

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA - Béjaïa

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des sciences biologiques de l'environnement
Spécialité Biologie Animale



Réf :.....

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

**Evaluation du stress oxydatif chez les nymphes
d'abeilles locales *Apis mellifera intermissa*
infestées par le parasite *Varroa destructor* : Effet
de la force de la colonie**

Présenté par :

Idjeraoui Dalila et Bouzelmat Fatima

Soutenu le : 14 juillet 2022

Devant le jury composé de :

Mr	Chelli Abdelmadjid	MCA	Président
Mme	Sad Eddine Zennouche Ourdia	MCA	Encadreur
Mme	Henine Maouche Anissa	MCB	Examineur
Mr	Aissanou Sofiane		Invité

Année universitaire : 2021 / 2022.

Remerciements

La réalisation de ce mémoire a été possible grâce au concours de plusieurs personnes à qui nous tenons à témoigner toute notre gratitude.

En premier lieu, nous remercions **nos chers parents** et **nos familles respectives** qui nous ont élevés, éduqués, soutenus, qui ont toujours été une source de joie et de fierté.

Nous tenons à exprimer notre profonde reconnaissance et adresser nos sincères remerciements à notre encadreur madame **Sad Eddine Zennouche Ourdia**.

Merci pour nous avoir consacré votre temps, merci d'avoir partagé avec nous les outils méthodologiques indispensables à la conduite de cette recherche et de nous avoir guidé pas à pas tout au long de la réalisation de notre travail. Votre exigence et votre gentillesse nous ont fortement stimulés pour donner le meilleur de nous-mêmes.

Nous hommages respectueux et sincères remerciements aux honorables membres du jury monsieur **Chelli Abdelmadjid** et madame **Henine Maouche Anissa** qui ont accepté de juger ce modeste travail.

Un grand merci à madame **Inouri Ahlem** pour son aide inestimable, sa bonne humeur et sa patience angélique ; elle nous a fortement assistés, conseillés et encouragés lors de l'exécution de la partie pratique.

Nous remercions particulièrement madame **Ghaffar Intissar** de l'université de Boumerdes pour sa générosité et pour nous avoir transmis sa passion pour l'apiculture.

Nous remercions également Mr **Aissanou Sofiane**, Mlles **Mahoui Louiza** et **Ismail Sabrina** pour leur précieuse aide pour le traitement statistique des données.

Nous adressons nos sincères remerciements à tous les professeurs, intervenants et toutes les personnes qui par leurs paroles, leurs écrits, leurs conseils et leurs critiques ont guidé nos réflexions.

Enfin un grand merci à mes employeurs Mr **Aoumad Cherif** et **Bouguermouh Zahir** qui m'ont toujours soutenu dans le travail et qui m'ont accordé leur accord pour que je puisse poursuivre mes études.

Sdjeraoui Dalila et Bouzelmat Fatima



Dédicaces

Je dédie ce modeste travail

*À feu mon père, pour son affection, son soutien sans
faillite, son amour de la recherche qu'il m'a transmis.*

*À ma très chère mère, pour son amour, sa tendresse et
tous ses sacrifices.*



Dalila Idjeraoui



*Je tiens à remercier
Le bon dieu de m'avoir donné du courage et de patience
Afin de réaliser cet événement marquant que je dédie
À Ma petite famille :*

*Ma Mère,
Pour son encouragement et ses sacrifices.*

*Mon Mari,
Pour la confiance qu'il m'accordé.*

*Mes Enfants :
Narimene, Nourhane, Badr-Eddine, Jihane, Ayoub.
Source de joie et de bonheur.*

*À la mémoire de ma grand-mère et ma belle-mère qui ont
Disparus trop tôt.*

*À tous mes collègues du CFPA et du la mairie de Chemimi
Principalement le P.apc Mr : **V. BOUNAB.***

*À Ma chère collègue Dalila et à toute sa famille ;
Merci d'avoir partagé ce travail avec moi.*

*À l'ensemble de l'université de Bejaïa, En
Particulier le professeur : **Madani K.***

*À tous ceux qui m'ont soutenu,
Et ceux qui m'aiment.*

À tous mes amis.

Fatima KIROUANE née BOUZELMAT

Table des matières

Remerciements	I
Dédicaces	II
Liste des tableaux	VII
Liste des figures	VIII
Liste des abréviations	X
Introduction	1
I. Synthèse Bibliographique	3
1. L'abeille domestique <i>Apis mellifera intermessa</i>	3
1.1. Généralités	3
1.1. Classification	3
1.2. Caractéristiques.....	4
1.3. Les castes d'abeilles	4
1.3.1. La reine	5
1.3.2. Les faux-bourdon	5
1.3.3. Les ouvrières.....	5
1.4. Le cycle de développement de l'abeille.....	6
1.5. Les principales pathologies des abeilles	7
2. La varroase.....	8
2.1. L'agent causal « <i>Varroa destructor</i> »	8
2.2. Classification	9
2.3. Description du <i>Varroa destructor</i>	9
2.3.1. Les formes immatures	9
2.3.2. Les formes matures.....	9
2.4. Cycle de reproduction du varroa.....	10
2.4.1. Phase reproductrice.....	10
2.4.2. Phase phorétique.....	10

