



**HAL**  
open science

## Etude de différents stress chez l'abeille : le cas des glandes hypopharyngiennes

Aurélie Baldy

► **To cite this version:**

Aurélie Baldy. Etude de différents stress chez l'abeille : le cas des glandes hypopharyngiennes. [Stage] IUT. Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse (UAPV), Avignon, FRA. 2009, 66 p. hal-02818941

**HAL Id: hal-02818941**

**<https://hal.inrae.fr/hal-02818941v1>**

Submitted on 6 Jun 2020

**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.

2009



IUT d'Avignon  
Université d'Avignon et  
Des Pays du Vaucluse  
337 Chemin de Meinajaries  
BP 1207, 84911 Avignon  
cedex 9  
+33 (0)4 90 84 14 00



Centre de Recherche d'Avignon  
Domaine Saint Paul, Site Agroparc  
84914 Avignon, cedex 9  
337 Chemin des Meinajaries  
tél : (33) 04 32 72 20 00

## *Etude de différents stress chez l'abeille : le cas des glandes hypopharyngiennes*

Présenté par BALDY Aurélie.



Source laboratoire de l'abeille

Enseignant tuteur : Mr JOBIN Michel  
Maître de stage : Mr LE CONTE Yves

Rapport de stage pour l'obtention du DUT Génie Biologique option Agronomie



IUT d'Avignon  
Université d'Avignon et  
Des Pays du Vaucluse  
337 Chemin de Meinajaries  
BP 1207, 84911 Avignon  
cedex 9  
+33 (0)4 90 84 14 00



Centre de Recherche d'Avignon  
Domaine Saint Paul, Site Agroparc  
84914 Avignon, cedex 9  
337 Chemin des Meinajaries  
tél : (33) 04 32 72 20 00

## *Etude de différents stress chez l'abeille : le cas des glandes hypopharyngiennes.*

Présenté par BALDY Aurélie



Source laboratoire de l'abeille

Enseignant tuteur : Mr JOBIN Michel  
Maître de stage : Mr LE CONTE Yves

Rapport de stage pour l'obtention du DUT Génie Biologique option Agronomie



# Remerciements

Je remercie l'Institut National de Recherche en Agronomie plus particulièrement Mr Luc BELZUNCES, directeur de l'unité de l'Ecologie des Invertébrés pour m'avoir accueillie dans son unité.

Je remercie tout particulièrement Mr Yves LE CONTE pour m'avoir accueillie dans son équipe afin de renforcer mes connaissances sur les abeilles et sur leur stress physiologique. Son accompagnement et son aide précieuse dans la découverte du monde de l'abeille ainsi que sa passion pour son travail m'ont permis d'apprendre beaucoup de choses sur son activité dans le domaine de la préservation des abeilles.

Mademoiselle Claudia DUSSAUBAT, pour son expérience, ses conseils, ainsi que son encadrement.

Monsieur Cédric ALAUX, pour son aide précieuse en statistiques.

Je tiens aussi à remercier les autres personnes faisant parti du laboratoire Mrs MAISONNASSE Alban, Didier CRAUSER (apiculteur), Jean-Marc BECARD, Dominique BESLAY ainsi que les différents stagiaires au sein de l'équipe : AMAACH Horiya, MARTEAU Vincent, MONTES Geoffrey, DUCLOZ François, HERLIHY Daniel et BRATTON Hunter.

Je remercie également l'équipe enseignante du département Génie Biologique de l'IUT d'Avignon ainsi que mon professeur tuteur, Mr Michel JOBIN pour m'avoir donné ma chance.

## Sommaire

Remerciements .....	4
Sommaire .....	5
I. Introduction :.....	7
a) <i>Présentation de la structure d'accueil</i> :.....	7
b) <i>Contexte de l'étude</i> : .....	8
b.1 <i>Préambule</i> :.....	8
b.2 <i>Problématique</i> : .....	9
<i>b.2.1 : Pesticides et abeilles</i> :.....	11
<i>b.2.2 Pathogène et abeilles</i> : .....	14
II. Expérimentations :.....	15
<i>Expérience antérieure 1 : sur la mortalité des abeilles</i> :.....	15
A. Principes et objectif :.....	15
B. Matériel et Méthodes :.....	15
C. Résultats : (Annexe 7) .....	16
<i>Expérience 2. Etude sur les glandes hypopharyngiennes:</i> .....	17
A. Principes et objectif :.....	17
B. Matériel et Méthodes :.....	17
B.1 : Mise en place de la manipulation :.....	17
B.1.1 : Récolte des abeilles et description des traitements : .....	17
B.1.2 Administration des traitements :.....	19
Traitement : Nosema .....	19
A. Principes et objectifs : .....	21
B. Matériel et Méthodes :.....	21
B.1 Dissection des abeilles :.....	21
B.2 Protocole pour le dosage des protéines : .....	22
B.2.1. Dosage des protéines par la méthode de Bradford.( Annexe 8) .....	22
C. Résultats : .....	24
C.1.Dissection : .....	24
C.1.1 Résultats de la dissection pour le jour 5 : (Annexe 9).....	25
C.1.2 Conclusion des résultats au jour 5 :.....	25
C.1.3 Résultats de la dissection pour le jour 10 :( Annexe 10).....	26
C.1.4 : Conclusion pour la dissection au jour 10 : .....	26
C.1.5 Analyse statistique :(Annexe 11).....	27
C.2.1 Résultats du dosage des protéines au jour 5 : (Annexe 9).....	28
C.2.2 Conclusion sur les résultats du dosage des protéines au jour 5 :.....	29
C.2.3 Résultats du dosage des protéines au jour 10 : (Annexe 10).....	29
C.2.4 : Conclusion sur les résultats du dosage des protéines au jour 10 :.....	30
C.2.5 : Analyse Statistique : (Annexe 11).....	30
III Conclusion :.....	31
A. <i>Conclusion générale</i> :.....	31
B. <i>Conclusion personnelle</i> : .....	31
Glossaire.....	33
Bibliographie :.....	34
ANNEXES .....	35

## Table des illustrations :

Figure 1: <i>Apis mellifera</i> dans la classification systématique.....	8
Figure 2: Anatomie de la tête d'une ouvrière .....	10
Figure 3: Anatomie de l'ouvrière avec les différentes glandes.....	11
Figure 4: photographie d'une glande hypopharyngienne.....	11
Figure 5: Mortalités corrigées cumulées des abeilles naissantes face aux différents traitements .....	16
Figure 6: Mortalités corrigées cumulées pour la concentration 0.7 µg/l.....	16
Figure 7: Mortalités corrigées cumulées à la concentration 7µg/µl.....	17
Figure 8: Photographie d'un modèle de cagette (source Claudia DUSSAUBAT).....	18
Figure 9: Schéma récapitulatif des prélèvements.....	18
Figure 10: Photographie de l'infestation au Nosema (source Claudia DUSSAUBAT) .....	19
Figure 11: Tableau récapitulatif des traitements effectués (OIE, 2008, et Malone et al, 1998)	20
Figure 12: Schéma récapitulatif de l'expérience .....	20
Figure 13: Photographie de deux glandes .....	21
Figure 14: Photographie d'une microplaque pour les dosages .....	24
Figure 15: Exemple d'un tableau de résultats pour la dissection.....	24
Figure 16: Effet des traitements sur la taille des glandes hypopharyngiennes des ouvrières de la ruche 97 à J 5.....	25
Figure 17: effet des traitements sur la taille des glandes hypopharyngiennes des ouvrières de la ruche 47 à J 5.....	25
Figure 18: effet des traitements sur la taille des glandes hypopharyngiennes des ouvrières de la ruche 128 à J 5.....	25
Figure 19: effet des traitements sur la taille des glandes hypopharyngiennes des ouvrières de la ruche 97 à J 10.....	26
Figure 20: effet des traitements sur la taille des glandes hypopharyngiennes des ouvrières de la ruche 97 à J 10.....	26
Figure 21: Effet des traitements sur la taille des glandes hypopharyngiennes des ouvrières de la ruche 128 à J 10.....	26
Figure 22: Graphique de la courbe étalon .....	27
Figure 23: Exemple d'un tableau d'absorbance des échantillons.....	28
Figure 24: Effet des traitements sur la quantité de protéines des glandes hypopharyngiennes des ouvrières de la ruche 97 à J 5.....	28
Figure 25: Effet des traitements sur la quantité de protéines des glandes hypopharyngiennes des ouvrières de la ruche 47 à J 5.....	28
Figure 26: Effet des traitements sur la quantité de protéines des glandes hypopharyngiennes des ouvrières de la ruche 128 à J 5.....	29
Figure 27: Effet des traitements sur la quantité de protéines des glandes hypopharyngiennes des ouvrières de la ruche 97 à J 10.....	29
Figure 28: Effet des traitements sur la quantité de protéines des glandes hypopharyngiennes des ouvrières de la ruche 47 à J 10.....	29
Figure 29: Effet des traitements sur la quantité de protéines des glandes hypopharyngiennes des ouvrières de la ruche 128 à J 10.....	30

## I. Introduction :

### a) Présentation de la structure d'accueil :

L'Institut National de Recherche en Agronomie (INRA) est un organisme de recherche scientifique public, fondé en 1946. Aujourd'hui, il est le premier institut européen de recherche en agronomie. Ses études concernent surtout les questions liées à l'agriculture, l'alimentation, la sécurité des aliments, l'environnement ainsi qu'à la gestion des territoires, avec un accent en faveur du développement durable.

L'INRA d'Avignon a été fondé en 1953, il constitue un maillon fort aussi bien par la taille du domaine que par les recherches qui lui sont confiées. Il est incorporé dans un dispositif de trois régions Provence-Alpes-Côte d'Azur. Il est structuré en départements de recherche, construits sur la base des disciplines scientifiques nécessaires pour couvrir tous les besoins de recherche de l'agriculture. C'est le premier institut de recherche en agronomie en Europe, l'INRA mène des recherches finalisées pour une alimentation adaptée, pour un environnement préservé et une agriculture compétitive et durable.

L'unité de recherche en Ecologie des invertébrés étudie les invertébrés terrestres dans un contexte d'agriculture durable en considérant non seulement leur biologie mais aussi le devenir des individus, des populations et des communautés en zones de culture, et de manière plus large, dans l'environnement. (Annexe 1 et 2)

Mon stage s'est déroulé plus précisément dans le laboratoire de Biologie et de Protection de l'abeille (nommé LBA) qui est géré par le directeur de recherche Monsieur Yves LE CONTE qui étudie le comportement de l'abeille (phéromones, régulations sociales, interactions des castes...) et la lutte contre le *varroa* et autres maladies de l'abeille.

Voici une citation qui résume la situation dans laquelle nous nous trouverons dans quelques années si nous ne trouvons pas une solution à la disparition des abeilles, au fil du temps.

« Si l'abeille disparaissait de la surface du globe, l'homme n'aurait que quatre années à vivre. Plus de pollinisation, plus d'herbe, plus d'animaux, plus d'hommes. »

*Citation  
d'apiculteurs Américains*



b) Contexte de l'étude :

b.1 Préambule :

Chez les insectes, l'ordre des Hyménoptères comprend plus de cent mille espèces. On trouve dans cet ordre les abeilles du genre *Apis*.

Les caractéristiques des Hyménoptères sont : deux paires d'ailes membraneuses couplées par des crochets, des pièces buccales de type broyeur- lécheur, un cerveau bien développé et une parthénogenèse soit une reproduction sans mâle. (LE CONTE.Y, 2002. *Le Traité Rustica de l'Apiculture*). (Annexe 3)

Règne - Animalia  
Embranchement - Arthropoda  
Sous-embranchement. - Hexapoda  
Classe - Insecta  
Sous-classe - Pterygota  
Infra-classe - Neoptera  
Super-ordre - Endopterygota  
Ordre - Hymenoptera  
Sous-ordre - Apocrita  
Super-famille - Apoidea  
Famille - Apidae  
Sous-famille - Apinae  
Genre - *Apis*  
Espèce - *Apis mellifera*  
Race ou sous-espèce - *mellifera*

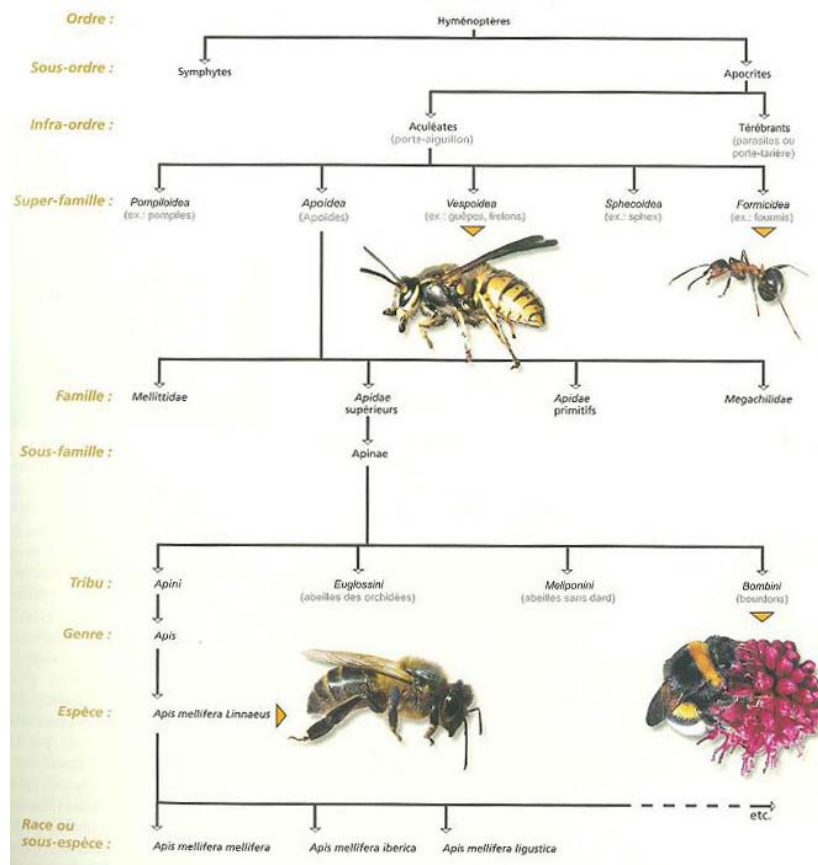


Figure 1: *Apis mellifera* dans la classification systématique

Plus précisément les abeilles appartiennent au sous ordre des Apocrites (c'est-à-dire qui ont une taille de guêpe) et au groupe des Aculéates, caractérisés par un ovipositeur transformé en aiguillon, et qui rassemble les guêpes, les fourmis et les abeilles.

L'abeille *Apis Mellifera* plus connue sous le nom de l'abeille européenne domestique est très importante en agriculture, elle est surtout caractérisée par un comportement hautement social, c'est-à-dire par une division du travail entre les individus adultes, la coopération dans l'entretien du couvain, le chevauchement des générations et la présence d'individus sexués et stériles. En plus de la production de miel et de produits utilisés en pharmacie, elle constitue un agent majeur de la pollinisation et celle-ci peut être indispensable à certaines cultures. (LE CONTE.Y., 2002. *Le Traité Rustica de l'Apiculture*).

La société d'abeille est composée de 20 000 à 80 000 individus, elle est partagée en trois castes : la reine, les mâles et les ouvrières, qui accomplissent chacun un travail spécifique au sein de la colonie. Les ouvrières, sont les plus nombreuses, Ce sont des femelles stériles, vivant de quelques semaines à quelques mois selon les saisons, et qui assurent la totalité des tâches non reproductives : comme soigner le couvain, construire et aménager le nid. (Annexe 4)

### *b.2 Problématique :*

Depuis 15 ans, les abeilles subissent de fortes mortalités que seuls les facteurs de stress connus ne peuvent expliquer. Les chercheurs se tournent vers une explication qui impliquerait plusieurs stress, comme les pathogènes, les pesticides, la qualité de la nourriture, etc. Nos expériences, sur l'étude des réactions physiologiques des abeilles face à différents stress, tentent de répondre au problème de la mortalité des abeilles. Et nous permettrait d'observer les réponses de l'abeille face à ces différentes agressions.

Le déroulement de mon stage a consisté à étudier, les effets de microspores nommé *Nosema* ainsi qu'un pesticide nommé Imidaclopride sur l'abeille. Plus particulièrement, à examiner les stress physiologiques qu'ils produisent chez l'abeille.

J'ai étudié plus particulièrement la production de protéines par la glande hypopharyngienne\* qui est importante pour nourrir les larves. Par ailleurs, la glande produit différentes enzymes comme la glucosidase qui est nécessaire à la production d'antiseptique (comme l'eau oxygénée H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) dans la nourriture et le miel.

Winston (1987), démontre quatre phases au cours de la vie de l'abeille ouvrière (Annexe 4 et 5). Elle passe les 3 premières semaines de sa vie à l'intérieur de la ruche à s'occuper des tâches sans risque comme le nettoyage, les soins de la reine et du couvain, la

construction du nid. Pendant cette période, les glandes mandibulaires, hypopharyngiennes, labiales et cirières sont développées. Les glandes hypopharyngiennes, situées dans la tête de l'abeille (fig. 2 et 3), sont parfois nommées glandes mammaires à cause du caractère essentiel de ce qu'elles produisent, la gelée royale. Chez l'abeille domestique, ces glandes (fig. 4) ont pour fonction principale de produire et de sécréter la partie protéinique de la gelée royale à partir de la digestion partielle du pollen et du miel. (MOHAMMEDI, A., CRAUSER, D., PARIS, A., and LE CONTE, Y. 1998). Les glandes hypopharyngiennes se présentent en une structure glandulaire dont chaque élément est formé d'un long canal fuselé principal ; sur lequel s'ouvre un groupe d'alvéoles, qui sont des cellules glandulaires. (CASSIER P, LENSKY Y, 1992)

Les glandes hypopharyngiennes atteignent généralement leur taille maximale chez les ouvrières âgées de 6 jours, ce qui correspond à la production de la gelée royale pour nourrir les larves (DESEYN J., BILLEN J., 2005) et leur développement est lié à la présence du couvain dans la colonie (MOHAMMEDI, A., CRAUSER, D., PARIS, A., and LE CONTE, Y. 1996).

Elles ont un développement comportemental ainsi qu'une physiologie qui évolue en fonction de leur âge, c'est le polyéthisme\* lié à l'âge. Il est régulé par des facteurs individuels d'ordres endocriniens, génétiques, neurologiques et moléculaires.

Après avoir été nourrice, l'abeille va ensuite sortir pour accomplir les tâches extérieures risquées, la garde et le butinage, une réduction de la taille des glandes est alors observée.

