-Letelier L, Besil N, Cesio MV & Heinzen H (2011). Detection of pesticides in active and depopulated beehives in Uruguay. *Int J Environ Res Public Health* 8, 3844–3858.

Paxton RJ, Klee J, Korpela S & Fries I (2007). *Nosema ceranae* has infected *Apis mellifera* in Europe since at least 1998 and may be more virulent than *Nosema apis*. *Apidologie* 38, 558–565.

Pettis, J., Vanengelsdorp, D., Johnson, J. and Dively, G. (2012) Pesticide exposure in honey bees results in increased levels of the gut pathogen *Nosema*. *Naturwissenschaften*, 99, 153–158.

Pettis J, Vanengelsdorp D, Cox-Foster D. (2007) Colony collapse disorder working group pathogen sub-group progress report. *Am Bee J* 2007 ; 147 : 595-7.

Pisa L, Amaral-Rogers V, Belzunces LP, Bonmatin JM, Downs C, Goulson D, Kreutzweiser D, Krupke C, Liess M, McField M, Morrissey C, Noome DA, Settele J, Simon-Delso N, Stark J, van der Sluijs JP, van Dyck H, Wiemers M (2014) Effects of neonicotinoids and fipronil on non-target invertebrates. *Environ Sci Pollut Res* (this issue). doi:[10.1007/s11356-014-3471-x](https://doi.org/10.1007/s11356-014-3471-x)

Pollack P (2011) *Fine chemicals: the industry and the business – 2nd edition*. John Wiley & Sons, New Jersey

Pouvreau A. (1983) Cahiers de liaison de l'OPIE (Office P les Insectes et leur Environnement) 17 (1-4)

Quinn J.-F., Harrison S.-P. (1988) Effects of habitat fragmentation and isolation on species richness: evidence from biogeographic patterns, *Oecologia*, Volume 75, pages 132-140

Requier F. (2013) *Dynamique spatio-temporelle des ressources florales et écologie de l'abeille domestique en paysage agricole intensif*. Thèse.

Requier F., Odoux J.-F., Tamic T., Moreau N., Henry M., Decourtye A., Bretagnolle V. (2015) Honey bee diet in intensive farmland habitats reveals an unexpectedly high flower richness and a major role of weeds

Rhoné F. (2015) *L'abeille à travers champs : quelles interactions entre Apis mellifera L et le paysage agricole (Gers 32) ? : Le rôle des structures paysagères ligneuses dans l'apport de ressources trophiques et leurs répercussions sur les traits d'histoire de vie des colonies*. Géographie. Université Toulouse le Mirail - Toulouse II

Rhoné F., Maire E., Odoux J.-F., Guillaume S., Briane G. et al (2016) Abeilles et composantes ligneuses.

Rivière M., Olivier V., Blanchard P., Schurr F., Celle O., Drajnudel P., Faucon J.-P., Thiery R., Chauzat M.-P. (2008) Les effondrements de colonies d'abeilles : le cas du CCD et du virus IAPV, Volume 12, numéro 5, Septembre-Octobre 2008

Rome Q., Muller F., Gargominy O, Villemant C. (2009) Bilan 2008 de l'invasion de *Vespa velutina* Lepeletier en France (Hymenoptera, Vespidae). *Bulletin Société. Entomologique. Fr*, 114, 297-302.

Rome, Q., Villemant, C. (2011) Fiche d'aide à l'identification de *Vespa velutina*. Muséum national d'Histoire naturelle.

Rome, Q., Sourdeau, C., Muller, F., Villemant, C. (2013). Le piégeage du frelon asiatique *Vespa velutina*. Intérêts et dangers. Journée nationale des GTV, Nantes, SNGTV: 783-788.