2.5.	Pathogénie.....	12
2.5.1.	Action mécanique	12
2.5.2.	Action spoliatrice.....	12
2.5.3.	Action vectrice.....	12
2.6.	Symptômes de la Varroase	13
2.7.	Méthodes de lutte contre la Varroase	13
2.8.	Résistance de l'abeille au varroa	14
3.	Le stress oxydatif.....	15
3.1.	Définition du stress oxydatif.....	15
3.2.	Les radicaux libres et les espèces réactives de l'oxygène ERO	16
3.2.1.	Les radicaux libres.....	16
3.2.2.	Les espèces réactives à l'oxygène ERO	16
3.3.	Les principales espèces réactives à l'oxygène	17
3.4.	Origine du stress oxydatif.....	17
3.5.	Les cibles biologiques des ERO	18
3.5.1.	L'acide désoxyribonucléique ou ADN	18
3.5.2.	Les protéines.....	18
3.5.3.	Les lipides.....	19
3.5.4.	Les lipoprotéines.....	19
3.6.	Les défenses antioxydantes.....	20
3.6.1.	Source d'antioxydants exogène	20
3.6.2.	Source d'antioxydants endogène	20
II. Matériel et Méthodes.....		21
1.	Matériel.....	21
1.1.	Matériel biologique.....	21
1.2.	Matériel de terrain.....	21
1.3.	Matériel de laboratoire.....	21

1.4.	Produits chimiques et réactifs	22
1.5.	Logiciel de statistiques StatView.....	22
2.	Méthodes.....	22
2.1.	Prélèvement des échantillons.....	22
2.2.	Préparation de la solution tampon salin PBS.....	23
2.3.	Préparation des échantillons	24
2.4.	Mesure de la peroxydation lipidique ou Test de TBARS	24
2.5.	Mesure de l'activité antioxydante totale ou Test ABTS.....	25
III.Résultats et Discussions		27
1.	Mise en évidence du stress oxydatif dû à la présence du varroa	27
1.1.	Mesure de la peroxydation lipidique ou test de TBARS	27
1.1.1.	Discussion des résultats du test TBARS.....	28
1.2.	Mesure de l'activité anti oxydante totale (test ABTS)	29
1.2.1.	Discussion des résultats du test ABTS	30
2.	Mise en évidence de l'influence de la force de la colonie sur le stress oxydatif chez les nymphes de faux bourdons infestées et les nymphes non infestées.....	33
2.1.	Comparaison de la concentration en MDA des nymphes issues de colonies fortes et de nymphes issues de colonies faibles.....	33
2.2.	Comparaison des résultats du test ABTS en fonction de la force de la colonie	35
2.3.	Discussion des résultats	37
Conclusion et perspectives.....		39
Références bibliographiques		40
Résumé		56
Abstracts		56

Liste des tableaux :

Tableau I: Position de l'abeille au sein du règne animal	3
Tableau II: Synthèse des principales maladies des abeilles	7
Tableau III : Synthèse des Moyens de lutte contre le parasite <i>Varroa destructor</i>	14
Tableau IV : les principales espèces réactives.	17
Tableau V: Liste des produits chimiques utilisés	22
Tableau VI: Comparaison de la concentration moyenne en MDA entre les échantillons de nymphes non infestées et les échantillons de nymphes infestées par le <i>Varroa destructor</i>	27
Tableau VII: Comparaison des pourcentages d'inhibition du radical ABTS ^{°+} entre les échantillons de nymphes non infestées et les échantillons de nymphes infestées.....	30
Tableau VIII: Concentration en MDA dans les échantillons de nymphes non infestées et dans les échantillons de nymphes infestées issues de colonies fortes et de colonies faibles.	33
Tableau IX: Pourcentages d'inhibition du radical ABTS ^{°+} des nymphes issues de colonies fortes et de nymphes issues de colonies faibles	35

Liste des figures :