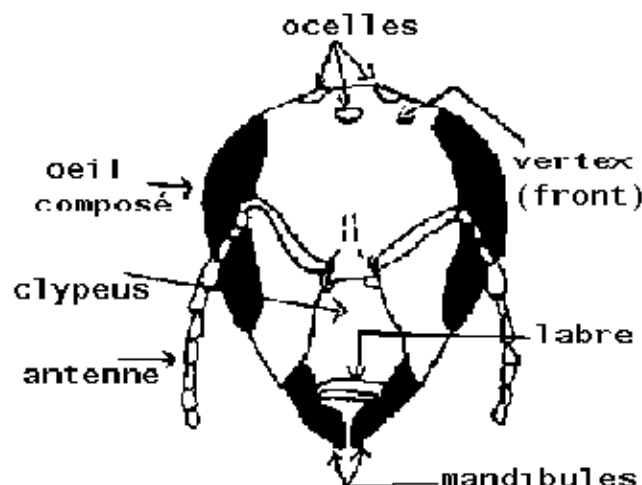


Figure 2: Anatomie de la tête d'une ouvrière

Source : <http://www.encyclopedie-universelle.com/abeille1/abeille-anatomie-glandes.html>

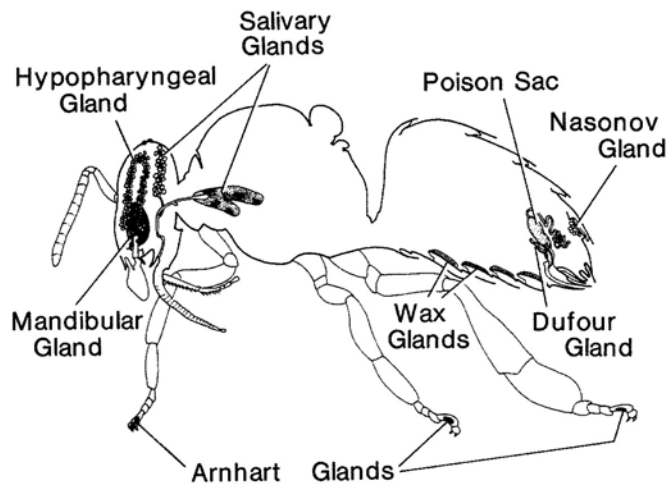


Figure 3: Anatomie de l'ouvrière avec les différentes glandes.  
Source laboratoire de l'abeille



Figure 4: photographie d'une glande hypopharyngienne  
Source : Laboratoire de l'abeille

Pour notre expérience nous avons choisit de tester deux stress : un pesticide, Imidaclopride\*, ainsi qu'un pathogène *Nosema*\*.

### *b.2.1 : Pesticides et abeilles :*

Pour protéger les cultures, les agriculteurs utilisent différents types de produits phytosanitaires, encore appelés pesticides, qui sont classés dans différentes familles telles que les insecticides, les acaricides, les fongicides.

Les insecticides se répandent de plus en plus et on les classe suivant leurs structures chimiques qui sont les suivantes :

- **Organochlorés** : cette famille comprend un grand nombre de composés chimiques contenant du chlore et quelquefois d'autres éléments. Ceux-ci sont difficilement biodégradables et fortement persistants dans l'environnement.
- **Organophosphorés** : ils agissent sur l'enzyme acétylcholinestérase, ils opèrent en bloquant irréversiblement cette enzyme, qui est essentielle à l'excitation neuronale. Ces organophosphorés ont une toxicité aiguë élevée mais une faible rémanence, de ce fait ils nécessitent souvent la répétition des traitements.
- **Pyréthrénoïdes** : Leur composition se rapproche du pyrèthre naturel, il s'agit de la famille de pesticide la plus utilisée. Ceux sont des organismes de synthèse très toxiques pour les organismes aquatiques.
- **Carbamates** : ceux-ci présentent les mêmes caractéristiques que les organophosphorés, mais avec une toxicité moins importante.
- **Insecticides récents** : néonicotinoïdes

Les intoxications d'abeilles sont le plus souvent non intentionnelles, et résultent d'un mauvais emploi des pesticides. En effet nous pouvons observer que la plupart des empoisonnements d'abeilles se produisent quand les insecticides sont appliqués pendant la période de floraison, car c'est à ce stade phénologique que les butineuses recueillent le pollen et le nectar des fleurs, tant sur la plante cultivée que sur les adventices (intoxications abeilles 1999). Les observations cliniques distinguent deux catégories qui sont des intoxications avec des effets létaux ou des intoxications avec des effets sublétaux.

**1 Des intoxications avec des effets létaux, c'est-à-dire entraînant des mortalités :**

Ces effets ont pour origine des intoxications aiguës (dose unique) ou des intoxications chroniques (doses faibles mais répétées).

- Les intoxications aiguës :

Elles sont consécutives à l'emploi d'insecticides fortement toxiques. On observe une mortalité soudaine et massive que ce soit à l'intérieur de la ruche ou en dehors, mais cette mortalité n'est observable qu'à court terme.

- Les intoxications chroniques

Elles apparaissent à la suite de l'application de produits moins nocifs que précédemment, mais souvent rémanents. La toxicité chronique se caractérise par un affaiblissement à moyen et long terme de la colonie. Les doses de produits sont alors insuffisantes pour provoquer une mort directe et c'est pourquoi, on parle communément de doses sublétales.

2 Des intoxications avec effets sublétaux

Nous pouvons remarquer que dans ce cas, il n'y a pas de mortalité mais des troubles d'ordre comportemental, physiologique ou biochimique, or ceux-ci ne sont toutefois pas négligeables car ils peuvent avoir des conséquences graves à l'échelle des colonies d'abeille. Les modifications comportementales peuvent affecter essentiellement la division des tâches, pour le noircissement des larves ou encore le nettoyage de la ruche (*Stomer et al, 1983, nation et al, 1986*) (*toxicité subchronique de l'imidaclopride*).

Un certain nombre de substances est apparu. Ces substances agissent sur le système nerveux des insectes, et à très faible dose, ils sont dits neurotoxiques.

Dans le cadre de notre expérience, nous avons choisi d'utiliser l'imidaclopride en tant que pesticide. Voyons les caractéristiques de ce produit :

L'imidaclopride est un pesticide qui est contenu dans un certain nombre de produits tels :

- **Gaicho** : en enrobage ou pelliculage des semences de betterave, son autorisation sur le tournesol est provisoirement suspendue.
- **Confidor** : en pulvérisation aérienne ne devant pas être effectuée dans les 15 jours qui précèdent la floraison des vergers.
- **Advantage** : produit vétérinaire contre les puces des chiens et des chats.

Ce type de produit se fixe de façon irréversible sur certains récepteurs précis des cellules nerveuses empêchant la transmission de l'influx nerveux. L'insecte intoxiqué meurt, après avoir présenté des symptômes tels qu'une incoordination motrice et des tremblements.

Il a été montré que l'imidaclopride est retrouvé dans le pollen des plantes traitées jusqu'à 3 ppb (partie par milliard, unité de concentration pour les très faibles valeurs). Il en ressort que l'imidaclopride présente une rémanence importante dans les sols c'est-à-dire entre six et neuf mois de demi-vie. Une norme européenne prévoit que au-delà de trois mois de demi-vie, le fabricant doit apporter la preuve de l'innocuité toxico-écologique du produit pour l'environnement (directive n°91414 CEE). (2004.*Toxicité subchronique de l'imidaclopride et de ses métabolismes chez l'abeille domestique Apis mellifera*) (<http://www.apiculture.com/abeille-de-france/articles/toxicitesubchronique.htm>)

### *b.2.2 Pathogène et abeilles :*

Nous avons décidé d'étudier un autre stress lors de notre expérience, qui est *Nosema* :

*Nosema*, est un champignon microscopique unicellulaire parasite susceptible de provoquer des infections fongiques, chez l'abeille. La nosémose est une maladie parasitaire, provoquée par l'agent *Nosema*, un protozoaire qui s'attaque au tube digestif de l'abeille, et qui peut se multiplier très rapidement. Celui-ci, détruit les cellules épithéliales de l'intestin, entraînant des troubles digestifs allant jusqu'à la mort. C'est une maladie qui peut exister sous forme aigüe, se manifester, ou rester non apparente. Ce parasite se transmet très facilement entre les abeilles grâce à sa forme de résistance qui se matérialise sous la forme d'une spore, qui se transmet lors des échanges alimentaires (trophallaxie) au sein de la colonie ou encore lors du nettoyage effectué par les abeilles. Il existe à ce jour, deux espèces de *Nosema* parasitant les abeilles: *Nosema apis* et *Nosema ceranae*. (Antoine Malandain, <http://ionesco.sciences-po.fr/scube/pesticides/rolepesttoxrem.html>)(Annexe 6)

(Marie Pierre Chauzat, *L'espèce Nosema Ceranae est présente en France dans les colonies d'abeilles*. [http://www.apiservices.com/abeille-de-france/articles/nosema\\_france.htm](http://www.apiservices.com/abeille-de-france/articles/nosema_france.htm))

## II. Expérimentations :

Lors d'études antérieures, les chercheurs ont pu observer la présence de *Nosema* dans les ruches, grâce à cette observation, ils ont pu déterminer une dose de spore sublétalement présente naturellement dans les ruches qui affaiblirait les abeilles sans pour autant provoquer la mort.

Cette mortalité étant due à une association de facteurs, nous avons voulu tester un deuxième facteur, qui est l'imidaclopride. L'imidaclopride est un pesticide qui est couramment utilisé en France ces dernières années. D'après certaines analyses, nous avons pu constater que l'imidaclopride était présent naturellement dans la ruche.

Dans un premier temps, au laboratoire nous avons voulu voir l'effet de ces deux stress sur la mortalité des abeilles, et observer les réactions physiologiques des abeilles face à ceux-ci. Ensuite j'ai étudié l'influence de ces stress sur le développement des glandes hypopharyngiennes ainsi que la production de protéines de celles-ci.

### Expérience antérieure 1 : sur la mortalité des abeilles :

#### A. Principes et objectif :

Avant de commencer notre expérience sur les glandes hypopharyngiennes, nous avons effectué une manipulation antérieure consistant à observer les mortalités des abeilles face aux traitements dont nous avons parlé précédemment.

#### B. Matériel et Méthodes :

Nous avons effectué nos prélèvements d'abeilles dans trois ruches qui seront les mêmes pour les autres expériences. Pour chaque ruche nous allons constituer plusieurs groupes qui sont les suivants :

- un lot témoin
- un lot qui sera infecté avec *Nosema*
- un lot qui sera exposé à l'imidaclopride
- Un lot qui sera infecté avec *Nosema* et exposé à l'imidaclopride

Chaque groupe sera constitué de 30 abeilles naissantes. Or pour les différents traitements nous avons testé plusieurs concentrations de pesticides. L'imidaclopride a été testé aux concentrations 0,7/7/70 µg/l. Nous avons choisi celles-ci car la concentration 7 µg/l correspond à la dose que nous avons retrouvée en milieu naturel. De ce fait, nous avons pris



cette concentration ainsi qu'une dose inférieure, 0.7 µg/l et une dose supérieure, 70 µg/l, pour observer l'évolution des mortalités suivant les concentrations. Pour ce qui est de *Nosema*, nous avons décidé de le tester à une concentration de 200 000 spores qui correspond aussi à la dose retrouvée en milieu naturel.

C. Résultats : (Annexe 7)

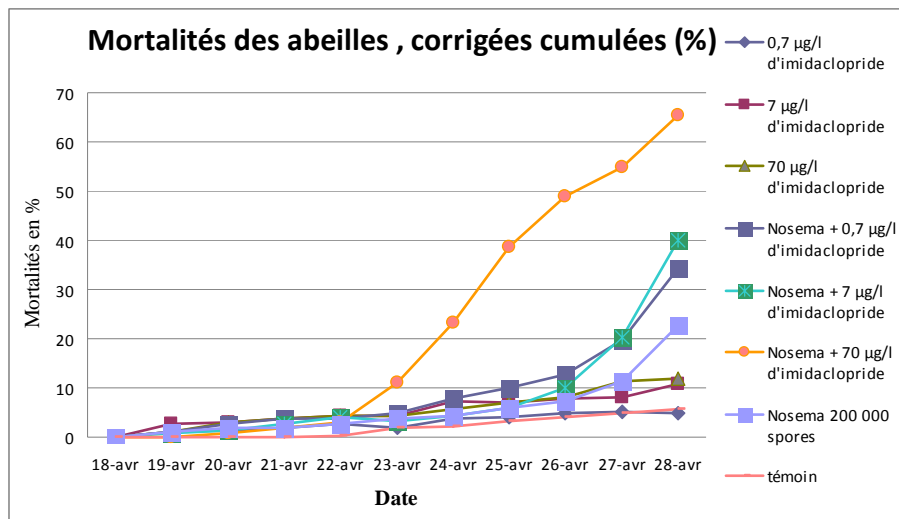


Figure 5: Mortalités corrigées cumulées des abeilles naissantes face aux différents traitements

Nous pouvons voir que la plus grande mortalité est observée au bout de 11 jours avec le traitement conjugué *Nosema* et imidaclopride à une concentration de 70µg/l. alors que lorsque nous prenons les traitements séparés imidaclopride et *Nosema*, ils n'ont pas de réelle influence sur la mortalité par rapport au témoin.

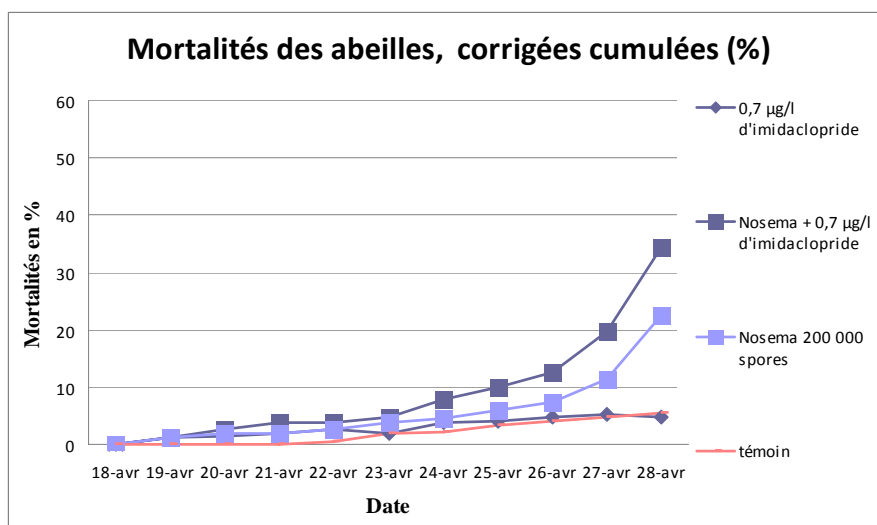


Figure 6: Mortalités corrigées cumulées pour la concentration 0.7 µg/l

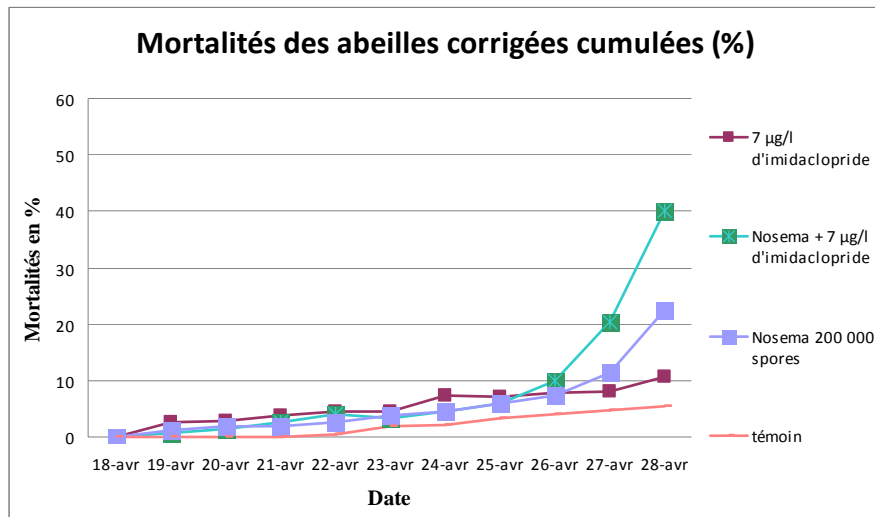


Figure 7: Mortalités corrigées cumulées à la concentration 7µg/µl

Pour les deux autres cas, nous avons pu observer que la concentration 0.7µg/l provoque une mortalité moindre que pour une concentration 7 µg/l. Or nous avons pu constater que la mortalité augmentait plus rapidement pour la concentration 7 µg/l. Donc nous avons choisi de prendre la concentration 7 µg/l pour la suite de nos expériences.

### Expérience 2. Etude sur les glandes hypopharyngiennes:

#### A. Principes et objectif :

Lors de notre première expérience, nous avons pu observer que les différents paramètres testés ont des effets sur la mortalité. Nous souhaiterions observer ce qui se passe au niveau physiologique (hémocytes, marqueurs immunité,...et des glandes hypopharyngiennes), si nous pouvons remarquer une réaction face à l'imidaclopride et au *Nosema*. Je vous présenterai les résultats des expérimentations qui m'ont été confiées sur les glandes hypopharyngiennes.

L'effet des deux stress sera étudié à deux niveaux :

- la taille des glandes
- la quantité de protéine présente dans les glandes

#### B. Matériel et Méthodes :

##### B.1 : Mise en place de la manipulation :

##### B.1.1 : Récolte des abeilles et description des traitements :

Le début de cette expérience a commencé le samedi 18 avril 2009, nous avons considéré ce jour comme J0.