Rome Q., Muller F.J., Touret-Alby A., Darrouzet E., Perrard A., Villemant C. (2015) Caste differentiation and seasonal changes in *Vespa velutina* (Hym.: Vespidae) colonies in its introduced range, *Journal of Applied Entomology*, Volume 139, Issue 10, Pages 771-782

Rosenkranz P. (1990) Witsfaktoren in der Steuerung der Reproduktion der parasitischen Bienmilbe *Varroa jacobsoni* in Völker von *Apis mellifera*. PhD Thesis, Universität Tübingen, page 147

Sahai-Hernandez P, Castanieto A & Nystul TG (2012). *Drosophila* models of epithelial stem cells and their niches. *Wiley Interdiscip Rev Dev Biol* 1, 447–457.

Saija Piironen, Dave Goulson (2016) Chronic neonicotinoid pesticide exposure and parasite stress differentially affects learning in honeybees and bumblebees ? The Royal Society, Volume 283, issue 1828.

Samson-Robert O. et al. (2017) Planting of neonicotinoid-coated corn raises honey bee mortality and sets back colony development

Seehuus S.C., Norberg K., Gimsa U., Krekling T., Amdam G.V. (2006). Reproductive protein protects functionally sterile honey bee workers from oxidative stress. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 103: 962-967.

Sano, O., Kunikata, T., Kohno, K., Iwaki, K., Ikeda, M., and Kurimoto, M. (2004) Characterization of royal jelly proteins in both Africanized and European honeybees (*Apis mellifera*) by twodimensional gel electrophoresis. *J Agric Food Chem* 52: 15–20.

Schmittgen T.-D., Livak K.-J. (2008) Analyzing real-time PCR data by the comparative C-T method. *Nature Protocols* 3: 1101–1108.

Shah, F. A., and T. A. Shah. (1991) *Vespa velutina*, a serious pest of honey bees in Kashmir. *Bee World* 72:161-164.

Shen M1, Yang X, Cox-Foster D, Cui L. (2005) The role of *Varroa* mites in infections of *Kashmir Bee Virus* (KBV) and *Deformed Wing Virus* (DWV) in honey bees.

<https://doi.org/10.1016/j.virol.2005.07.012>

Simon-Delso N., Amaral-Rogers V., Belzunces LP., Bonmatin JM., Chagnon M., Downs C, Furlan L., Gibbons DW., Giorio C., Girolami V., Goulson D., Kreuzweiser DP., Krupke C, Liess M., Long E., McField M, Mineau P., Mitchell EAD., Morrissey CA., Noome D.-A., Pisa L., Settele J., Stark JD, Tapparo A., van Dyck H., van Praagh J., van der Sluijs JP., Whitehorn PR. and Wiemers M. (2014) Systemic

insecticides (neonicotinoids and fipronil): trends, uses, mode of action and metabolites. *Environ Sci Pollut Res.* doi:[10.1007/s11356-014-3470-y](https://doi.org/10.1007/s11356-014-3470-y)

Smart M.D. & Sheppard W.S. (2012). *Nosema ceranae* in age cohorts of the western honey bee (*Apis mellifera*). *J Invertebr Pathol* 109, 148–151.

Smith M., Singh G.M., Mozaffarian D., Myers S.S. (2015) Effects of decreases of animal pollinators on human nutrition and global health a modelling analysis, *The Lancet*.

Steffan I. & Tschamntke T. (1999) Effects of habitat isolation on pollinator communities and seed set, Volume 121, pages 432-440.

Stephen J. Martin, Andrea C. Highfield, Laura Brettell, Ethel M. Villalobos, Giles E. Budge, Michelle Powell, Scott Nikaido, Declan C. Schroeder. (2012) Global honey bee viral landscape altered by a parasitic mite. *Science*, 336, 1304–1306.

Straub L., Villamar-Bouza L., Bruckner S., Chantawannakul P., Gauthier L., Khongphinitbunjong K., Retschnig G., Troxler A., Vidondo B., Neumann P., R. Williams G.R. (2016) Neonicotinoid insecticides can serve as inadvertent insect contraceptives, *Proceedings of The Royal Society B*, Volume 283, Issue 1835

Sur R., Gourlay V., Fent G., Schmitt W., Goerlitz G. (2012). Determination of plant uptake factors for pesticide fate modelling. Poster presented at SETAC conference in Berlin, 21 May 2012.