Figure 1: La reine	4
Figure 2: Le faux bourdon	4
Figure 3: Les ouvrières	4
Figure 4: Polythéisme d'âge des ouvrières.	6
Figure 5: Cycle de développement des trois castes de l'abeille mellifère <i>Apis mellifera</i>	7
Figure 6: Les différents stades de développement du <i>V. destructor</i>	10
Figure 7: Représentation schématique du cycle de développement du varroa, en synchronisation avec le cycle de développement de l'abeille domestique.....	11
Figure 8: Les différentes phases de développement du varroa	11
Figure 9: Dommages physiques dus à une infestation par le varroa au stade nymphal	13
Figure 10: Le comportement hygiénique de l'abeille.....	15
Figure 11: Schématisation de la balance entre les espèces réactives oxygénées ERO et les antioxydants.....	16
Figure 12: Les différentes cibles biologiques des espèces réactives de l'oxygène	19
Figure 13: Ruche située à Mezgoug	21
Figure 14: Ruche située à Taghrast	21
Figure 15 : Mortier et pilon en porcelaine.....	22
Figure 16 : Balance de précision	22
Figure 17 : Plaque magnétique	22
Figure 18: Centrifugeuse réfrigérée.....	22
Figure 19: Prélèvements de nymphes de faux bourdons	23
Figure 20: Broyage de nymphes de faux bourdon.....	24
Figure 21: Conditionnement des échantillons dans des tubes	24
Figure 22: Spectrophotomètre	25
Figure 23: Echantillons mis au Bain-marie	25
Figure 24: Coloration des échantillons lors du test TBARS	25
Figure 25: Histogramme représentant les moyennes de concentrations en MDA dans les échantillons de nymphes infestées et de nymphes non infestées.	27
Figure 26: Histogramme représentant les moyennes du pourcentage d'inhibition du radical ABTS °+ dans les échantillons de nymphes infestées et les échantillons de nymphes non infestées.	30

Figure 27: Histogramme représentant les moyennes de concentration en MDA dans les colonies fortes et dans les colonies faibles.	33
Figure 28: Histogramme représentant les moyennes de concentrations en MDA des échantillons de nymphes infestées et de nymphes non infestées issues de colonies fortes et de colonies faibles.	34
Figure 29: Histogramme représentant le pourcentage d'inhibition du radical ABTS ^{o+} dans les colonies fortes et colonies faibles	36
Figure 30: Histogramme représentant les moyennes des pourcentages d'inhibition du radical ABTS ^{o+} des échantillons de nymphes infestées et de nymphes non infestées issues de colonies fortes et de colonies faibles.	36

Liste des abréviations :

ABTS : Acide 2, 2'-azino-Bis-3-éthylbenzo Thiazoline-6-Sulfonique.

ABTS^{°+} : Radical de l'Acide 2, 2'-azino-Bis-3-éthylbenzo Thiazoline-6-Sulfonique.

AC : Absorbance du témoin sans échantillon à T0 min.

ADN : Acide Désoxyribo Nucléique.

AGPI : Acides gras polyinsaturés.

AT : Absorbance des antioxydants (échantillons) à T6 min.

CAT : Catalase.

CBPV : Virus de la Paralysie Chronique.

DWV : Virus des ailes déformées.

EDTA : Ethylene Diamine Tetra Acetic Acid.

ERA : Espèces réactives à l'azote

ERO: Espèces réactives de l'oxygène

GSH-Px : Glutathion peroxydase

GST : Glutathion S transférase.

K₂S₂O₈ : Persulfate de Potassium.

Kcl : Chlorure de Potassium.

KH₂PO₄ : Phosphate mono potassique.

LDL : Lipoprotéines de densité légère.

MDA : Malon Di Aldéhyde.

Na₂HPO₄ : Hydrogène phosphate de sodium.

NaCl: Chlorure de sodium.

NOS : Nitrogène reactive species

PBS : Phosphate-Buffered Saline

PI : Pourcentage d'inhibition.

ROS : Reactive oxygen species

SBV : Virus du couvain sacciforme.

SOD : Super oxyde dismutase.

TAS : Statut anti oxydant total.

TBA : Thio Barbituric Acid (acide thiobarbiturique).

TBARS : Thio barbituric Acid Reactive Substances.

TCA : Tri Chlore Acétique (Acide Trichloracétique).

Introduction

Introduction

L'abeille est sans nul doute le pollinisateur le plus connu dans le monde, elle a toujours été une source d'inspiration pour l'homme. Depuis des millénaires ce dernier s'est attelé à étudier les apoïdes. A force d'observations et d'expérimentations, il est arrivé à reproduire le micro climat nécessaire pour le développement des colonies, à domestiquer les abeilles et à en tirer profit.

L'abeille domestique revêt une importance économique et écologique capitale car elle contribue au monde agricole par le maintien de la biodiversité au sein des écosystèmes (**Le Conte et Navajas, 2008**). Elle contribue à la survie et à l'évolution de plus de 80 % des espèces végétales (**Chiron et al., 2009**).

Néanmoins, depuis quelques décennies, l'apiculture traverse une crise sans précédent, dont le signe le plus tangible est la mortalité accrue des colonies d'abeilles, connue sous l'appellation de « syndrome d'effondrement des colonies » (**Oldroyd, 2007**). Ce syndrome est dû à plusieurs facteurs de stress biotique et abiotique, tels que la dégradation des paysages, les produits agrochimiques et les parasites (**Ratnieks et al., 2010**).