Nous avons récolté et placé des abeilles naissantes (480 naissantes) dans des cagettes disposées dans un incubateur (fig.8 et 9). Ceci a été répliqué sur 3 ruches

- R97

-R47

-R128

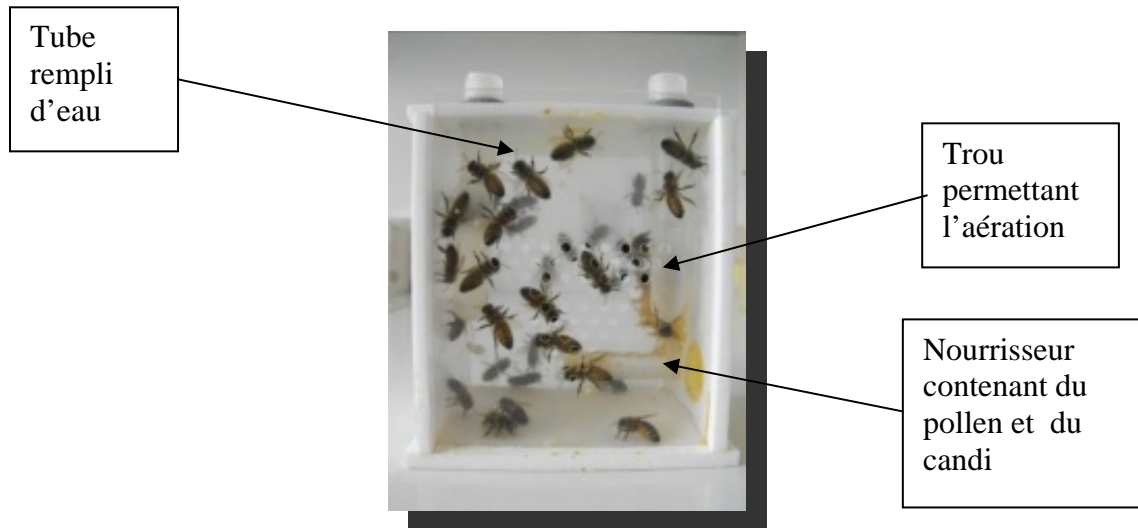


Figure 8: Photographie d'un modèle de cagette (source Claudia DUSSAUBAT)

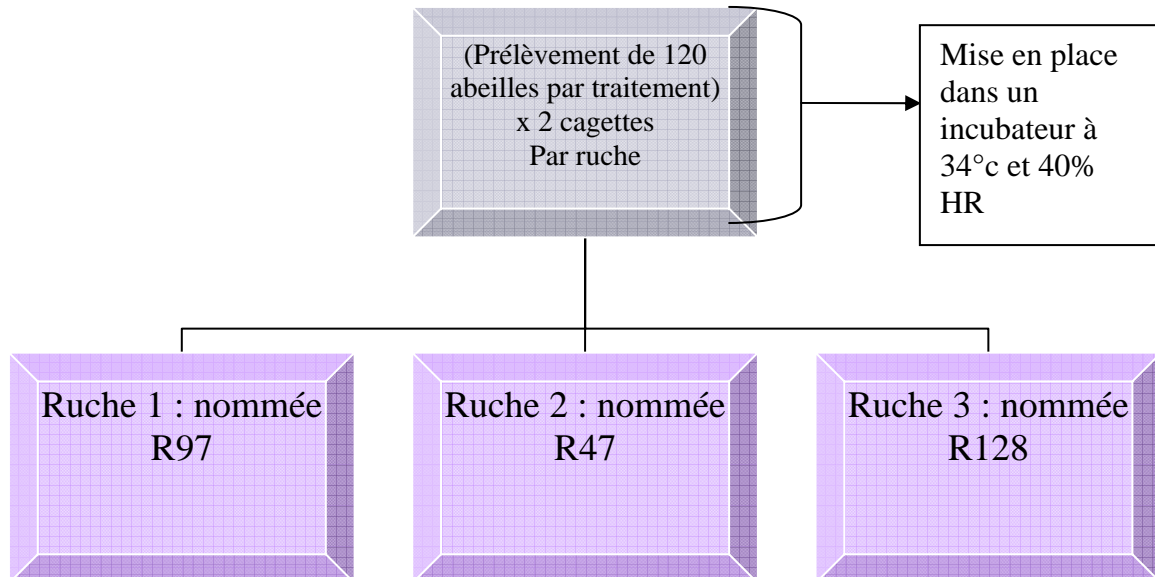


Figure 9: Schéma récapitulatif des prélèvements

Dans cette expérience nous avons observé les réactions physiologiques de l'abeille.

Donc pour chaque ruche, nous avons constitué plusieurs groupes d'abeilles qui seront les suivants :

- un lot témoin qui ne subira aucun traitement
- Un lot qui sera traité avec *Nosema* à une concentration de 200 000 spores. Nous nommerons ce groupe, N.
- Un lot qui sera traité avec le pesticide Imidaclopride, nous nommerons ce groupe.
- Un dernier lot sera à la fois traité avec *Nosema* et l'imidaclopride, nous nommerons ce groupe N+I.

Chaque ruche sera soumise à deux réplicats, pour nous permettre de faire une analyse statistique (fig.12)

### B.1.2 Administration des traitements :

#### Traitement : *Nosema*

Chaque traitement a été administré par un sirop, dans le cas de *Nosema* celui-ci contient de l'eau et du sucre, ainsi que la quantité de 200 000 spores. Cette concentration de l'infection expérimentale de *Nosema* a été déterminée au préalable comme étant une dose sub létale, affaiblissant les abeilles, celle-ci correspond à 2 µl de sirop par abeille (fig. 10). Les abeilles sont affamées pendant 2 h puis nourries individuellement avec ce sirop contenant les spores.

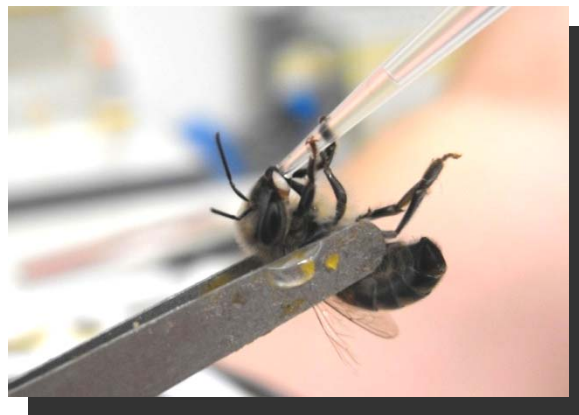


Figure 10: Photographie de l'infestation par *Nosema* (source Claudia DUSSAUBAT)

#### Traitement : Imidaclopride :

Pour l'imidaclopride le traitement a été administré pendant 10 heures aux abeilles tout le long de la durée de l'expérience, dans des tubes percés contenant généralement de l'eau.

Traitement	Dose
Imidaclopride ( $\mu\text{g/l}$ )	7
<i>Nosema</i> sp. (spores/abeille)	200 000
<i>Nosema</i> sp. + imidaclopride	200 000 + 7
Témoin	Non traité

Figure 11: tableau récapitulatif des traitements effectués (OIE, 2008, et Malone et al, 1998)(Annexe 12)  
(Expérience réalisée par le laboratoire abeilles)

L'élevage de nos abeilles a été effectué dans des étuves à 34° C avec un pourcentage d'humidité relative de 40%. Les abeilles ont été nourries lors de l'expérience avec du pollen ainsi que du Candi (sucre glace + miel) et de l'eau (fig. 12).

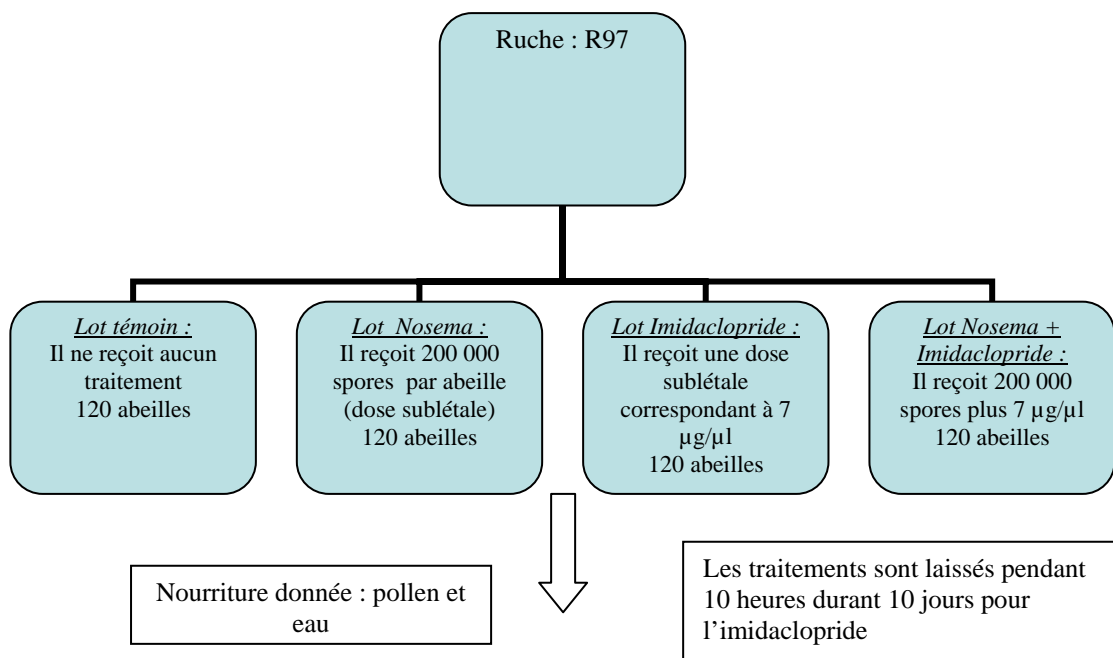


Figure 12: Schéma récapitulatif de l'expérience

### B.2 : Récolte des abeilles

Au jour J 5, mercredi soir 22 avril 2009, nous avons récupéré nos abeilles et prélevé l'hémolymphe, l'intestin, l'abdomen vide, ainsi que la tête. Par la suite les têtes ont été

congelées à  $-80^{\circ}\text{C}$  afin de réaliser notre expérience sur le dosage des protéines dans les glandes hypopharyngiennes. La récolte s'effectuera au jour 5 et au jour 10.

*Expérience 3 : Détermination de la taille des glandes hypopharyngiennes lors de la dissection et mise en place du protocole expérimental de dosage des protéines dans les glandes*

*A. Principes et objectifs :*

Lors de cette expérience, nous avons observé le développement des glandes hypopharyngiennes, ce qui nous a permis de voir les différences de taille suivant le traitement subit. La comparaison du taux de protéines des glandes hypopharyngiennes nous permettra de voir si les différents traitements ont eu une influence sur la quantité de protéines pour un lot d'abeille provenant de la même ruche.

Notre but sera d'évaluer la quantité de protéines que contiennent les glandes hypopharyngiennes et d'observer leur développement chez les abeilles ayant subi un stress, c'est-à-dire un traitement avec un pesticide ainsi qu'avec un champignon.

*B. Matériel et Méthodes :*

*B.1 Dissection des abeilles :*

Lors de chaque dissection les glandes hypopharyngiennes ont été notées suivant leur taille, suivant la classification suivante :

- La note 1 est attribuée lorsque les glandes sont rétrécies.
- La note 2 est attribuée lorsque les glandes sont faiblement développées.
- La note 3 est attribuée lorsque les glandes ont une taille normale
- La note 4 est attribuée lorsque les glandes sont assez développées.
- La note 5 est attribuée lorsque les glandes sont très développées.



Figure 13: Photographie de deux glandes

De ce fait, nous pourrions voir si nous observons une différence entre les abeilles ayant subi les traitements déterminés au préalable au niveau de la taille des glandes et la quantité de protéines.

Puis dans un deuxième temps nous pourrions observer s'il est possible d'établir une corrélation entre la taille des glandes hypopharyngiennes et la quantité de protéines présentes dans celles-ci.

La quantité de protéine présente dans les glandes hypopharyngiennes n'est pas très élevée et par facilité d'analyse des résultats, nous avons décidé de réunir les deux glandes d'une même abeille pour le dosage. Nous débutons cette expérience par la dissection des glandes hypopharyngiennes. Nous travaillons sous loupe binoculaire, nous positionnons la tête à l'envers puis fixons celle-ci avec une épingle pour éviter qu'elle ne bouge. Par la suite nous effectuons une incision sur le côté, tout en faisant attention de ne pas crever l'œil. Puis nous cherchons la glande hypopharyngienne, il faut faire attention car la glande est enroulée autour d'autres éléments, il faut la tirer délicatement, car nous voulons que la glande soit entièrement retirée.

Il est à noter que deux personnes ont disséqué, chacune un réplicat.

Lorsque la dissection des glandes est terminée, nous les introduisons dans un tube eppendorf avec 100 µl de tampon phosphate salin plus couramment nommé tampon PBS. Ce milieu est une solution tampon couramment utilisée. Il s'agit d'un soluté physiologique contenant du chlorure de sodium, de phosphate trisodique, et du phosphate de potassium,

## *B.2 Protocole pour le dosage des protéines :*

### *B.2.1. Dosage des protéines par la méthode de Bradford.* (Annexe 8)

#### *Matériel :*

- Spectrophotomètre de microplaque (Bio Tek, Synergy HT)
- Microplaque de 96 puits
- Centrifugeuse 5412 R eppendorf

*Principe de la méthode de Bradford :* c'est un dosage colorimétrique basé sur le changement de longueur d'onde (la lecture se fait à 595 nm), se manifestant par le changement de la couleur du bleu de Coomassie après liaison (complexation) avec l'arginine et les résidus hydrophobes des acides aminés présents dans la ou les protéines.

#### A. Préparation des glandes et de la gamme étalon :

Les glandes contenues dans la solution tampon de PBS vont être broyées par ultrason, pendant un laps de temps court car la solution ne doit pas chauffer.

Par la suite, nous effectuerons une centrifugation à 5 000 tours par minute pendant 5 minutes, et nous préparerons notre microplaque en commençant par effectuer la gamme étalon avec notre solution de BSA (Bovin Serum Albumin).

Pour notre gamme étalon, nous partons d'une solution de base ayant une concentration de 1 mg par ml puis nous effectuons des dilutions en cascade pour obtenir des concentrations allant de 0.5 à 8  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ . Une fois la gamme effectuée à partir de cette solution de base, celle-ci nous servira de référence pour déterminer la concentration en protéines de nos échantillons.

#### B. Préparation de notre microplaque : (fig.14)

Nous effectuons toujours deux gammes étalons, pour comparer nos échantillons à la meilleure gamme suivant sa droite d'équation ainsi que son coefficient de corrélation.

D'après une de nos expériences préliminaires, nous avons pu observer que nous n'avons eu des résultats exploitables que pour les dilutions au 1/2 et 1/5 de solution de notre échantillon.

Donc pour chaque dosage nous effectuons ces deux dilutions :

C'est-à-dire pour les dilutions au un demi (1/2):

Le spectrophotomètre est réglé pour un volume total de 160  $\mu\text{l}$  par puits, donc par puits nous allons mettre 50  $\mu\text{l}$  de notre échantillon, 110  $\mu\text{l}$  d'eau et 40  $\mu\text{l}$  de réactif BIORAD.

Pour la dilution au un cinquième (1/5) :

Par puits nous rajoutons 140  $\mu\text{l}$  d'eau, puis 20  $\mu\text{l}$  de la solution de notre échantillon, et pour finir 40  $\mu\text{l}$  de réactif BIORAD. Nous avons choisi d'effectuer sur une même plaque tout les traitements pour une même ruche ainsi que pour le même réplicat. De ce fait, tous les traitements de la même ruche seront comparés à une gamme étalon identique.



Voici l'exemple d'une microplaque :

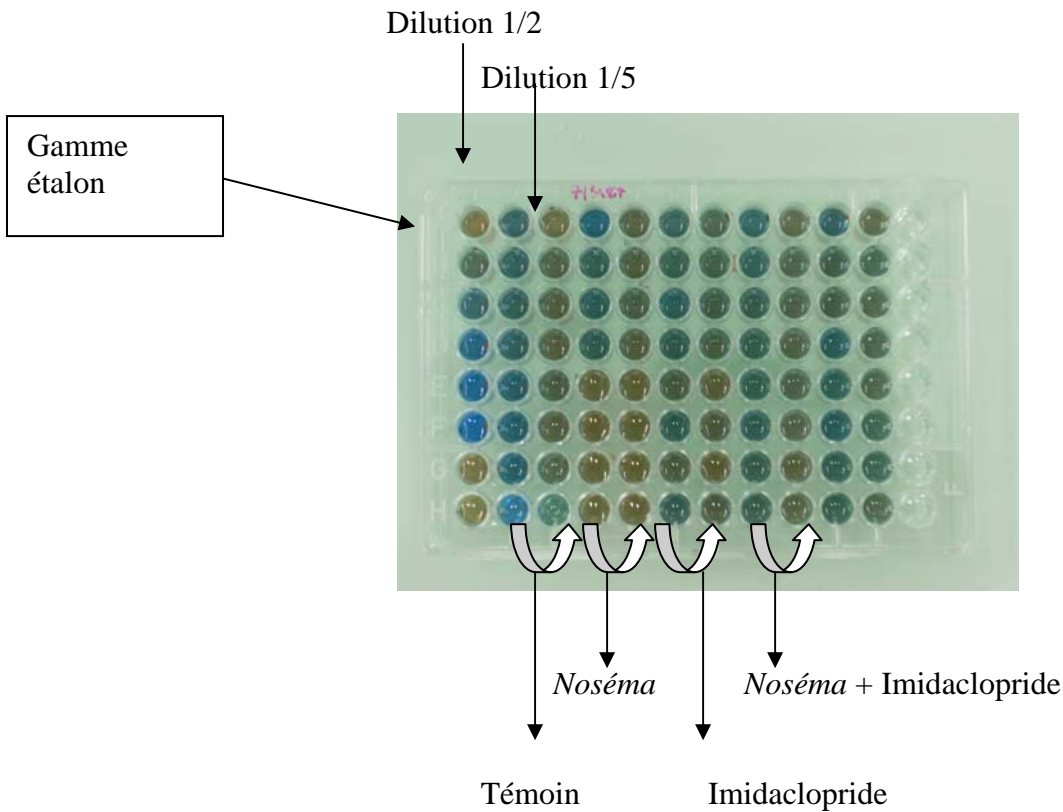


Figure 14: Photographie d'une microplaque pour les dosages

C. Résultats :

C.1. Dissection :

Lors de chaque dissection, nous donnons une note permettant d'évaluer la taille de la glande hypopharyngienne. Voici un tableau des résultats que nous allons obtenir (les notes de dissection ont été retranscrites en valeur numérique donc dans les résultats celles-ci vont de 0.5 à 5).