Takahashi J., Nakamura J., Akimoto S. (2004) Kin structure and colony male reproduction in the hornet *Vespa crabro* (*Hymenoptera* : *Vespidae*). *Journal of ethology*. 3, 43-47.

Tan K., S. E. Radloff, J. J. Li, H. R. Hepburn, M. X. Yang, M. X. Zhang, and P. Neumann (2007) Bee-hawking by the wasp, *Vespa velutina*, on the honeybees *Apis cerana* and *A. mellifera*. *Naturwissenschaften*.

Tapparo A, Giorio C, Marzaro M, Marton D, Soldà L & Girolami V (2011). Rapid analysis of neonicotinoid insecticides in guttation drops of corn seedlings obtained from coated seeds. *J Environ Monit* 13, 1564–1568.

Tingle C.C.D., Rother JA, Dewhurst CF, Lauer S, King WJ (2003) Fipronil: environmental fate, ecotoxicology and human health concerns. *Rev Environ Contam Toxicol* 176:1–66

Tomizawa M, Casida JE (2011) Neonicotinoid insecticides: highlights of a symposium on strategic molecular designs. *J Agric Food Chem* 59:2883–2886

Traver B.E. & Fell R.D. (2012). Low natural levels of *Nosema ceranae* in *Apis mellifera* queens. *J Invertebr Pathol* 110, 408–410.

UICN (2015) Nearly one in 10 wild bee species face extinction in Europe while the status of more than half remains unknown - IUCN report ; <https://www.iucn.org/fr/node/17531>

US EPA, Pesticides (2016) : Regulating pesticides, pesticide inert ingredients. <http://www.epa.gov/opprd001/inerts/> (consulté le 22 octobre 2017)

Vidau, C., Diogon, M., Aufauvre, J., Fontbonne, R., Vignes, B., Brunet, J.L., Texier, C., Biron, D.G., Blot, N., El Alaoui, H., 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.

Villemant C., Haxaire J., Streito J-C. (2006) La découverte du Frelon asiatique *Vespa velutina*, en France. *Insectes*, 143, 3–7.

Villemant C, Haxaire J, Streito J-C. (2006) Premier bilan de l'invasion de *Vespa velutina* Lepeletier en France (Hymenoptera, Vespidae). *Bulletin de la Société entomologique de France*, 111, 535–538.

Villemant C. (2008) Une deuxième espèce de frelon pour la faune de France. *Ann Soc Hist nat Hort Hérault*, 148, 53-56.

Villemant C, Rome Q, Muller F. (2010) *Vespa velutina*, un nouvel envahisseur prédateur d'abeilles. *SECAS*.

Villemant, C., Rome, Q., Muller, F., Arca, M., Arnold, G., Mougel, F., Silvain, J.-F., et al. (2011) Etude de la biologie, du comportement et de l'impact de *Vespa velutina* sur les abeilles en vue d'un contrôle spécifique. *Programme Communautaire pour l'Apiculture, CE n°797/2007-2010*, rapport final 2008-2011, 51 p.

Villemant C., Barbet-Massin M., Perrard A., Muller F., Gargominy O., Jiguet F., Rome Q. (2011) Predicting the invasion risk by the alien bee-hawking Yellow-legged hornet *Vespa velutina nigrithorax* across Europe and other continents with niche models, *Biological Conservation*, Volume 144, Issue 9, Pages 2142-2150

Vogel G. (2017) Where have all the insects gone? *Science, Plants and Animals*.
<http://www.sciencemag.org/news/2017/05/where-have-all-insects-gone> (consulté le 22 octobre 2017)

Wallach EE, Kidd SA, Eskenazi B, Wyrobek AJ. (2001) Effects of male age on semen quality and fertility: a review of the literature. *Fertil. Steril.* 75, 237–248.

Wang, D.I., and Moeller, F.E. (1969) Histological comparisons of the development of hypopharyngeal glands in healthy and *Nosema* infected worker honey bees. *J Invertebr Pathol* 14: 135–142.

Wardell, G. (2016) Project *Apis mellifera*.