Parmi les parasites mis en cause, l'acarien *Varroa destructor*, ce dernier a été identifié comme un facteur majeur responsable du déclin des colonies d'abeilles dans le monde (**Chiron et al., 2009 ; Brodschneider et al., 2010 ; Chauzat et al., 2010 ; Guzmán-Novoa et al., 2010 ; Nazzi et al., 2012**). En effet, la varroase est une maladie grave et contagieuse de l'abeille et de son couvain (**Fernandez et Coineau, 2002**). Elle cause de multiples effets délétères tels qu'une altération du développement des abeilles immatures ainsi qu'une altération de la fonction métabolique (**Bowen-Walker et Gunn, 2001 ; van Dooremalen et al., 2013**), une mortalité hivernale accrue (**Amdam et al., 2004**), une altération de la fonction immunitaire (**Yang et Cox-Foster , 2005 ; Yang et Cox-Foster , 2007 ; Annoscia et al. , 2018**), et une réduction de la tolérance aux pesticides (**Wahl et Ulm, 1983 ; Drescher et Schneider, 1987 ; Blanken et al., 2015**).

En Algérie, la varroase figure sur la liste des maladies à déclaration obligatoire fixé par le décret exécutif n°95-66 du 15 Mars 1995 modifié et complété. Les ravages et les pertes économiques que cause cet ectoparasite nécessitent la mise en place de moyens de lutte drastiques.

En 1954, **Gerschman et al.**, ont été à l'origine d'une avancée majeure dans le domaine de la recherche par la mise en évidence de la toxicité potentielle de l'oxygène pour l'organisme. Leur découverte a été le point de départ de nombreuses études sur les radicaux libres et leurs impacts sur la santé. Depuis lors, la physiologie et les pathologies des organismes vivants ont été étudiées sous un nouveau prisme, celui du stress oxydant.

Des études menées par **Zbigniew et krystyna (2005)**, **Badotra et al., (2013)**, **Gülmez et al., (2016)** ont confirmé que l'infestation par le *Varroa destructor* avait engendré un déséquilibre dans la balance redox (réduction –oxydation) chez les abeilles infestées.

Par ailleurs, **Ramirez et al. (2017)** et **Ramirez et al. (2020)** ont mis en évidence des niveaux accrus du statut antioxydant total et une augmentation de la peroxydation lipidique dans le couvain stressé par le froid.

A présent et à notre connaissance, il n'existe aucune recherche sur l'impact de la force de la colonie sur le stress oxydatif, ou bien une étude sur l'action combinée de la vigueur de la colonie et du parasitisme sur le statut oxydatif des abeilles.

La présente étude a été consacrée à l'évaluation du stress oxydatif chez les nymphes de faux bourdons de l'abeille locale *Apis mellifera intermissa* infestées par le parasite *Varroa destructor*, par le biais de la mesure de la peroxydation lipidique et la mesure de l'activité antioxydante totale. Elle a également pour objectif d'évaluer l'effet de la force de la colonie sur le stress oxydant chez les nymphes de faux bourdons, en ayant recours aux mêmes tests.

Ce document est structuré en deux parties. Tout d'abord, une revue bibliographique divisée en trois chapitres qui abordent des données sur les abeilles et leur fonctionnement, la varroase et la pathogénie du parasite *Varroa destructor*, enfin un aperçu sur le stress oxydatif. La seconde partie est l'approche expérimentale qui comprend deux chapitres, un descriptif du matériel et méthodes utilisées afin de parvenir à l'objectif de la recherche. Un dernier chapitre consacré à l'ensemble des résultats générés par la présente étude ainsi que leurs discussions. L'ensemble est terminé par une conclusion et des perspectives.

Synthèse

Bibliographique

1. L'abeille domestique *Apis mellifera intermessa*

1.1. Généralités

Les abeilles comptent plus de 20 000 espèces dans le monde, ce sont des pollinisateurs d'une valeur écologique et économique inestimable. Le genre *Apis* compte neuf espèces d'abeilles dont *Apis mellifera* qui est la plus répandue en Europe et dans le monde, cette dernière est la plus intéressante pour l'apiculture (Clément et al., 2006).

La nomenclature *Apis mellifera* revient à Carl Von Linné dont la signification est abeille qui porte le miel, par la suite il s'est rendu compte de son erreur qu'en réalité elle ne transporte pas le miel mais le fabrique. Il la rebaptisa en 1761 *Apis mellifica*, l'abeille qui fabrique le miel. Toutefois dans les règles de la nomenclature c'est le premier nom qui a été donné qui est conservé, c'est donc la dénomination *Apis mellifera* qu'il faut utiliser pour l'abeille domestique ou abeille mellifère (Marchenay et Bérard, 2007).

1.2. Classification

Au fil des siècles, l'abeille domestique a fasciné les chercheurs et les philosophes comme Aristote, de sorte que de nombreuses classifications ont été proposées ; dont celle de Carl Von Linné, d'après ce dernier les abeilles appartiennent à l'ordre des hyménoptères qui comprend au moins 250 000 espèces et inclut presque tous les insectes sociaux sauf les termites (Phillipe, 1994). Néanmoins, la plus récente est celle d'Adam (2010). (Tableau I)

Le genre *Apis* compte traditionnellement quatre espèces seulement, à savoir *Apis mellifera*, *Apis dorsata*, *Apis florea* et *Apis cerana*, mais on reconnaît aujourd'hui d'autres espèces proches parentes de celles-ci.