Ruche + réplicat	Traitement	Note de la dissection	Ruche + réplicat	Traitement	Note de la dissection
R97.1 J5	C1	3		I1	2
	C2	2		I2	3
	C3	3		I3	4
	C4	1		I4	3
	C5	0.5		I5	3
	C6	4		I6	2.5
	C7	3		I7	2
	C8	3		I8	0.5
	N1	1		NI1	2
	N2	3		NI2	1
	N3	2		NI3	0.5
	N4	1		NI4	1
	N5	1		NI5	0.5
	N6	1		NI6	1.5
	N7	1		NI7	1
	N8	0.5		NI8	0.5

Légende : C = Contrôle , I = Imidaclopride

N = Nosema, NI = Nosema + Imidaclopride

Figure 15: Exemple d'un tableau de résultats pour la dissection

### C.1.1 Résultats de la dissection pour le jour 5 : (Annexe 9)

#### Pour la ruche 97 :

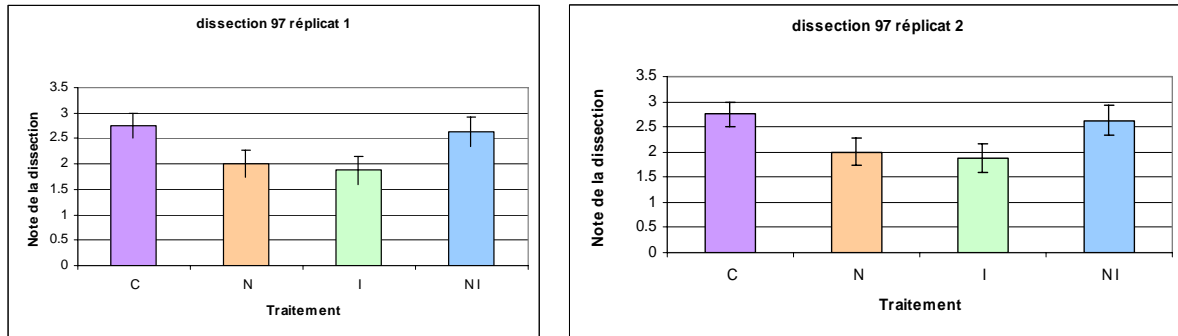


Figure 16: effet des traitements sur la taille des glandes hypopharyngiennes des ouvrières de la ruche 97 à J 5

#### Pour la ruche 47 :

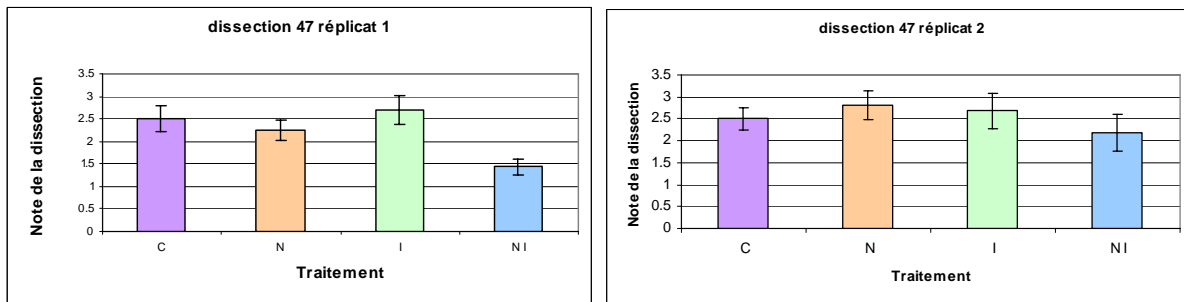


Figure 17: effet des traitements sur la taille des glandes hypopharyngiennes des ouvrières de la ruche 47 à J 5

#### Pour la ruche 128 :

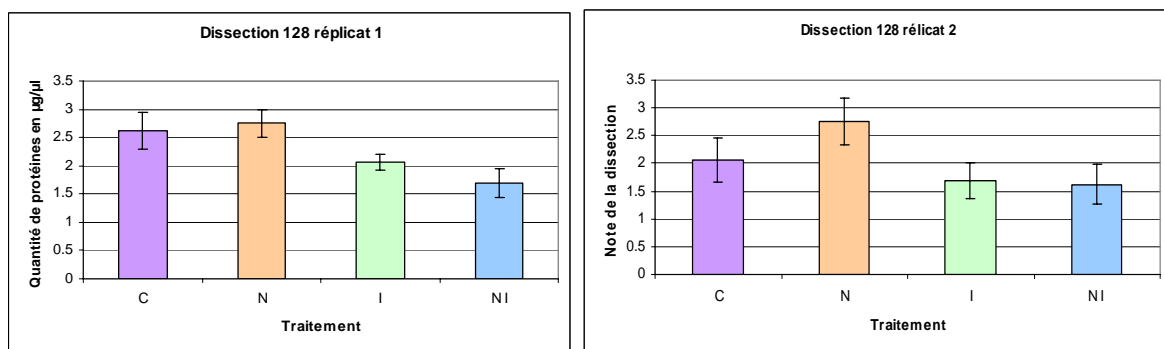


Figure 18: effet des traitements sur la taille des glandes hypopharyngiennes des ouvrières de la ruche 128 à J 5

### C.1.2 Conclusion des résultats au jour 5 :

Nos résultats sur la ruche 97, ne sont pas exploitables car la ruche a été infectée par le varroa, d'où nos résultats qui ne sont pas concordants. Pour les autres ruches, nous pouvons voir que le traitement *Nosema* influe sur la taille des glandes, or le traitement *Nosema* + imidaclopride a un effet plus important sur les glandes car les glandes sont beaucoup plus atrophiées par rapport au traitement *Nosema* ou Imidaclopride seul.

### C.1.3 Résultats de la dissection pour le jour 10 : (Annexe 10)

#### Pour la ruche 97 :

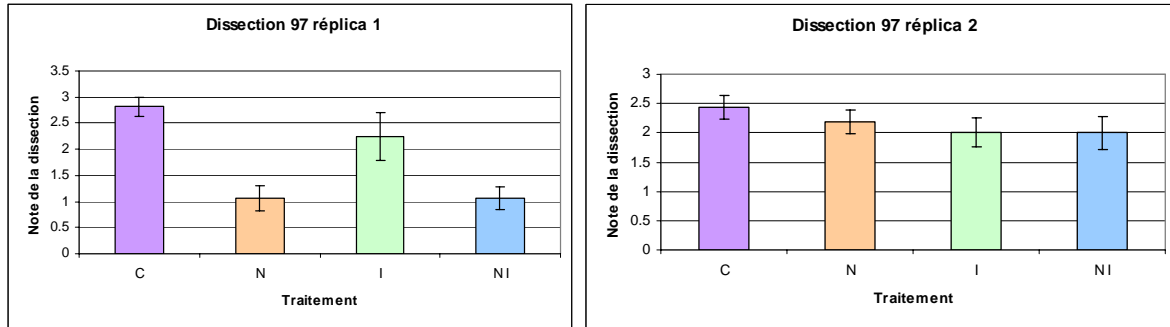


Figure 19: effet des traitements sur la taille des glandes hypopharyngiennes des ouvrières de la ruche 97 à J 10

#### Pour la ruche 47 :

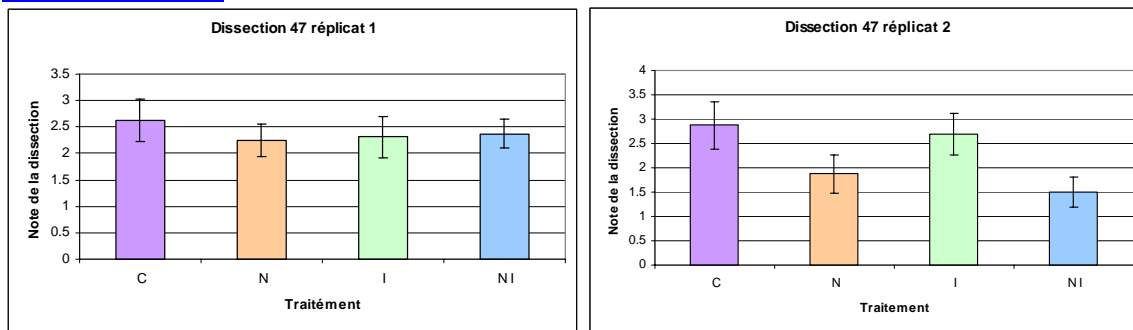


Figure 20: effet des traitements sur la taille des glandes hypopharyngiennes des ouvrières de la ruche 97 à J 10

#### Pour la ruche 128 :

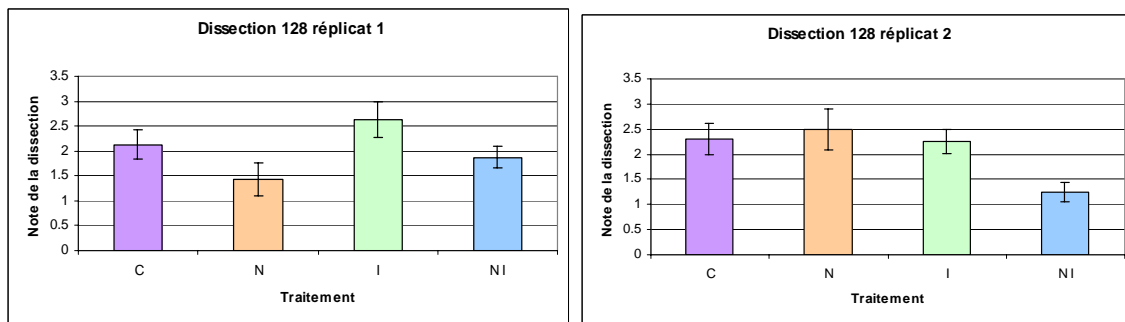


Figure 21: effet des traitements sur la taille des glandes hypopharyngiennes des ouvrières de la ruche 128 à J 10

### C.1.4 : Conclusion pour la dissection au jour 10 :

De même que pour le jour 5, les données pour la ruche 97 ne sont pas exploitables. Pour les autres ruches nous constatons que les effets sont identiques à ceux du jour 5 hormis la taille moyenne des glandes qui se réduit de 2.14 à 1.58 pour le jour 10. En conclusion, plus nous laissons la colonie exposée aux agents pathogènes plus la taille des glandes diminue.

### C.1.5 Analyse statistique :(Annexe 11)

Pour notre analyse statistique nous nous sommes servis d'un logiciel statistique qui se nomme Sigma stat Nous avons effectué une ANOVA tenant en compte les facteurs ruches, traitements et âges.

#### **Index de dissection**

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
ruche	2	2.457	1.229	1.552	0.213
traitement	3	22.343	7.448	9.407	<0.001
Age	1	3.267	3.267	4.126	0.043
Residual	360	285.021	0.792		
Total	383	349.958	0.914		

#### **Comparisons for factor: traitement**

Comparison	Diff of Means	p	q	P
C vs. NI	0.714	4	7.454	<0.001
C vs. N	0.302	4	3.156	0.115
C vs. I	0.286	4	2.992	0.148
I vs. NI	0.427	4	4.462	0.009
I vs. N	0.0156	4	0.163	0.999
N vs. NI	0.411	4	4.298	0.013

Le plus important à voir lors de cette étude statistique est qu'il y a un effet du traitement par rapport au traitement *Nosema* + Imidaclopride. Nous pouvons voir aussi qu'il y a un effet de l'âge sur le traitement, ce qui montre bien que l'âge entraîne une diminution des glandes suivant le traitement subi.

### C.2 Dosage des protéines :

#### Exemple de calcul pour le dosage des protéines :

Une fois notre dosage effectué, le lecteur nous fournit la courbe de la gamme étalon ainsi qu'un tableau rassemblant l'absorbance de chaque puits.

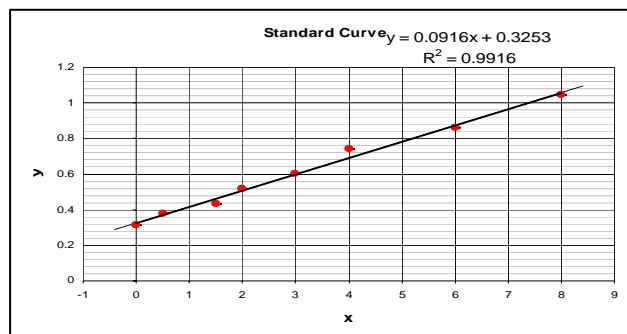


Figure 22: Graphique de la courbe étalon

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
A	0.321	0.316	0.448	0.392	0.494	0.44	0.942	0.613	0.699	0.557
B	0.366	0.376	0.675	0.496	1.318	1.157	0.989	0.995	0.681	0.612
C	0.428	0.434	0.62	0.5	0.775	0.65	1.381	0.998	0.582	0.473
D	0.481	0.516	1.239	0.82	0.878	0.702	0.77	0.622	0.752	0.619
E	0.554	0.602	0.627	0.499	0.708	0.693	0.674	0.532	0.602	0.456
F	0.638	0.741	0.575	0.45	1.321	1.149	0.984	0.761	0.421	0.372
G	0.779	0.859	0.86	0.614	0.521	0.493	0.559	0.434	0.924	0.597
H	0.983	1.047	0.937	0.774	1.05	0.81	0.646	0.941	0.558	0.417

Figure 23: Exemple d'un tableau d'absorbance des échantillons

A partir de la courbe étalon nous obtenons l'équation de la droite qui dans ce cas est  $y = 0.0916 X + 0.3253$ . Donc  $A = 0.0916 \times C + 0.3253$ , en sachant que A correspond à l'absorbance et que C correspond à la concentration en protéines. D'où la concentration est équivalente au calcul suivant :

$$C = (A - 0.3253) / 0.0916$$

Dans chaque cas il ne faut pas oublier de multiplier par la dilution correspondante, et nous obtenons ainsi la concentration en protéines des deux glandes en  $\mu\text{g}$  par  $\mu\text{l}$ .

### C.2.1 Résultats du dosage des protéines au jour 5 : (Annexe 9)

#### Pour la ruche 97 :

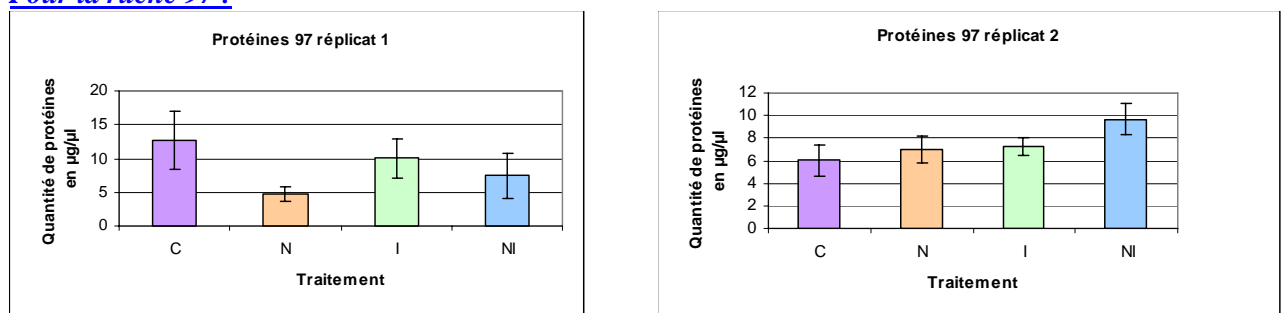


Figure 24: effet des traitements sur la quantité de protéines des glandes hypopharyngiennes des ouvrières de la ruche 97 à J 5

#### Pour la ruche 47 :

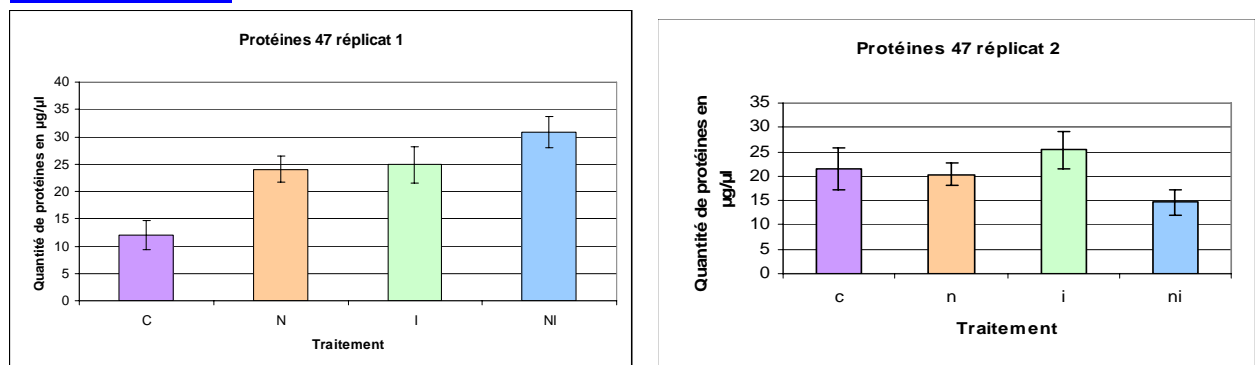


Figure 25: effet des traitements sur la quantité de protéines des glandes hypopharyngiennes des ouvrières de la ruche 47 à J 5

### Pour la ruche 128 :

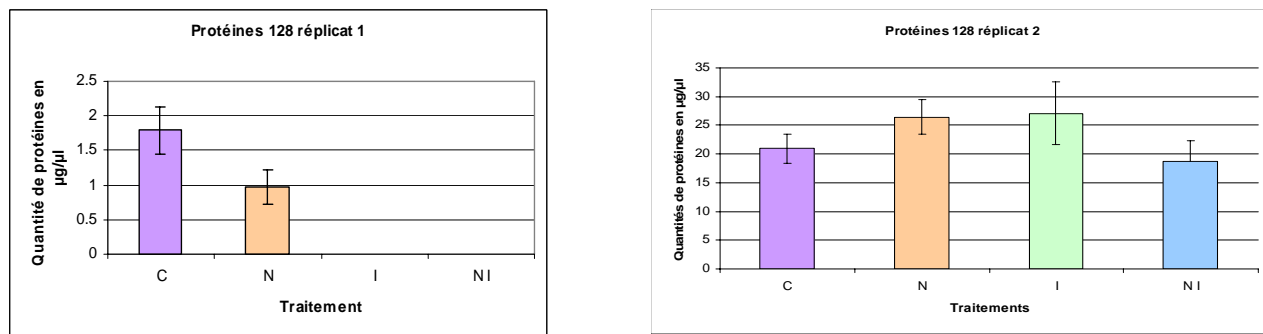


Figure 26: effet des traitements sur la quantité de protéines des glandes hypopharyngiennes des ouvrières de la ruche 128 à J 5

### C.2.2 Conclusion sur les résultats du dosage des protéines au jour 5 :

Nous pouvons constater que nos résultats ne sont pas concordants car en effet, lorsque nous regardons ruche par ruche les deux réplicats ils ne donnent pas les mêmes résultats, et quelquefois ceux-ci ne sont pas dans le même ordre de grandeur au niveau de la quantité de protéines. La ruche 97 a été infectée par le varroa, et le dosage de la ruche 128 a connu un problème en raison d'une coupure de courant.