<http://archive.constantcontact.com/fs109/1109892572559/archive/1124145019504.html> (consulté le 22 octobre 2017)

Winston M.L. (1991) The biology of the Honey Bee.

Woodcock B.A. et al., “Country-specific effects of neonicotinoid pesticides on honey bees and wild bees

Woyke J, Ruttner F. (1958) An anatomical study of the mating process in the honeybee. *Bee World* 39, 1–18

Wu, J.Y., Smart, M.D., Anelli, C.M. and Sheppard, W.S. (2012) Honey bees (*Apis mellifera*) reared in brood combs containing high levels of pesticide residues exhibit increased susceptibility to *Nosema* (*Microsporidia*) infection. *Journal of Invertebrate Pathology*, 109, 326–329.

Yagya Prasad Paudel Y.P., Mackereth R., Hanley R. & Qin W. (2015) Honey Bees (*Apis mellifera*) and Pollination Issues: Current Status, Impacts, and Potential Drivers of Decline.

N° d'identification :

TITRE :

La disparition des abeilles depuis le CCD : Origines et causes probables de l'effondrement des colonies.

Thèse soutenue le 14 mars 2018

Par LECRIVAIN LOIC

RESUME :

Les abeilles sont indispensables à la reproduction des angiospermes, et ceux-ci assurent l'apport nutritionnel nécessaire à leur équilibre. Depuis 2006, les populations d'abeilles ont chuté drastiquement. L'Homme est principalement responsable : on parle de pression anthropique. Les pratiques agricoles ont modifié la biodiversité. L'utilisation massive de pesticides contribue à l'affaiblissement des colonies. La mondialisation a facilité l'expansion des maladies qui anéantissent les abeilles. Enfin, le développement de la monoculture intensive depuis 70 ans a eu pour conséquence une diminution de l'abondance des ressources florales. Une prise de conscience paraît urgente pour l'avenir de la biodiversité.

MOTS CLES :

Abeille, CCD, pesticides, *Varroa*, *Nosema*, virus, agriculture intensive, biodiversité

Directeur de thèse	Intitulé du laboratoire	Nature
Dominique LAURAIN-MATTAR	UMR 7053 L2CM	Expérimentale <input type="checkbox"/> Bibliographique <input checked="" type="checkbox"/> Thème 2

Thèmes

1 – Sciences fondamentales

2 – Hygiène/Environnement

3 – Médicament



4 – Alimentation – Nutrition

5 - Biologie

6 – Pratique professionnelle

DEMANDE D'IMPRIMATUR

Date de soutenance : 14 MARS 2018 A 14H

<p align="center">DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE</p> <p>présenté par : LECRIVAIN Loïc</p> <p><u>Sujet</u> : LA DISPARITION DES ABEILLES DEPUIS LE CCD : ORIGINES ET CAUSES PROBABLES DE L'EFFONDREMENT DES COLONIES.</p> <p><u>Jury</u> :</p> <p>Président : Mme LAURAIN-MATTAR, Professeur des Universités Directeur : Mme LAURAIN-MATTAR, Professeur des Universités</p> <p>Juges : Mme BANAS Sandrine, Maître de Conférences Mr CARDINAULT Nicolas, Directeur scientifique Mr HENRY Baptiste, Docteur en Pharmacie</p>	<p align="center">Vu, Nancy, le 19/02/2018</p> <p align="center">Le Président du Jury Directeur de Thèse</p> <p align="center">M. Laurain-Mattar M. Laurain-Mattar <i>Loïc LECRIVAIN</i> <i>M. Laurain-Mattar</i></p>
<p align="center">Vu et approuvé, Nancy, le 19.02.2018</p> <p align="center">Doyen de la Faculté de Pharmacie de l'Université de Lorraine,</p> <p align="center">  Francine PAULUS </p>	<p align="center">Vu, Nancy, le - 6 MARS 2018</p> <p align="center">Le Président de l'Université de Lorraine,</p> <p align="center">  Pierre MUTZENHARDT </p> <p align="center">N° d'enregistrement : 10187</p>