Tableau I: Position de l'abeille au sein du règne animal (Adam, 2010).

Embranchement	Arthropode	Super-famille	Apioide
Sous-embranchement	Antennate ou Mandibulate	Famille	Apidae supérieur
Classe	Insecte	Sous-famille	Apinae
Ordre	Hyménoptère	Tribu	Apini
Sous-ordre	Apocrite	Genre	<i>Apis</i>
Infra-ordre	Aculéate	Espèce	<i>Apis mellifera L</i>

1.3. Caractéristiques

L'abeille algérienne de la lignée Africaine est représentée par l'abeilles tellienne *Apis mellifera intermissa* en référence à son aire naturelle le Tell (**Buttel-Reepen, 1906**) et l'abeille saharienne *Apis mellifera sahariensis* (**Baldensperger, 1924**).

La race *Apis millefera intermissa* est la plus répandue et son aire de répartition s'étend sur toute l'Afrique du Nord entre l'atlas et les deux côtés de l'atlantique et de la méditerranée (2500 km) (**Ruttner, 1988**). Elle se rencontre au Maroc, en Algérie, en Tunisie, et même en Libye (**Le conte, 2015**).

Les abeilles africaines ont une forte tendance à essaimer, c'est un comportement indésirable pour l'élevage mais lui permet de combattre l'infestation par le varroa (**Fries et al., 2003 ; Wilde et al., 2005 ; Allsopp, 2007**). Par ailleurs, cette espèce présente des qualités telles que la prolificité, la tendance à faire beaucoup de couvain (**Adam, 1985; Winston, 1993**).

Apis mellifera intermissa est dotée d'une double détection visuelle et auditive très importante, une maîtrise parfaite de la bonne orientation à la recherche du nectar et du pollen (**Adam, 1987 ; Chouchaine et al., 2015**), et une forte puissance de vol. L'abeille tellienne est réputée pour son agressivité et sa capacité à produire de grandes quantités de propolis (**Ruttner, 1988**).

1.4. Les castes d'abeilles

Une ruche comporte généralement entre 20 000 et 80 000 abeilles en fonction de la saison. La colonie se compose d'une reine, de plusieurs centaines de faux-bourdon (les mâles), et d'ouvrières, qui constituent le reste de l'effectif (**Biri, 2010 ; Lacube, 2015**).



Figure 1: La reine
(Original, 2022).



Figure 2: Le faux bourdon
(Original, 2022).



Figure 3: Les ouvrières
(Original, 2022).

1.4.1. La reine

La reine est l'individu le plus grand de la ruche. Elle a un corps longiligne, avec un abdomen bien développé, en raison de ses organes reproducteurs très élaborés lui permettant d'assurer sa principale fonction qui est la ponte. (Figure 1)

En effet ; La reine est la mère de toute la colonie ; les œufs qu'elle dépose peuvent être fécondés ou non, ceux fécondés donneront des femelles, les autres donneront des mâles (**Waring, 2014**).

Selon (**Jacobs et al., 2005**), la capacité maximale de ponte d'une reine est d'environ 2000 œufs par jour. La durée de vie d'une reine peut atteindre quatre à cinq années ; cette longévité étant due au fait qu'elle soit alimentée exclusivement de gelée royale produite par les abeilles ouvrières nourrices. La seconde fonction de la reine est la production d'une phéromone particulière qui contribue à donner une identité et une cohésion à la ruche (**Bacher et Merle, 2016**).

1.4.2. Les faux-bourçons

Les mâles ont un corps trapu avec un abdomen volumineux à cause de la présence de testicules bien développés. Contrairement aux femelles, leurs yeux sont quasiment jointifs sur le dessus de la tête et leur langue est courte (**Ayme, 2014**). (Figure 2)

Leur seul rôle connu est la fécondation de la reine, au cours de son "vol nuptial". Ils sont présents en grand nombre dans les colonies au printemps et en été. Ils ne possèdent pas de dard et ne peuvent se nourrir seuls à cause de leur trompe trop courte et se sont donc les ouvrières qui les alimentent.

1.4.3. Les ouvrières

Selon **Ravazzi, (2007)** les ouvrières constituent la caste la plus importante car elles représentent la majeure partie de la colonie. Elles se distinguent facilement des autres castes par leur petite taille. (Figure 3)

la répartition des tâches au sein d'une colonie repose sur le principe de polyéthisme lié à l'âge. les ouvrières peuvent exercer jusqu'à 7 tâches différentes adaptées en fonction de la maturité physiologique de l'abeille mais certaines n'exerceront pas tous les rôles. Selon les

besoins de la colonie les ouvrières peuvent rapidement changer de fonctions indépendamment de leur âge (**Harvell, 1994; Nicholas et Calderone, 1998**).