### C.2.3 Résultats du dosage des protéines au jour 10 : (Annexe 10)

### Pour la ruche 97 :

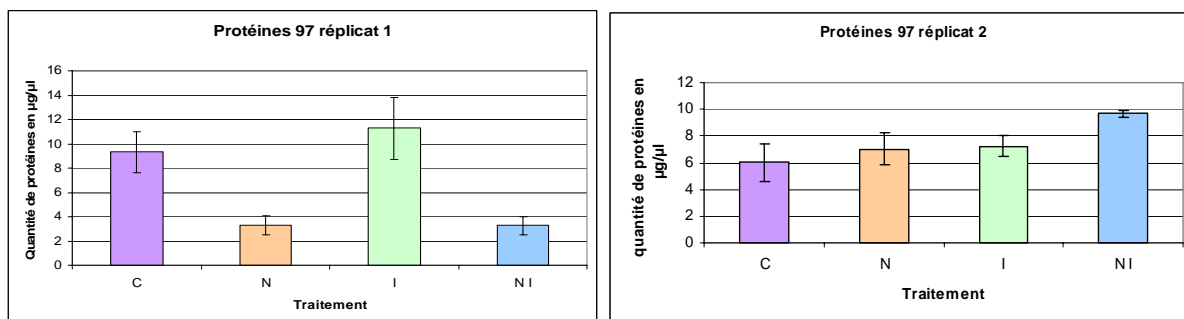


Figure 27: effet des traitements sur la quantité de protéines des glandes hypopharyngiennes des ouvrières de la ruche 97 à J 10

### Pour la ruche 47 :

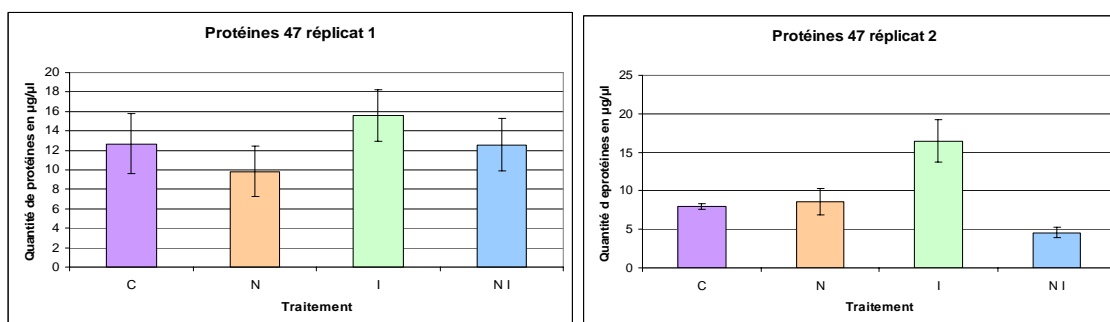


Figure 28: effet des traitements sur la quantité de protéines des glandes hypopharyngiennes des ouvrières de la ruche 47 à J 10

Pour la ruche 128 :

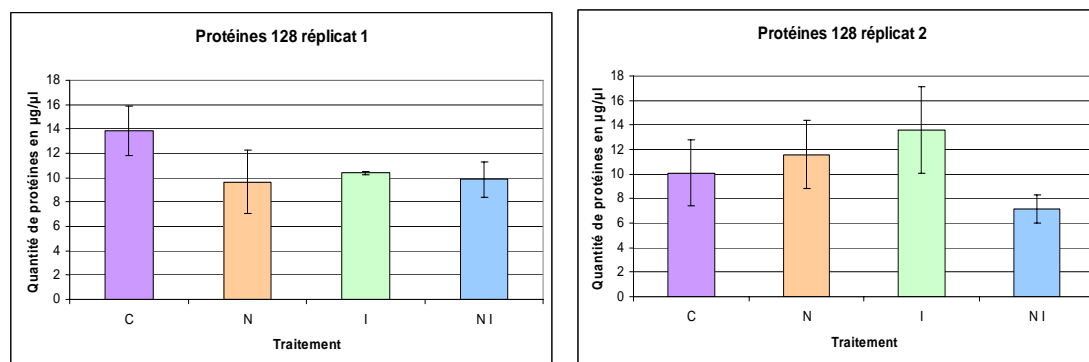


Figure 29: effet des traitements sur la quantité de protéines des glandes hypopharyngiennes des ouvrières de la ruche 128 à J 10

C.2.4 : Conclusion sur les résultats du dosage des protéines au jour 10 :

Au niveau du jour 10, nous constatons le même problème qu’au jour 5 au niveau de la ruche 97, or nous ne pouvons pas prendre réellement en compte dans nos résultats les dosages des trois ruches concernant le réplikat deux car ils ont été inutilisables à cause d’un problème technique.

C.2.5 : Analyse Statistique : (Annexe 11)

L’analyse statistique a révélé que les résultats pour le dosage des protéines permettaient d’observer un effet lié à la ruche, à l’âge ainsi qu’au traitement effectué sur celle-ci.

**Proteins**

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
ruche	2	7650.288	3825.144	30.174	<0.001
traitement	3	2221.477	740.492	5.841	<0.001
Age	1	555.751	555.751	4.384	0.037
Residual	344	43609.222	126.771		
Total	367	57349.611	156.266		

**Comparisons for factor: ruche**

Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0.050
128.000 vs. 97.000	10.881	3	9.324	<0.001	Yes
128.000 vs. 47.000	1.968	3	1.740	0.435	No
47.000 vs. 97.000	8.913	3	9.354	<0.001	Yes

**Comparisons for factor: traitement**

Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0.050
I vs. NI	7.222	4	5.560	<0.001	Yes
I vs. C	5.523	4	4.398	0.010	Yes
I vs. N	5.296	4	4.217	0.015	Yes
N vs. NI	1.925	4	1.533	0.699	No
N vs. C	0.227	4	0.187	0.999	Do Not Test
C vs. NI	1.699	4	1.3520.774	Do Not Test	

### III Conclusion :

#### A. Conclusion générale :

Nous avons pu constater que les abeilles avaient des réactions physiologiques différentes en réponse à une exposition à des pesticides ou à des champignons. L'imidaclopride en combinaison avec *Nosema*, peut entraîner la mort d'une grande quantité d'abeille à forte dose. Grâce à notre première expérimentation nous avons pu caractériser des effets synergétiques avec *Nosema* et l'imidaclopride sur la mortalité des abeilles.

Quant à notre expérience sur les glandes hypopharyngiennes nous avons pu voir que les glandes hypopharyngiennes sont beaucoup plus atrophiées lorsque les abeilles sont exposées au traitement du *Nosema* et de l'imidaclopride associé.

Pour les quantités de protéines : nous avons pu rencontrer quelques problèmes au niveau du dosage. Donc nous aurions souhaité démontrer que lorsque les abeilles sont exposées à ce traitement les glandes hypopharyngiennes par leur atrophie produisent moins de protéines.

Or, nous n'avons pu démontrer cette théorie en raison de :

- Deux personnes ont disséqué de manière différente (ce qui a pu influencer sur la quantité de la glande retirée).
- Un problème de congélation des échantillons du réplicat n°2
- soit la méthode de dosage n'est pas adaptée à cette manipulation.

Eureka : Nous avons pu déterminer que ces deux facteurs avaient donc un effet synergique sur la mortalité des abeilles, mais que ces facteurs avaient une influence sur la taille des glandes hypopharyngiennes.

Malheureusement nous ne pouvons conclure sur les protéines, mais nous avons pu montrer les effets de ces facteurs.

#### B. Conclusion personnelle :

Au terme de dix semaines de stage, il est temps pour moi de faire un point sur cette expérience enrichissante, d'un point de vue personnel, humain et professionnel.

J'ai effectué ce stage sur les stress physiologiques de l'abeille face à des pesticides ou d'autres agents pathogènes et ainsi participé à essayer d'expliquer le déclin actuels des populations d'abeilles.

J'ai pu être confrontée au travail de laboratoire, et à travailler en équipe, avec des personnes étrangères qui m'ont fait découvrir leurs travaux, leurs recherches mais aussi leur culture.



J'ai aussi participé à d'autres projets comme la démandibulation des reines, et l'observation du phénomène de cours...

Au niveau scientifique, j'ai complété et approfondi mes connaissances sur les stress physiologiques chez l'abeille. Ce stage m'a été bénéfique, il m'a montré qu'il ne faut pas s'arrêter simplement aux résultats significatifs ou non, mais essayer de comprendre et de s'ouvrir à d'autres possibilités.

Ce stage m'a permis d'avoir une première approche du monde du travail. Il constitue un lien majeur qui réunit l'IUT et l'entreprise et permet de faire la transition entre le théorique et la pratique. Je tire une expérience positive de ce stage tant sur le plan professionnel que sur le plan personnel.

Je tiens à remercier de nouveau toutes les personnes qui m'ont permis de réaliser ce stage mais surtout de m'avoir fait découvrir ce monde autour de l'abeille.

## Glossaire

### Glande hypopharyngienne :

La glande hypopharyngienne se présente en une structure pairée, dont chaque élément est formé d'un long canal fuselé principal, sur lequel s'ouvre un groupe d'alvéoles (env. 550) des cellules glandulaires (Cruz-Landim et Hadek, 1969), en forme de lobe, appelé acine. Chaque acine comprend environ 8 à 12 cellules sécrétrices, qui apparaissent dès le 3<sup>e</sup> jour, sont adjacentes, jointes au niveau de leur membrane basale par des desmosomes et sont connectées individuellement au canal principal par un canal cellulaire. Chaque canal glandulaire principal débouche sur la plaque suborale de l'hypopharynx, d'où les sécrétions sont immédiatement délivrées à la bouche.

### Méthode de Bradford :

La méthode de Bradford est un dosage colorimétrique, basé sur le changement d'absorbance (la mesure se fait à 595 nm), se manifestant par le changement de couleur du bleu de Coomassie après la liaison (complexation) avec les acides aminés aromatiques (tryptophane, tyrosine et phénylalanine) et les résidus hydrophobes des acides aminés présent dans la ou les protéines.

### Polyéthisme :

Il existe deux types de polyéthisme :

- le polyéthisme de castes
- le polyéthisme d'âge

Il est présent chez les insectes sociaux comme les fourmis, les abeilles... Il détermine l'activité de l'individu selon son âge ou de sa morphologie. Par exemple au cours de sa vie, l'abeille aura différente tâche à accomplir.

### Imidaclopride :

L'imidaclopride est une substance active de produit phytosanitaire (ou produit phytopharmaceutique, ou pesticide), qui présente un effet insecticide, et qui appartient à la famille chimique des chloronicotiniles. Son nom IUPAC est la (EZ)-1-(6-chloro-3-pyridylméthyl)-N-nitroimidazolidin-2-ylidèneamine.

### Nosema :

Nosema est un champignon microscopique unicellulaire parasite susceptible de provoquer des infections fongiques (dites nosémose) chez certaines espèces d'insectes, dont l'abeille. Il fait partis de la classe des microsporidies, c'est un eucaryote, parasites intracellulaires obligatoires.

## Bibliographie :

### Publication :

CASSIER P, LENSKY Y, 1992. Structure et rôle social de quelques glandes exocrines à sécrétion phéromonales chez l'abeille domestique *Apis Mellifera* L.. pas de source.

MOHAMMEDI, A., CRAUSER, D., PARIS, A.,and LE CONTE, Y . 1996. Effect of a brood pheromone on honeybee hypopharyngeal glands.C.R.Acad. Sci.Paris,Sci. Vie/Life Sci. 319 :769Y772

MOHAMMEDI, A., CRAUSER, D., PARIS, A.,and LE CONTE, Y . 1998. Effect of aliphatic Esters on ovary developpement of queenless bees ( *Apis mellifera*). Behavior ecology ans Sociobiology 44(3):193Y198

Stomer et al, 1983, nation et al ,1986) toxicité subchronique de l'imidaclopride

DESEYN J., BILLEN J., 2005, Age dependent morphology an dultrastructure of the hypopharyngeal gland

### Livre:

LE CONTE Y., 2002. Le Traité Rustica de l'Apiculture. Edition Rustica, Paris.

Winston M. L., 1987. The Biology of the Honey Bee. Harvard University Press

### Site Internet:

Antoine Malandain, association groupe étudiant,<http://ionesco.sciences-po.fr/scube/pesticides/rolepesttoxrem.html>.

*Le rôle des pesticides dans la surmortalité des abeilles*

Marie-Pierre Chauzat.*L'espèce Nosema Ceranae est présente en France dans les colonies d'abeilles.* [http://www.apiservices.com/abeille-de-france/articles/nosema\\_france.htm](http://www.apiservices.com/abeille-de-france/articles/nosema_france.htm)

Séverine Suchail, Luc P. Belzunces et Bernard E.2004.*Toxicité subchronique de l'imidaclopride et de ses métabolismes chez l 'abeille domestique Apis mellifera.* Vaissière<http://www.apiculture.com/abeille-de-france/articles/toxicitesubchronique.htm>

Microsoft 2009, illustration d'une spore de *Nosema* : <http://fr.ca.encarta.msn.com>.

<http://www.encyclopedie-universelle.com/abeille1/abeille-anatomie-glandes.html> : pas de source

# *ANNEXES*

## Sommaire des annexes:

<u>Annexe 1</u> : Unité Ecologie des Invertébrés	p 37
<u>Annexe 2</u> : Laboratoire Biologie et Protection de l'abeille	p 38
<u>Annexe 3</u> : Quelques renseignements sur l'abeille	p 39
<u>Annexe 4</u> : Les trois castes de <i>Apis mellifera</i> et l'anatomie de l'ouvrière	p 40
<u>Annexe 5</u> : Photographie d'une ouvrière	p 41
<u>Annexe 6</u> : Photographie d'une spore mature de <i>Nosema</i>	p 42
<u>Annexe 7</u> : Tableau des résultats sur l'expérience de la mortalité	p 43
<u>Annexe 8</u> : Protocole du dosage des protéines par la méthode de Bradford	p 46
<u>Annexe 9</u> : Résultats des manipulations sur les glandes hypopharyngiennes au jour 5	p 50
<u>Annexe 10</u> : Résultats des manipulations sur les glandes hypopharyngiennes au jour 10	p 57
<u>Annexe 11</u> : Analyse statistique	p 64
<u>Annexe 12</u> : Protocole OIE de quantification des niveaux d'infections par <i>Nosema</i> sp.	P 66

## Ecologie des Invertébrés

Unité Mixte de Recherches INRA - Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse  
(UMR 406 INRA/UAPV)



Domaine St-Paul, Site Agroparc  
84914 Avignon cedex 9

Directeur : Luc P. Belzunces  
Secrétaires : C. Chêne, P. Guillot  
Documentaliste : C. Pélissier  
Tél : 33 (0) 4 32 72 26 10  
Fax : 33 (0) 4 32 72 26 02  
<http://www.avignon.inra.fr>



L'UMR 406 INRA-UAPV *Ecologie des Invertébrés* est une Unité Mixte de Recherche associant l'INRA et l'Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse (UAPV). A ce titre, elle s'implique dans les enseignements universitaires et forme une équipe d'accueil de l'Ecole Doctorale Sciences et Agronomie d'Avignon. Elle fonctionne avec une quarantaine d'agents et comprend quatre laboratoires : Protection Intégrée en Arboriculture Fruitière, Pollinisation Entomophile, Biologie et Protection de l'Abeille et Toxicologie Environnementale.

L'UMR étudie les invertébrés terrestres dans un contexte d'agriculture durable en considérant non seulement leur biologie mais aussi le devenir des individus, des populations et des communautés en zones de culture et, d'une manière plus large, dans l'environnement. Le véritable défi à relever est la compréhension de la biologie des espèces dans un contexte environnemental global et complexe pour laquelle il est nécessaire d'obtenir des connaissances fondamentales à l'échelle supra-individuelle. L'UMR possède le potentiel scientifique nécessaire pour conduire des recherches à des niveaux d'organisation qui s'étendent de la molécule aux communautés en passant par la cellule, l'organe, l'individu et la population.

### Pollinisation entomophile

- Etude des flux polliniques efficaces. Mécanismes de transferts du pollen entre plantes et insectes, et incidence du vecteur sur la viabilité, la longévité et la dispersion du pollen et les processus de fécondation;
- Biodiversité des pollinisateurs et étude de leur efficacité pollinisatrice en relation avec leur activité et comportements de butinage. Ecologie du butinage et incidence de la conduite des colonies d'insectes sociaux sur leur activité pollinisatrice;
- Impact des caractéristiques de la pollinisation sur les rendements et la qualité des productions végétales;
- Analyse des pratiques de la pollinisation entomophile et élaboration de voies d'amélioration.

### Protection Intégrée en arboriculture fruitière

Mise au point de méthodes de protection du verger, dont la durabilité est recherchée par l'intégration dans le système de production et la prise en compte de la variabilité des bioagresseurs :

- caractérisation des mécanismes physiologiques de la résistance de divers *Prunus* au puceron vert du pêcher; étude des facteurs génétiques de la résistance, de leur degré de complémentarité et de la variabilité de réponse des pucerons pour la construction d'une résistance stable;
- étude de l'influence des facteurs génétiques et environnementaux sur l'expression de la résistance aux insecticides chez le carpocapse des pommes et le psylle du poirier; élaboration des stratégies associant la gestion de ces résistances et la régulation des populations;
- aménagement raisonné de l'environnement du verger pour en renforcer la diversité végétale et animale, dont on évalue l'impact sur la stabilité des agrosystèmes.

### Biologie et protection de l'abeille

- Etude des mécanismes d'écologie chimique impliqués dans le comportement, la physiologie et la régulation de la structure sociale des colonies d'abeilles; communications phéromonales chez *Apis mellifera*.
- Etude des interactions entre les individus d'âge, de castes et de races différents et de leur impact sur le rythme du développement comportemental des jeunes ouvrières;
- Etude des relations *Apis mellifera-Varrua destructor* : tolérance de l'abeille, action pathogène du parasite, dynamique des populations; interactions avec les autres pathogènes des abeilles.

### Toxicologie environnementale

Impacts des produits phytopharmaceutiques et, d'une manière générale, des polluants chez les invertébrés terrestres. Les recherches sont développées à deux niveaux :

- action des faibles doses de toxiques chez les invertébrés terrestres et plus particulièrement chez deux bio-indicateurs d'importance agro-environnementale, l'abeille domestique et le ver de terre;
- étude des modes d'action des toxiques conduisant à des effets soit différentiels soit délétères à doses sublétales.

### Savoir-faire

Electropénétrographie, imagerie 3D, Colonne Gamma (trajectométrie), biotests sur matériel végétal, analyse enzymatique, biologie moléculaire, chromatographie en phase gazeuse, chambre de vol, screening d'insecticides, cytologie, microscopie en fluorescence, quantification des flux polliniques (méthode Cour; compteur Coulter), histologie, essais en cages pollenproof, vidéo surveillance numérique du butinage.

## Biologie et Protection de l'Abeille



Etude de la régulation du comportement de l'abeille domestique , dosage des hormones dans l'hémolymphe des ouvrières, larve d'*Apis mellifera* parasitée par l'acarien *Varroa destructor* (© Photos Y. Le Conte)

### Objectifs:

- Etude des mécanismes d'écologie chimique impliqués dans le comportement, la physiologie et la régulation de la structure sociale des colonies d'abeilles;
- étude des interactions entre les individus d'âge, de castes et de races différents et de leur impact sur le rythme du développement comportemental des jeunes ouvrières;
- étude des relations *Apis mellifera*-*Varroa destructor* : tolérance de l'abeille, action pathogène du parasite, dynamique des populations;
- épidémiologie des maladies des abeilles.

La caractérisation des mécanismes de régulation sociale des colonies d'abeilles *Apis mellifera* de même que l'étude de leur évolution et de leurs perturbations constituent un domaine fascinant qui retient tout l'intérêt de notre équipe.

Notre activité de recherche, au niveau fondamental, se situe plus spécialement dans le contexte de l'écologie chimique. Les relations entre les individus dans la colonie, entre les abeilles et le parasite *Varroa destructor*, ainsi que la régulation comportementale et physiologique de ces insectes sont analysées dans cette optique.