Ainsi ,elles sont d'abord nettoyeuses juste après la naissance , puis deviennent nourrices , après elle deviennent bâtisseuse puis manutentionnaires,ventileuses puis gardiennes pour finir buteuses (Figure 4)

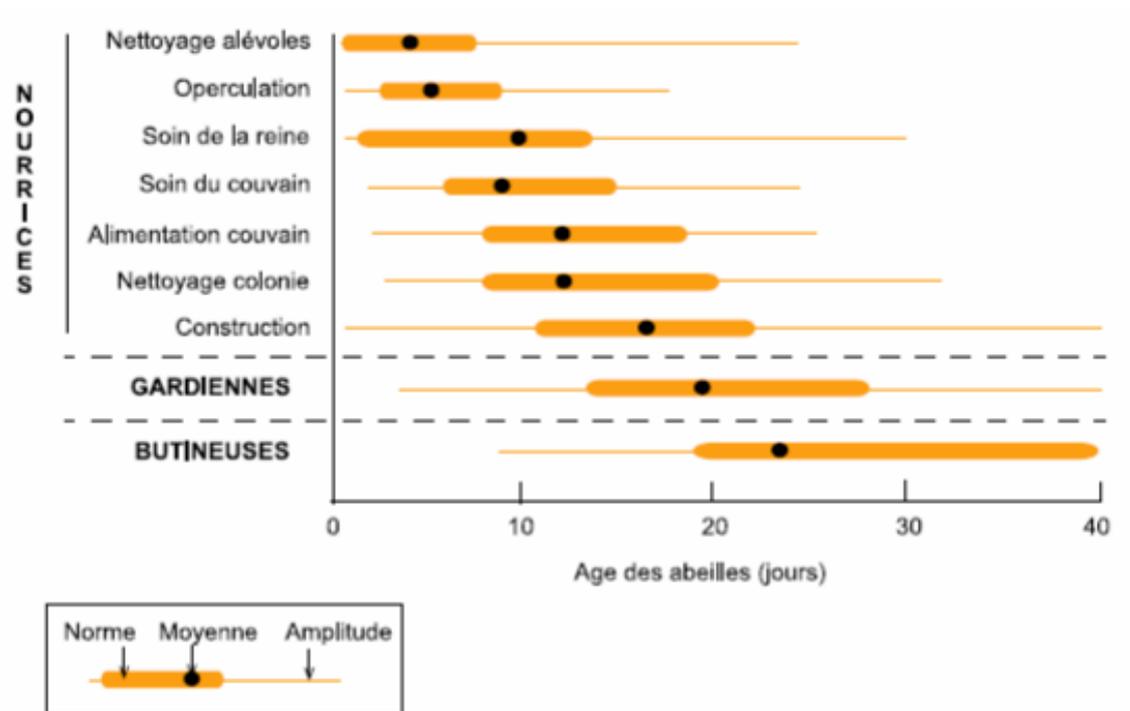


Figure 4: Polythéisme d'âge des ouvrières (Adapté de Wilson, 1971).

1.5. Le cycle de développement de l'abeille

Les abeilles sont des insectes holométaboles, le cycle de développement de chaque caste passe par une série de stades : œuf, larve, nymphe et imago. La durée du cycle varie en fonction de la caste, elle est de 16 jours pour la reine, de 21 jours pour les ouvrières et de 24 jours pour les faux-bourçons (**Adam, 2010**). Ces durées varient en fonction de facteurs environnementaux comme la température, l'humidité, et la nutrition du couvain (**Winston, 1993 ; Aymé, 2014**). (Figure 5)

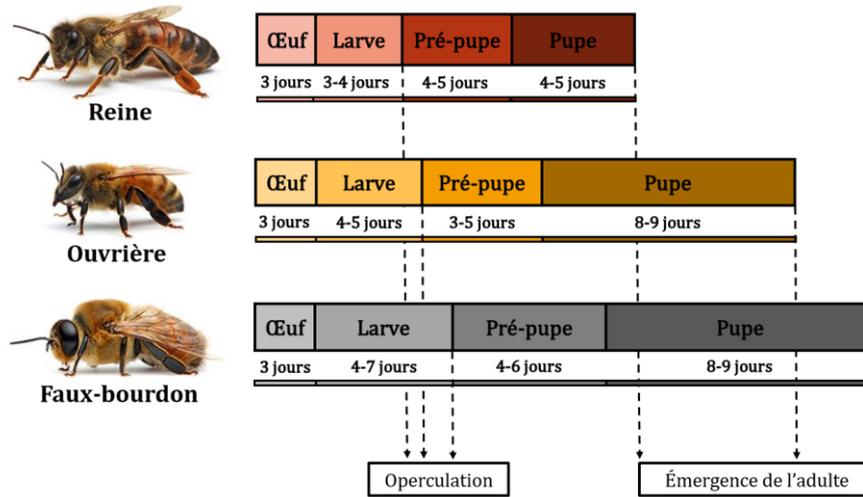


Figure 5: Cycle de développement des trois castes de l’abeille mellifère *Apis mellifera* (Adapté par Winston, 1987).