Animateur  
Technicien

Yves Le Conte  
Jean-Marc Bécard, Didier Crauser

### ANNEXE 3 Quelques renseignements pertinents sur les abeilles (Source Internet)

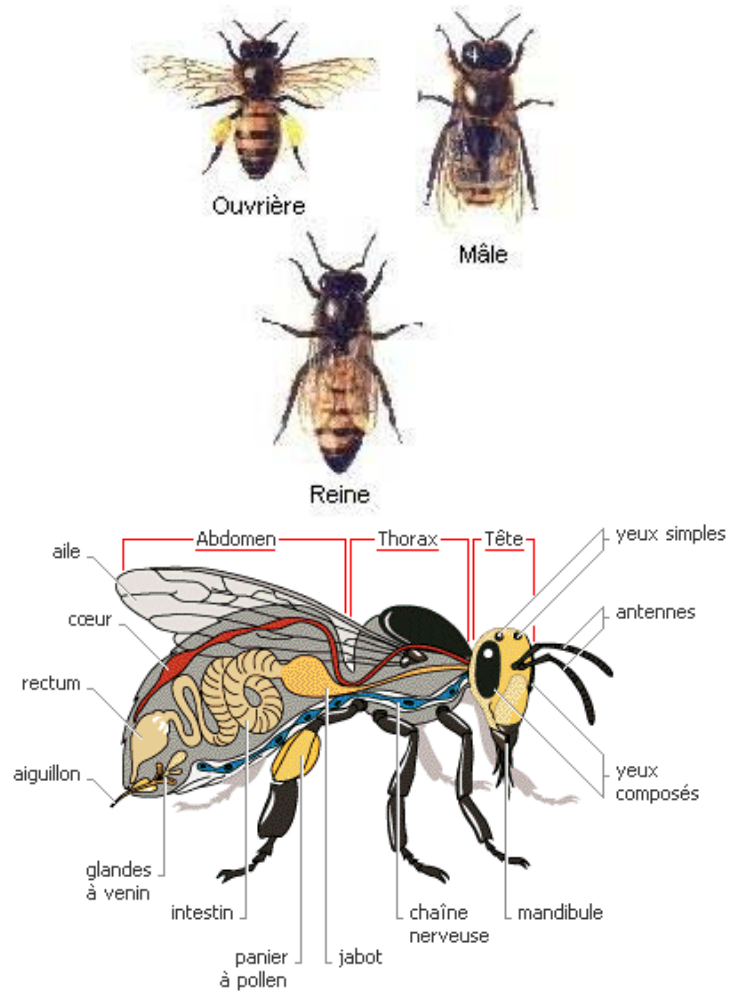
En passant quelques renseignements pertinents sur les abeilles... savez vous que:

- Chaque ruche contient de 40 à 60 milles abeilles parfois 80 milles.
- Certains apiculteurs aux USA possèdent des exploitations de plus de 10 milles ruches. En France quelques uns ont plus de 1500 ruches.
- Pour produire 28 grammes de miel une abeille effectue environ 1600 allers-retours.
- Une abeille vit environ 6 semaines en période d'activité.
- Pour récolter le nectar, une abeille doit parcourir plusieurs kilomètres, elle peut aller jusqu'à 4 kilomètres de la ruche et y revenir. Si jamais elle se trompe de ruche elle peut se faire massacrer par les autres abeilles qui voient en elle une intruse, une pilleuse.
- Les abeilles d'une ruche peuvent visiter environ 225 000 fleurs par jour. Par rapport au miel produit, elles rapportent jusqu'à 7 fois plus à l'agriculteur par la pollinisation qu'elles effectuent dans les champs.
- Il ne peut y avoir plus d'une reine par ruche, puisque cela provoquerait un essaim.
- Une reine pond environ 2 000 oeufs par jour au rythme de parfois 5 à 6 par minute. Pour pondre autant la reine consomme environ 80 fois son poids chaque jour.
- Les abeilles récoltent le nectar à 50% d'humidité et doivent donc le sécher pour le transformer en miel.
- La différence entre le miel naturel et le miel pasteurisé est très importante. Le miel naturel possède de 16,5 à 16,9% d'humidité tandis que le miel pasteurisé peut en contenir jusqu'à 19%.
- Pourquoi existe t il autant de sortes de miel? C'est que les abeilles butinent à différentes saisons des champs de fleurs respectifs et le miel prend la saveur caractéristique des plantes où les abeilles ont butiné. Il suffit de récolter le miel juste après une floraison particulière de végétaux.
- La propolis est une matière malléable à chaud, plastique et très collante qui durcit au froid en devenant cassante. Il s'agit d'un mélange de cire, de pollen et de résines que l'abeille récolte sur les bourgeons. Pour produire sa propolis l'abeille visite surtout le peuplier, le bouleau, l'aune, l'orme, le marronnier, le hêtre et les conifères. L'abeille s'en sert pour colmater et boucher, c'est son mastic.
- Les abeilles parcourent une distance équivalente à 4 fois le tour de la terre pour produire un kilo de miel...
- L'abeille ne perçoit pas les couleurs comme nous. Elle ne distingue pas le rouge, il lui paraît gris foncé. Elle est très sensible à l'ultraviolet. Son blanc est un mélange d'ultraviolet, de jaune et de bleu. L'ultraviolet et le jaune donnent le pourpre d'abeille. Elle confond le vert avec le jaune et l'orange et le bleu avec le bleu-violet. Les fleurs blanches lui apparaissent bleu-vert et les rouges lui semblent noires.
- Elle reconnaît facilement les formes massives des formes découpées mais peut confondre un rond et un carré ou un carré et un triangle.
- Elle distingue le salé, l'acide, l'amer et bien sur le sucré !



Annexe 4 : Les trois castes de *Apis mellifera* et l'anatomie de l'ouvrière :

Source : [www.mieldronet.com](http://www.mieldronet.com) et <http://fr.ca.encarta.msn.com>



*Annexe 5 : photographie d'une ouvrière*  
Source Laboratoire Biologie de l'Abeille (LBA)



Annexe 6 : photographie de Nosema



Photographie d'une spore de *Nosema Apis* mature extrait de Fries et al. 2006  
Source : [http://www.apiservices.com/abeille-de-france/articles/nosema\\_france.htm](http://www.apiservices.com/abeille-de-france/articles/nosema_france.htm)

*Annexe 7 : Tableau des résultats sur l'expérience de la mortalité*

**Mortalités journalières cumulées en %**

b ligne	nb colB	C	D	E	F	G	H	I	
		0,7	7	70	nos. 0,7	nos. 7	nos. 70	nos.	témoin
18	18-avr	0	0	0	0	0	0	0	
34	19-avr	1,11111111	2,59259259	1,11111111	1,11111111	0,74074074	0	1,11111111	
50	20-avr	1,48148148	2,96296296	2,96296296	2,59259259	1,48148148	0,74074074	1,85185185	
66	21-avr	1,85185185	3,7037037	3,7037037	3,7037037	2,59259259	1,85185185	1,85185185	
82	22-avr	2,59259259	4,44444444	4,44444444	3,7037037	4,07407407	2,96296296	2,59259259	0,3703703
98	23-avr	1,85185185	4,44444444	4,44444444	4,81481481	3,33333333	11,11111111	3,7037037	1,8518518
114	24-avr	3,7037037	7,40740741	5,55555556	7,77777778	4,44444444	23,33333333	4,44444444	2,2222222
130	25-avr	4,07407407	7,03703704	7,03703704	10	5,92592593	38,5185185	5,92592593	3,3333333
146	26-avr	4,81481481	7,77777778	8,14814815	12,5925926	10	48,8888889	7,40740741	4,0740740
162	27-avr	5,18518519	8,14814815	11,4814815	19,6296296	20,3703704	54,8148148	11,4814815	4,8148148
178	28-avr	4,81481481	10,7407407	11,8518519	34,4444444	40	65,3240741	22,5925926	5,5555555

**Mortalités cumulées en nombre d'abeilles par cagettes...**

	0,7	7	70	nos. 0,7	nos. 7	nos. 70	nos.	témoin
18-avr	0	0	0	0	0	0	0	0
19-avr	0,3333	0,77778	0,333333333	0,33333	0,2222	0	0,333	0
20-avr	0,4444	0,88889	0,888888889	0,77778	0,4444	0,22222	0,556	0
21-avr	0,5556	1,11111	1,111111111	1,11111	0,7778	0,55556	0,556	0
22-avr	0,7778	1,33333	1,333333333	1,11111	1,2222	0,88889	0,778	0,11111
23-avr	0,5556	1,33333	1,333333333	1,44444	1	3,33333	1,111	0,55556
24-avr	1,1111	2,22222	1,666666667	2,33333	1,3333	7	1,333	0,66667
25-avr	1,2222	2,11111	2,111111111	3	1,7778	11,5556	1,778	1
26-avr	1,4444	2,33333	2,444444444	3,77778	3	14,6667	2,222	1,22222
27-avr	1,5556	2,44444	3,444444444	5,88889	6,1111	16,4444	3,444	1,44444
28-avr	1,4444	3,22222	3,555555556	10,3333	12	19,5972	6,778	1,66667

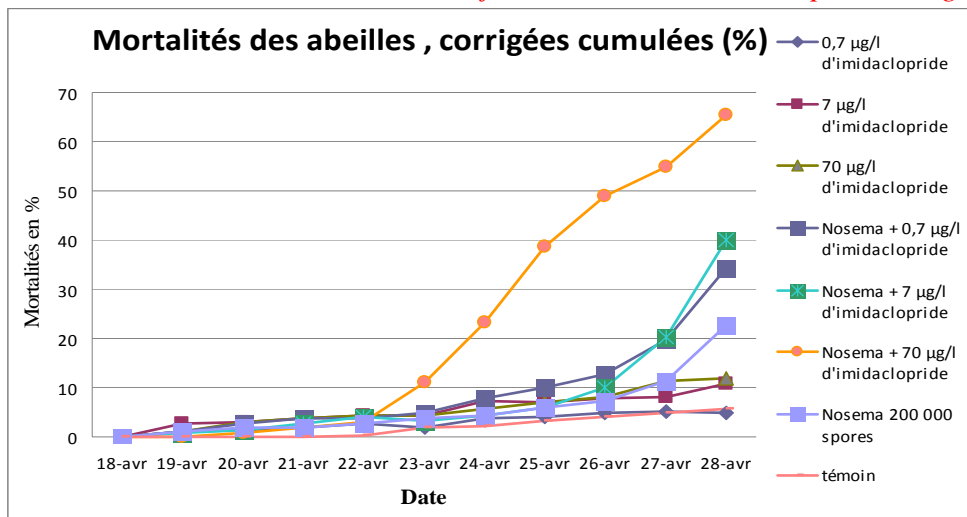
*Tableau des résultats des mortalités cumulées en nombre d'abeilles par cagette*

**Survivantes en nombre d'abeilles par cagettes...**

	0,7	7	70	nos. 0,7	nos. 7	nos. 70	nos.	témoin
18-avr	30	30	30	30	30	30	30	30
19-avr	29,667	29,2222	29,66666667	29,6667	29,778	30	29,67	30
20-avr	29,556	29,1111	29,11111111	29,2222	29,556	29,7778	29,44	30
21-avr	29,444	28,8889	28,88888889	28,8889	29,222	29,4444	29,44	30
22-avr	29,222	28,6667	28,66666667	28,8889	28,778	29,1111	29,22	29,8889
23-avr	29,444	28,6667	28,66666667	28,5556	29	26,6667	28,89	29,4444
24-avr	28,889	27,7778	28,33333333	27,6667	28,667	23	28,67	29,3333
25-avr	28,778	27,8889	27,88888889	27	28,222	18,4444	28,22	29
26-avr	28,556	27,6667	27,55555556	26,2222	27	15,3333	27,78	28,7778
27-avr	28,444	27,5556	26,55555556	24,1111	23,889	13,5556	26,56	28,5556
28-avr	28,556	26,7778	26,44444444	19,6667	18	10,4028	23,22	28,3333

*Tableau des résultats des survivantes en nombre d'abeilles par cagettes*

Tableau des résultats des mortalités journalières cumulées en pourcentage



Graphique représentant les résultats des mortalités des abeilles corrigées cumulées en pourcentage

*Annexe 8 : Protocole du dosage des protéines par la méthode de Bradford*





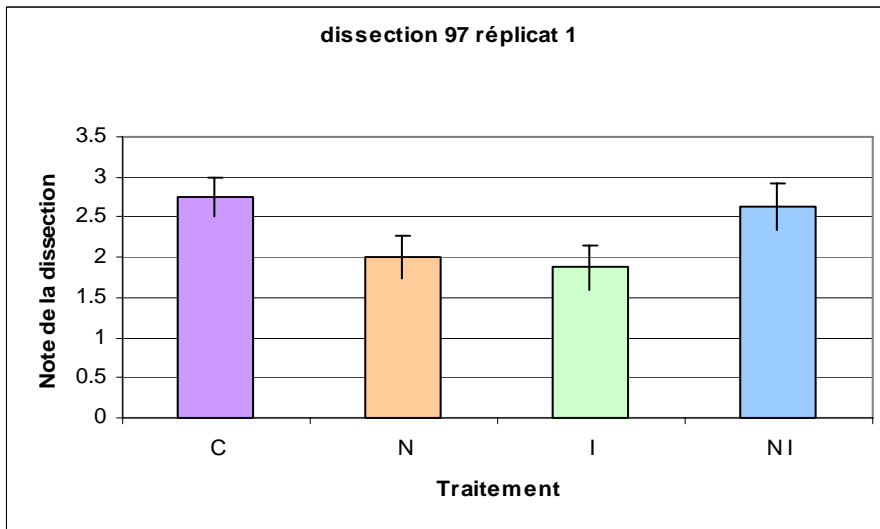




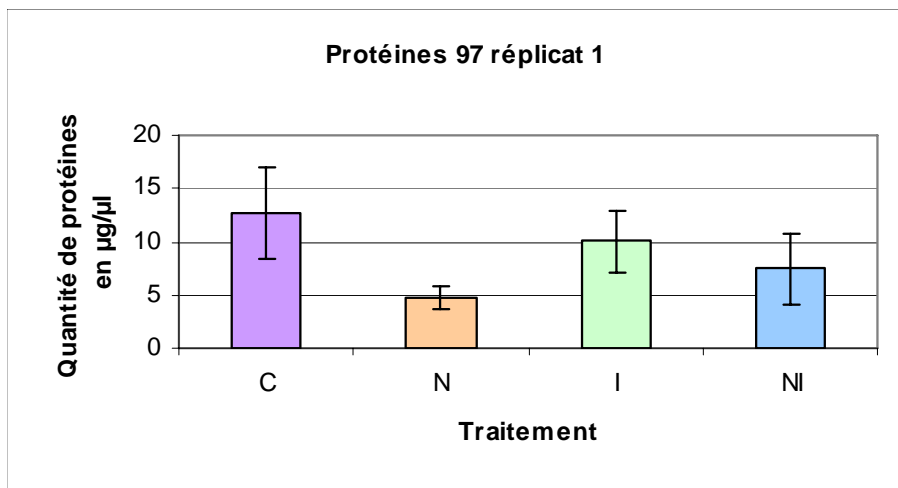


*Annexe 9 : Résultats de la manipulation sur les glandes hypopharyngiennes à J 5*