1.6. Les principales pathologies des abeilles

Les abeilles sont la cible de plusieurs pathogènes provoquant des maladies graves avec de grosses pertes économiques et pouvant potentiellement induire une dissémination de plusieurs colonies. Nous avons synthétisé dans le tableau ci-dessous les maladies les plus rencontrées en indiquant l’agent causal de la pathologie ainsi que le tropisme de ce dernier.

Tableau II: Synthèse des principales maladies des abeilles à partir de (Binon et Diel , 2013; Ballis, 2016; Boucher, 2016)

	La maladie	L’agent causal	Stade d’infestation principal	
			Couvain	Adulte
Principales maladies bactériennes	La loque américaine	<i>Paenibacillus larvae</i>	X	
	La loque européenne	<i>Melissococcus plutonius</i>	X	
Principales maladies virales	Le virus de la paralysie chronique ou la maladie noire	CBPV: <i>Chronic Bee paralysis virus</i>		x
	Le virus du couvain sacciforme	SBV : <i>Sacbrood virus</i>	X	
	Le virus des ailes déformées	DWV : <i>Deformed wing virus</i>	X	x
Principales maladies parasitaires	La varroase	<i>Varroa destructor</i>	X	x
	La nosérose	<i>Nosema apis</i> ou <i>Nosema ceranae</i>		x
	L’acariose des trachées	<i>Acarapis woodi</i> ou <i>Tarsonémidé</i>	X	x
	L’acariose du couvain ou <i>Tropilaelaps</i>	<i>Tropilaelaps clareae</i> ou <i>T. koenigerum</i>	X	
	L’amibiase des tubes de Malpighi	<i>Malpighamoeba mellificae</i>		x
	« pou » des abeilles	<i>Braula coeca</i>		x
Principales	L’aspergillose ou couvain pétrifié	<i>Aspergillus Flavus</i>	X	

maladies mycosiques	L'ascosphérose ou couvain calcifié	<i>Ascosphaera apis</i>	X	
Principales maladies environnementales	Les intoxications	plantes et fleurs toxiques	X	x
		les pesticides	X	x
Principaux ennemis d'<i>Apis millefera</i>	La grande fausse teigne	<i>Galleria mellonella</i>	X	x
	La petite fausse teigne	<i>Acroea alvearia</i>	X	x
	Le frelon asiatique	<i>Vespa velutina</i>		x
	Le petit coléoptère	<i>Aethina tumida</i>		x

2. La varroase

La varroase est une maladie parasitaire des abeilles adultes et de couvain elle est causée par un acarien parasite externe hématophage, *Varroa destructor* (Anderson et Trueman, 2000). Le *Varroa destructor* est considéré comme l'un des ravageurs le plus dévastateur des ruches, causant d'énormes pertes aux abeilles mellifères et une grande perte économique pour l'industrie apicole dans le monde entier (Dietemann et al., 2013). Le varroa s'introduit dans les alvéoles de faux-bourçons et d'ouvrières peu de temps avant l'operculation. La reproduction de l'acarien a lieu exclusivement dans le couvain operculé.

Le Varroa est responsable d'une épizootie chez *Apis mellifera* depuis son transfert de l'abeille asiatique, son hôte original *Apis cerana*, (Rosenkranz et al., 1993).

Il a été découvert pour une première fois en Indonésie (sur l'île de Java) par Edward Jacobson en 1904, et décrit par le hollandais Oudemans d'où le nom scientifique : *Varroa jacobsoni* oudemans. Selon, Giovenazzo et al. (2011) Les deux espèces pathogènes les plus connues de la varroase sont : *Varroa jacobsoni*; cible l'*Apis cerana* et *V. destructor*; cible l'*Apis Mellifera*. Le varroa a été détecté en Algérie pour la première fois en 1981, dans la coopérative apicole d'Oum Theboul à El Kala (Belaid et Doumandji, 2010).

2.1. L'agent causal « *Varroa destructor* »

Le *Varroa destructor* est un acarien méso stigmaté visible à l'œil nu. C'est un ectoparasite obligatoire (ne peut se développer que chez l'abeille) se déplace d'une colonie d'abeilles à une autre, transporté par les abeilles (Nicolas, 2011).

2.2. Classification

Selon Anderson et Trueman (2000), le *Varroa destructor* est classé comme suit :

Règne :	Animalia	Sous-ordre :	Monogynaspida
Embranchement :	Arthropoda	Cohorte :	Gamasina
Sous-embranchement. :	Chelicerata	Sous-cohorte :	Dermanyssiae
Classe :	Arachnida	Super-famille :	Dermanyssoidea
Sous-classe :	Acari	Famille :	Varroidae
Super-ordre :	Parasitiformes	Genre :	Varroa
Ordre :	Mesostigmata	Espèce :	<i>Varroa destructor</i>

2.3. Description du *Varroa destructor*

Durant le développement du parasite on distingue deux formes, les formes immatures et les formes matures. (Figure 6)

2.3.1. Les formes immatures

Elle englobe l'œuf, la larve, la protonympe et la deutonympe.