Pour la ruche 97 répliat 1

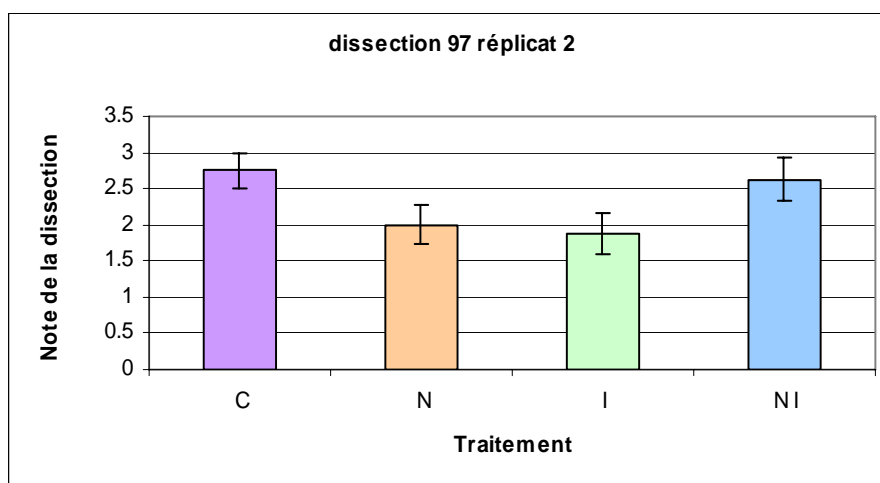


Graphique représentant les notes de dissection des glandes

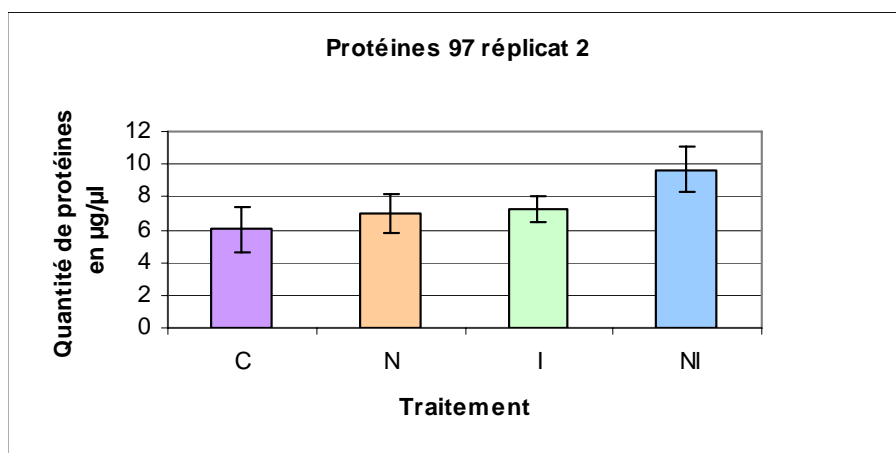


Graphique représentant la quantité de protéines présentent dans les glandes

Pour la ruche 97 répliat 2

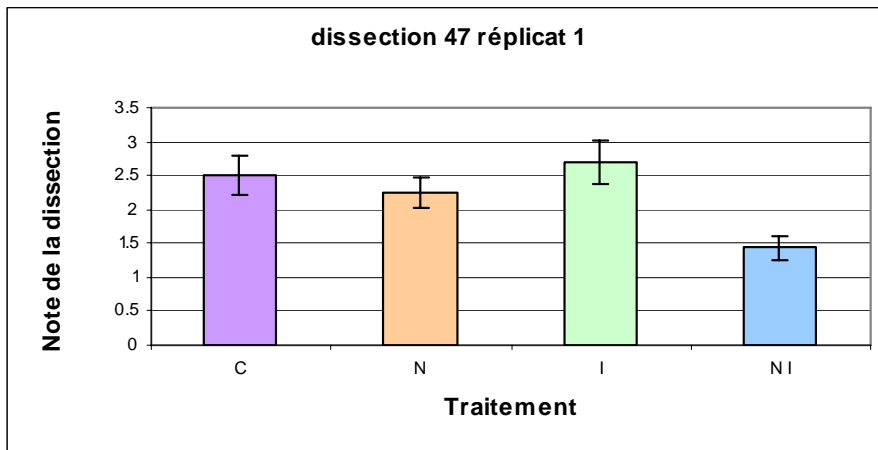


Graphique représentant les notes de dissection des glandes

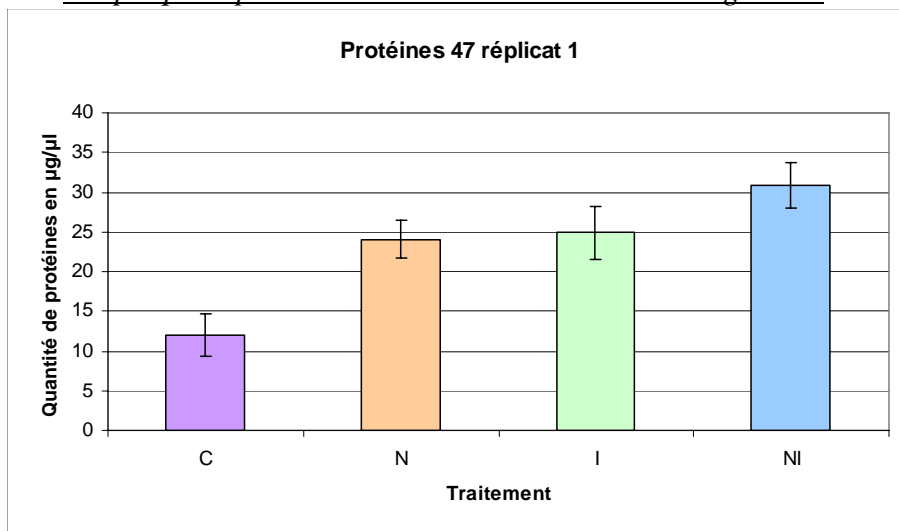


Graphique représentant la quantité de protéines présentent dans les glandes

*Pour la ruche 47 répliat 1 :*

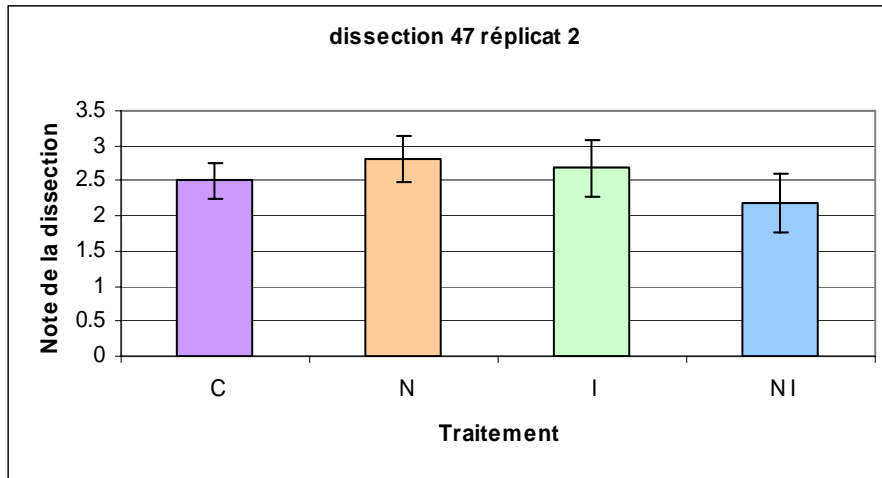


*Graphique représentant les notes de dissection des glandes*

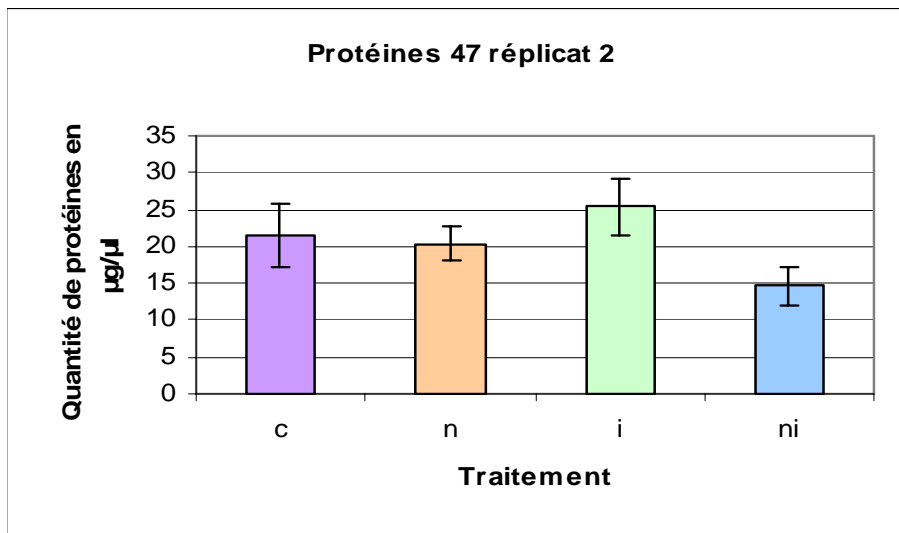


*Graphique représentant la quantité de protéines présentent dans les glandes*

Pour la ruche 47 réplikat 2



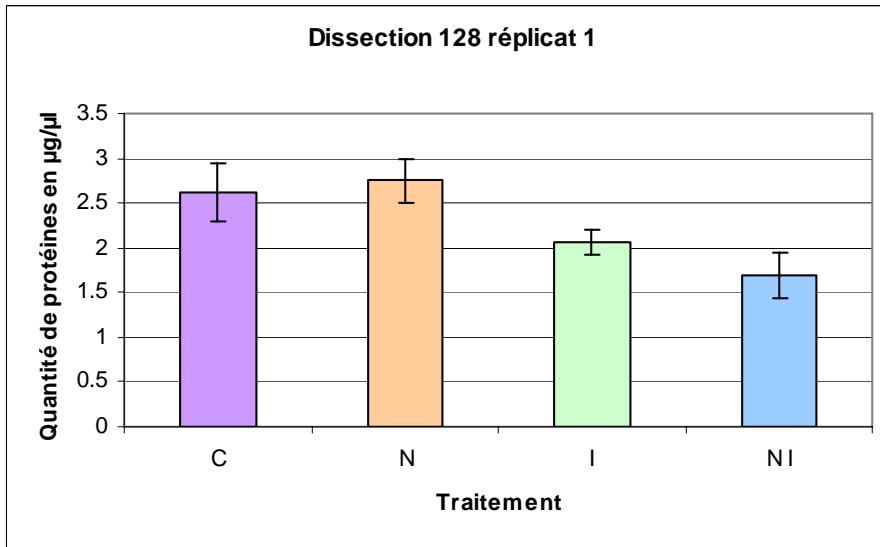
Graphique représentant les notes de dissection des glandes



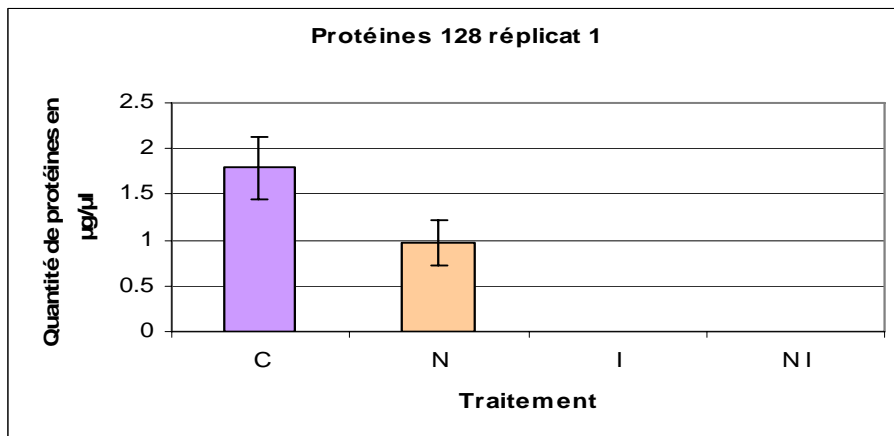
Graphique représentant la quantité de protéines présentent dans les glandes



Pour la ruche 128 réplikat 1

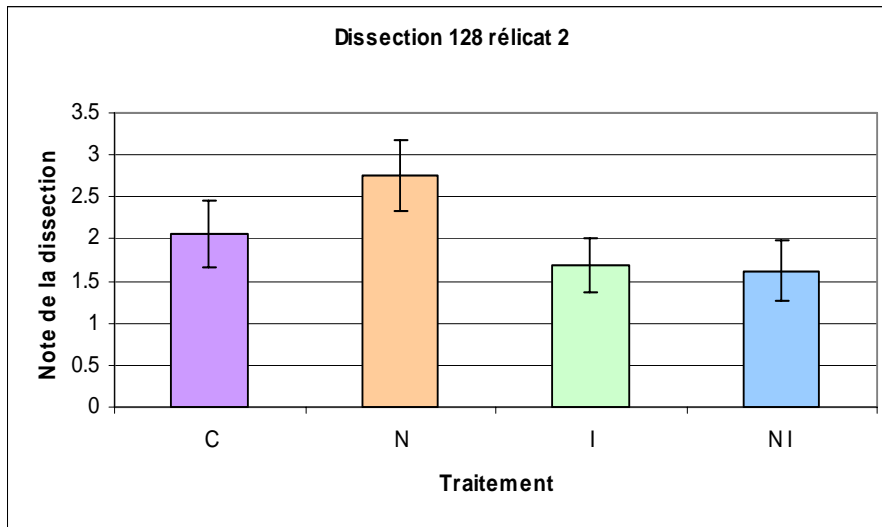


Graphique représentant les notes de dissection des glandes

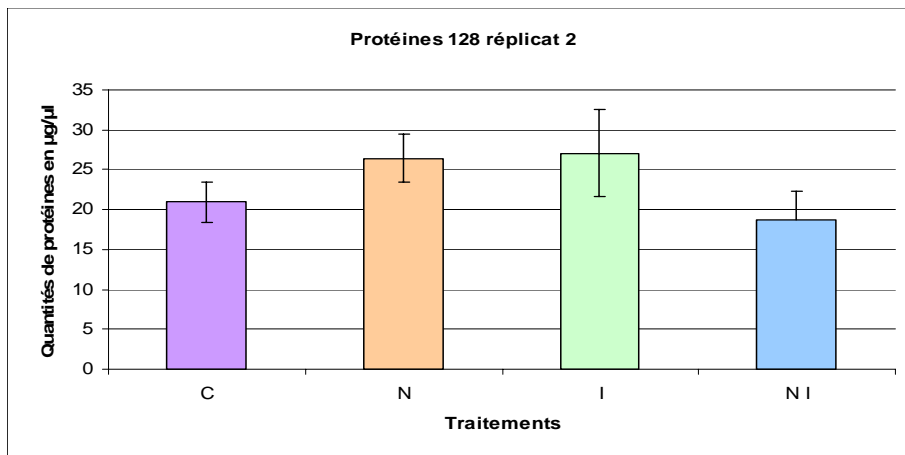


Graphique représentant la quantité de protéines présentent dans les glandes

Pour la ruche 128 répliat 2



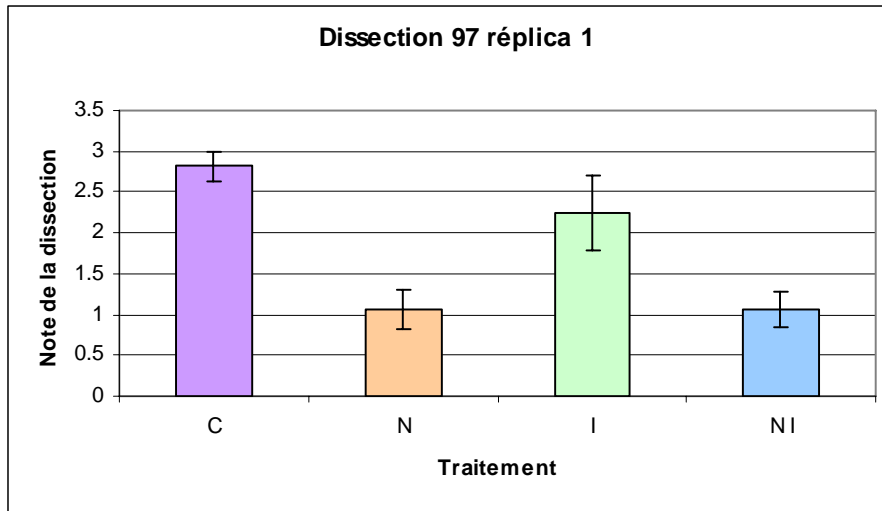
Graphique représentant les notes de dissection des glandes



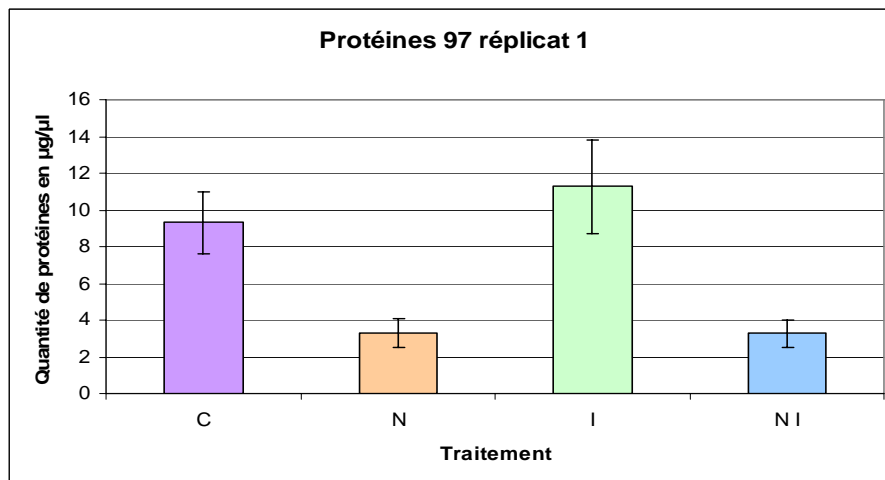
Graphique représentant la quantité de protéines présentent dans les glandes



Pour la ruche 97 réplicat 1

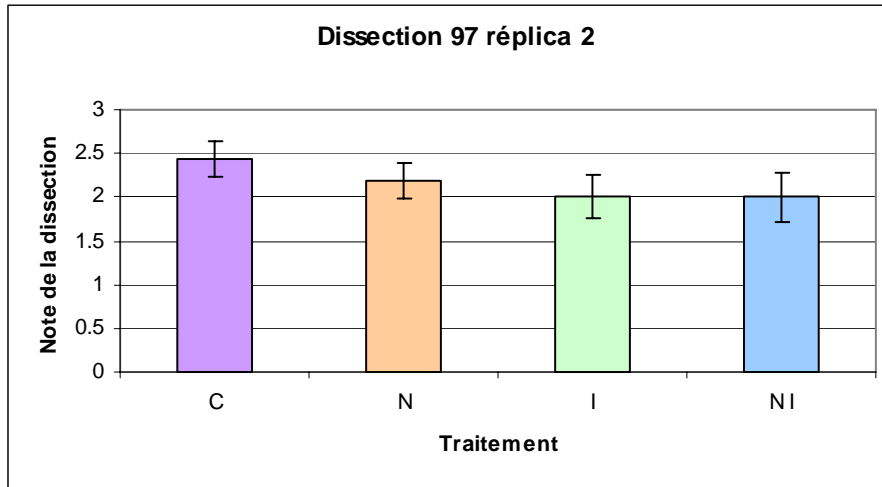


Graphique représentant les notes de dissection des glandes

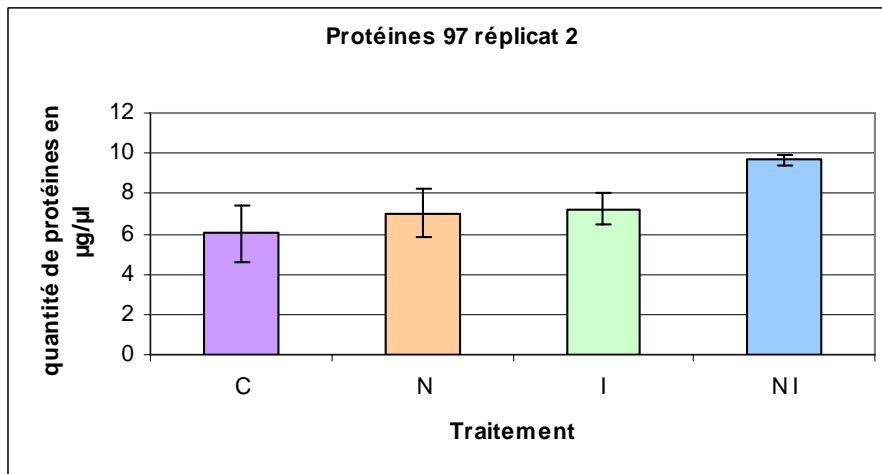


Graphique représentant la quantité de protéines présentent dans les glandes

Pour la ruche 97 réplicat 2 :

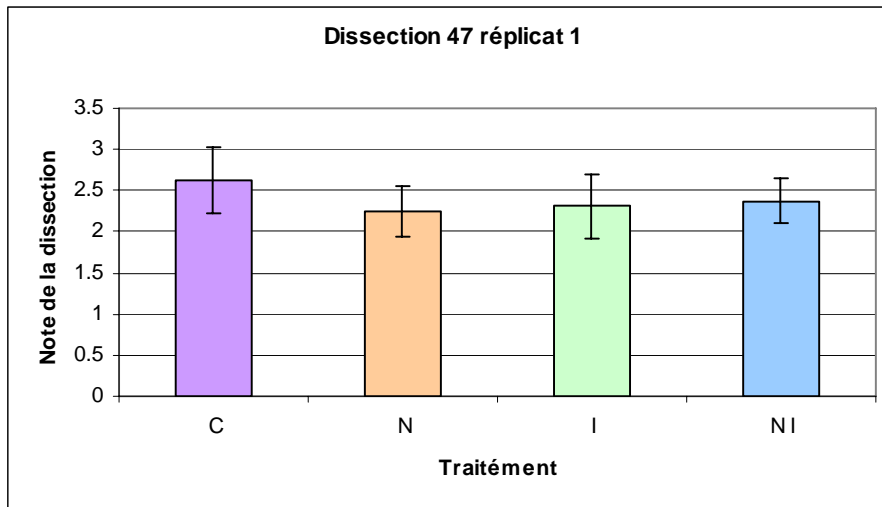


Graphique des notes de dissection au jour 10

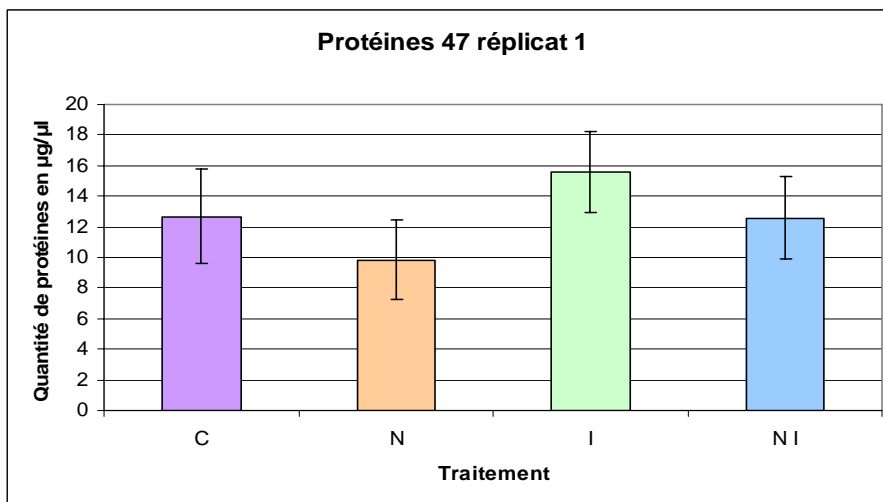


Graphique des résultats du dosage des protéines au jour 10

Pour la ruche 47 réplica 1 :

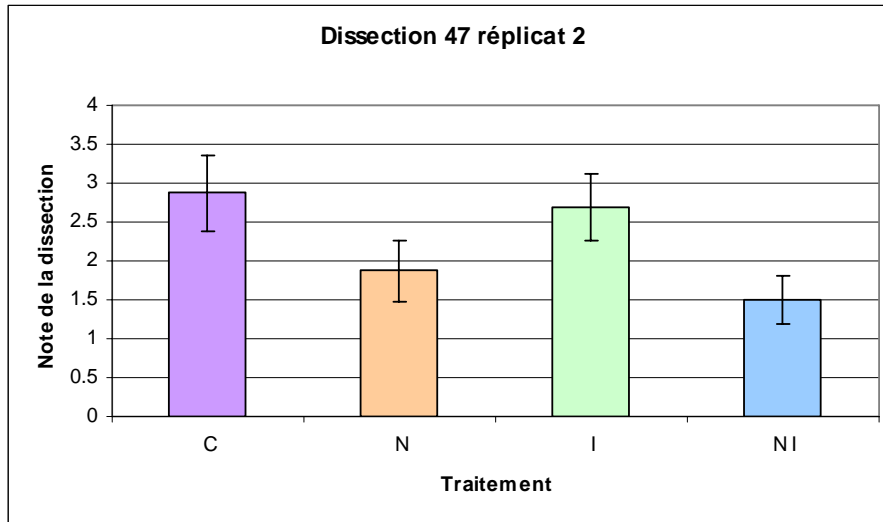


Graphique des notes de dissection au jour 10

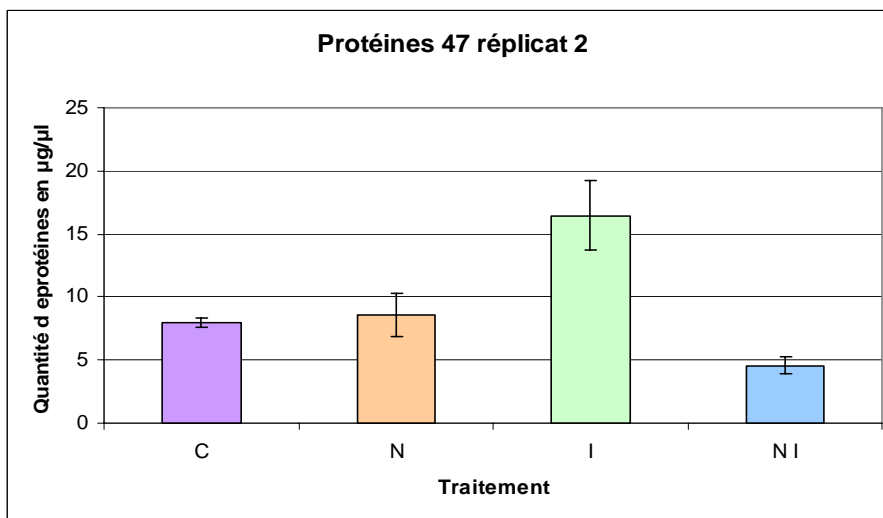


Graphique des résultats du dosage des protéines au jour 10

*Pour la ruche 47 réplikat 2 :*

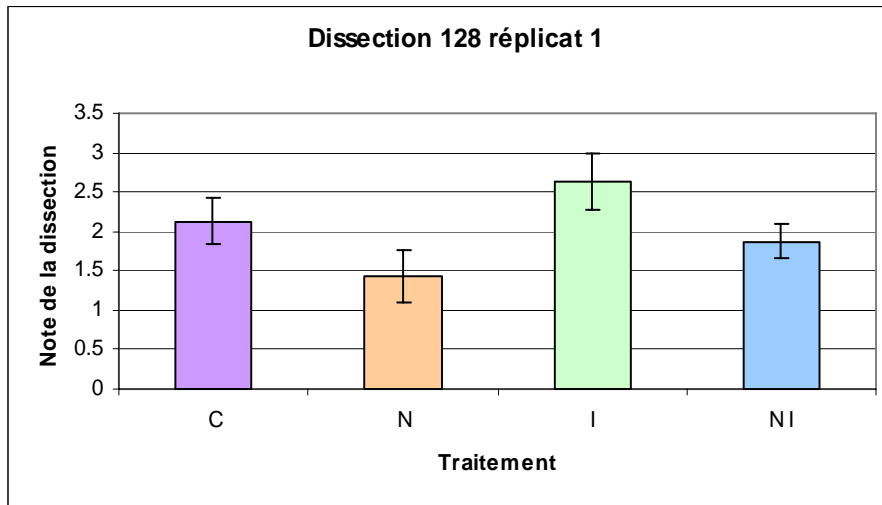


Graphique des notes de dissection au jour 10

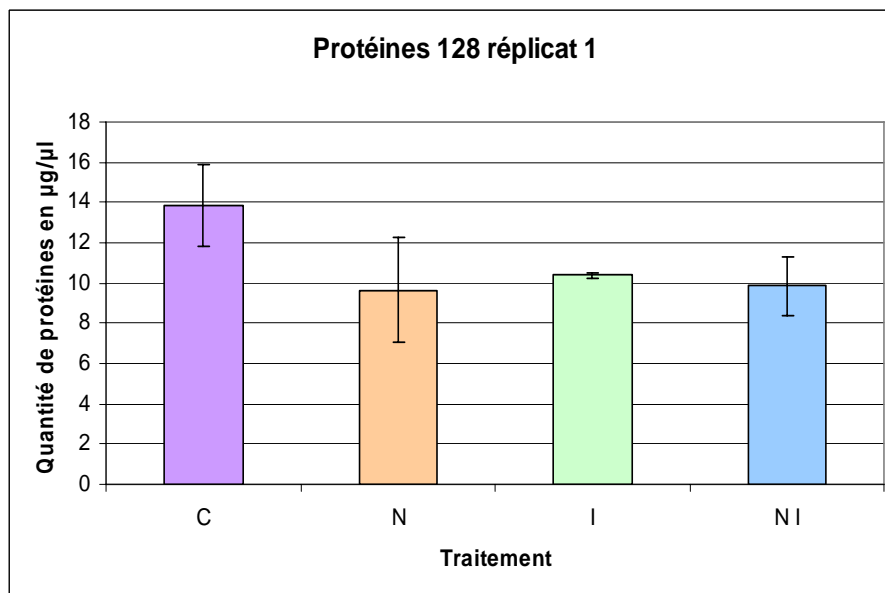


Graphique des résultats du dosage des protéines au jour 10

*Pour la ruche 128 réplikat 1 :*



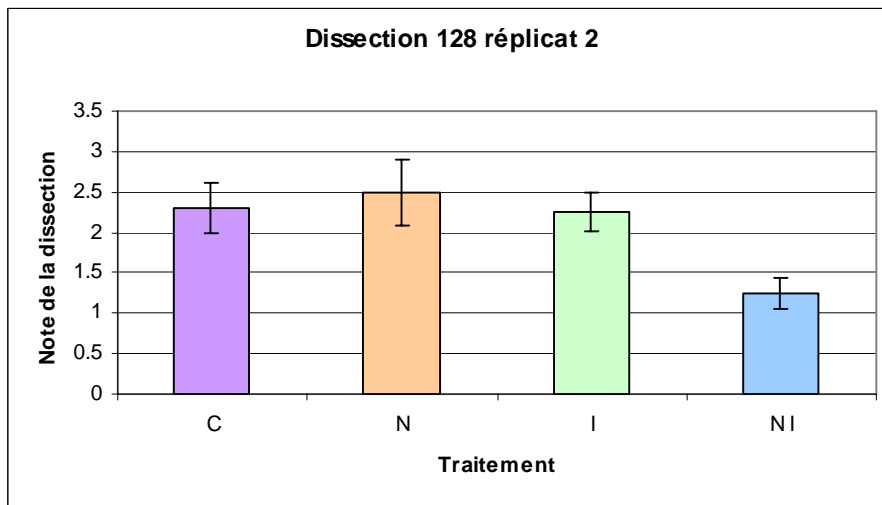
*Graphique des notes de dissection au jour 10*



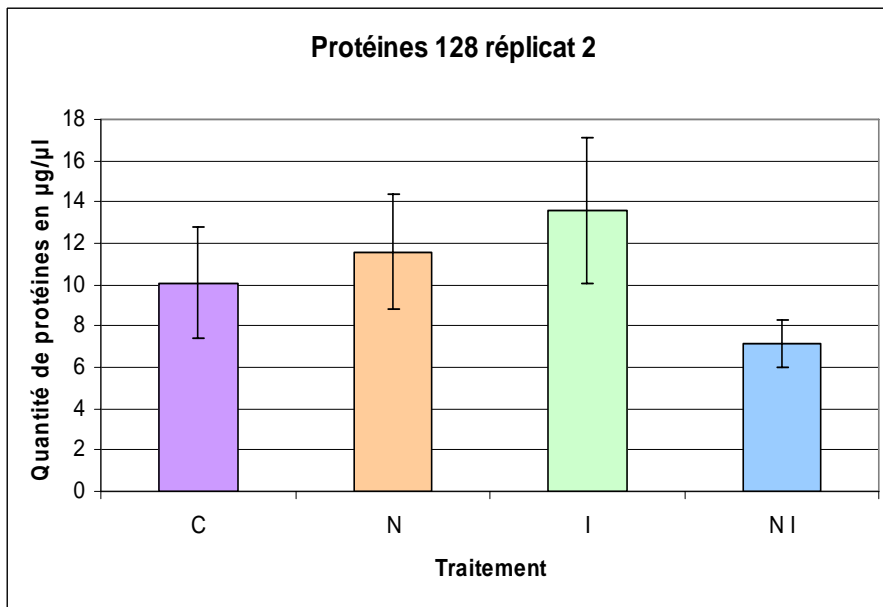
*Graphique des résultats du dosage des protéines au jour 10*



Pour la ruche 128 réplikat 2 :



Graphique des notes de dissection au jour 10



Graphique des résultats du dosage des protéines au jour 10

*Annexe 11 : Analyse statistique*

**Jour 5 et 10**

**Index de dissection**

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
ruche	2	2.457	1.229	1.552	0.213
traitement	3	22.343	7.448	9.407	<0.001
Age	1	3.267	3.267	4.126	0.043
ruche x traitement	6	20.566	3.428	4.329	<0.001
ruche x Age	2	0.941	0.470	0.594	0.553
traitement x Age	3	6.061	2.020	2.552	0.055
ruche x traitement x Age	6	7.348	1.225	1.547	0.162
Residual	360	285.021	0.792		
Total	383	349.958	0.914		

**Comparisons for factor: traitement**

Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0.050
C vs. NI	0.714	4	7.454	<0.001	Yes
C vs. N	0.302	4	3.156	0.115	No
C vs. I	0.286	4	2.992	0.148	Do Not Test
I vs. NI	0.427	4	4.462	0.009	Yes
I vs. N	0.0156	4	0.163	0.999	Do Not Test
N vs. NI	0.411	4	4.298	0.013	Yes

**Comparisons for factor: Age**

Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0.050
10.000 vs. 5.000	0.391	2	4.378	0.002	Yes

*Proteins*

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
ruche	2	7650.288	3825.144	30.174	<0.001
traitement	3	2221.477	740.492	5.841	<0.001
Age	1	555.751	555.751	4.384	0.037
ruche x traitement	6	1430.008	238.335	1.880	0.083
ruche x Age	2	1065.239	532.620	4.201	0.016
traitement x Age	3	191.676	63.892	0.504	0.680
ruche x traitement x Age	6	852.046	142.008	1.120	0.350
Residual	344	43609.222	126.771		
Total	367	57349.611	156.266		

**Comparisons for factor: ruche**

Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0.050
128.000 vs. 97.000	10.881	3	9.324	<0.001	Yes
128.000 vs. 47.000	1.968	3	1.740	0.435	No
47.000 vs. 97.000	8.913	3	9.354	<0.001	Yes

**Comparisons for factor: traitement**

Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0.050
I vs. NI	7.222	4	5.560	<0.001	Yes
I vs. C	5.523	4	4.398	0.010	Yes
I vs. N	5.296	4	4.217	0.015	Yes
N vs. NI	1.925	4	1.533	0.699	No
N vs. C	0.227	4	0.187	0.999	Do Not Test
C vs. NI	1.699	4	1.352	0.774	Do Not Test

**Comparisons for factor: Age**

Comparison	Diff of Means	p	q	P	P<0.050
10.000 vs. 5.000	1.828	2	1.602	0.257	No

## Jour 10

### Index de dissection

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
ruche	2	2.201	1.100	1.254	0.288
traitement	3	19.358	6.453	7.354	<0.001
ruche x traitement	6	7.404	1.234	1.406	0.214
Residual	180	157.943	0.877		
Total		191	190.342	0.997	

#### Comparisons for factor: **traitement**

Comparison	Diff of Means	t	P	P<0.050
C vs. NI	0.927	4.386	<0.001	Yes
C vs. N	0.500	2.365	0.114	No
C vs. I	0.188	0.887	1.000	Do Not Test
I vs. NI	0.740	3.499	0.004	Yes
I vs. N	0.312	1.478	0.846	Do Not Test
N vs. NI	0.427	2.020	0.269	No

### Proteins

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
ruche	2	2118.380	1059.190	13.910	<0.001
traitement	3	964.385	321.462	4.222	0.007
ruche x traitement	6	794.220	132.370	1.738	0.114
Residual	180	13706.423	76.147		
Total	191	18207.814	95.329		

#### Comparisons for factor: **ruche**

Comparison	Diff of Means	t	P	P<0.050
47.000 vs. 97.000	7.286	5.174	<0.001	Yes
47.000 vs. 128.000	1.187	0.666	1.000	No
128.000 vs. 97.000	6.100	3.229	0.004	Yes

#### Comparisons for factor: **traitement**

Comparison	Diff of Means	t	P	P<0.050
I vs. NI	6.988	3.549	0.003	Yes
I vs. N	3.947	2.004	0.279	No
I vs. C	3.661	1.859	0.388	Do Not Test
C vs. NI	3.328	1.690	0.557	No
C vs. N	0.286	0.145	1.000	Do Not Test
N vs. NI	3.041	1.544	0.745	Do Not Test

*Annexe 12 : Protocole OIE de quantification des niveaux d'infections par Nosema sp.*



INRA, UMR 406 Abeilles et Environnement  
et  
Laboratoire Biologie et Protection de l'Abeille  
Site Agroparc, Domaine Saint Paul, AVIGNON

IUT d'Avignon, Université d'Avignon  
Des Pays du Vaucluse  
337 Chemin de Meinajaries, BP 1207,  
84911 Avignon, cedex 9

Stage réalisé du 20 avril au 29 juin 2009

Etudiant : Aurélie BALDY

Tuteur de stage : Yves LE CONTE

**Etude de différents stress physiologiques chez l'abeille : le cas des glandes hypopharyngiennes**

**Résumé :**

Depuis quelques années nous avons pu voir une hécatombe des abeilles et nos différentes expériences ont tenté de répondre au problème de la mortalité des abeilles (*Apis mellifera*). A partir de ce constat, nous avons voulu tester les effets de quelques stress sur différents paramètres notamment sur les glandes hypopharyngiennes qui sont importantes pour nourrir les larves. Lors de notre première expérience, nous avons testé la mortalité des abeilles face à différents paramètres tels qu'un pesticide, l'imidaclopride et une microspore nommée *Nosema*. Grâce à cette expérience nous avons observé que ces deux paramètres avaient une influence sur la mortalité observée. Par la suite, nous avons voulu examiner ce qui se passait au niveau des glandes hypopharyngiennes, si nous pouvions remarquer une réaction face à nos deux paramètres à deux niveaux qui sont : la taille des glandes, la quantité de protéine présente dans ces glandes. Cette expérience nous a permis de remarquer que lors de la dissection, les glandes hypopharyngiennes sont beaucoup plus atrophiées lorsque les abeilles sont exposées au traitement du *Nosema* et de l'imidaclopride associé. Nous aurions souhaité démontrer que lorsque les abeilles sont exposées à ce traitement, les glandes hypopharyngiennes par leur atrophie produisent moins de protéines. Or la manipulation n'a pas marché au niveau des dosages des protéines. Il faudrait reprendre cette expérience en changeant le protocole expérimental pour le dosage des protéines.

**Mots-clés :** *Apis mellifera*, Glande hypopharyngienne, *Nosema*, Imidaclopride, dosage de protéine.

**Abstract :**

In recent years, researchers have begun to see elevated mortality levels in honey bees (*Apis mellifera*); a problem which our different experiments tried to answer. In this project, we tested the effects of multiple stresses with varying parameter, specifically their effects on honey bee hypopharyngeal glands, which are important for larvae nourishment. In our first experiment, we tested honey bee mortality with the systemic insecticide Imidacloprid and the microsporidian *Nosema*. Within this experiment, we noticed these two stresses elevated the level of mortality. Additionally, we wanted to examine what occurred the glandular level; that is to say, to determine whether augmentation in hypopharyngeal gland size and protein quantity as a result of the two stresses could be quantified. Our study shows that hypopharyngeal glands are more atrophied in honey bees after they have been exposed to *Nosema* and Imidacloprid treatments. We would like to show that honey bees exposed to these treatments, and thus those that possess atrophied glands, produce less protein. To do this, it will be necessary to perform additional experimentation where the new project design is adapted to better fit the needs of the specific experiment.

**Key words:** *Apis mellifera*, Hypopharyngeal gland, *Nosema*, Imidacloprid, Protein.