- **L'œuf :** L'œuf est blanc de forme ovoïde. Il mesure environ 300 µm de long et 230 µm de large.
- **La larve :** L'éclosion de l'œuf après 24 h donne une larve inactive, immobile, de forme sphérique et de 0.5mm de diamètre.
- **La protonympe :** De couleur blanche, mobile, capable de percer la larve ou la nymphe et de se nourrir d'hémolymphe.
- **La deutonympe :** prend l'aspect général propre à son sexe. (Robaux, 1986).

2.3.2. Les formes matures

Les formes matures présentent un dimorphisme sexuel important et leur biologie est complètement différente.

- **Les femelles :** elles sont diploïdes ($2n=14$) issues d'œufs fécondés (Akimovia et al., 1986). L'adulte de forme elliptique mesure environ 1.6 mm de large sur 1.1 mm de long, de couleur brun foncé (Cardinaux, 1995). Étant presque deux fois plus grande que le mâle, la femelle adulte est facilement observable sur le corps des abeilles, elle est dite fondatrice.

- **Les mâles :** ils sont haploïdes ($n=7$), produits par parthénogénèse arrhénotoque, donc issue d'œufs non fécondés (Akimovia et al., 1986) ils présentent une coloration blanche à jaunâtre.

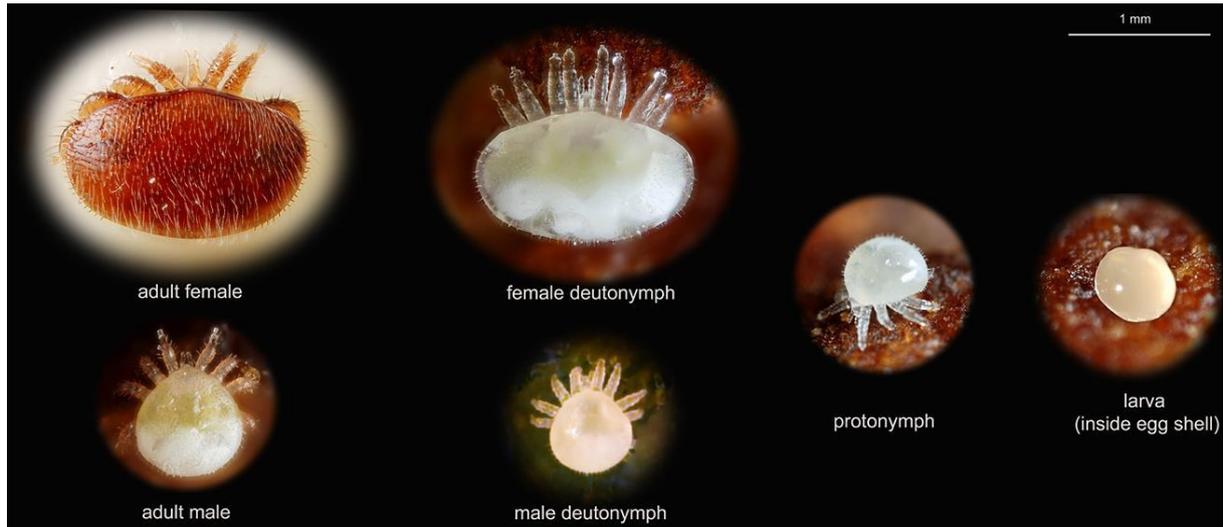


Figure 6: Les différents stades de développement du *V. destructor* (Rosenkranz et al., 2010)

2.4. Cycle de reproduction du varroa

Le cycle de reproduction du varroa passe par 2 phases successives, la phase reproductrice et la phase phorétique (Rosenkranz et al., 2010) (Figure 7).

2.4.1. Phase reproductrice

La femelle fondatrice quitte l'ouvrière qui la transporte et se glisse sous la larve 20 heures avant l'operculation des cellules chez les ouvrières et 40h chez les faux bourdons (Boot et al., 1992). Les varroas ont une attirance pour le couvain de mâle leur permettant une meilleure reproduction (3 jours de plus), 5 œufs sont pondus dans une cellule de couvain d'ouvrière et un œuf de plus peut être pondu dans le couvain de faux-bourdon (Martin, 1994 ; Rosenkranz, 2003). Dès que la larve d'abeille s'est immobilisée, la ponte commence à raison d'un œuf par 36 heures. Les femelles varroas naissent à 8/9 jours après la ponte, les mâles naissant 24 heures plus tôt et meurent après avoir fécondé leurs sœurs. A l'émergence des imagos, la fondatrice et ses filles les accompagnent. (Figure 8 B/8C)

2.4.2. Phase phorétique

Au cours de cette phase la femelle fondatrice se trouve sur les abeilles adultes, elle préfère s'accrocher sur le côté gauche de l'abeille et principalement entre les tergites abdominaux 2 et 3 (Delfinado-Baker et al., 1992). C'est aussi la phase où le parasite peut se propager entre les colonies et au sein de la même ruche et le cycle recommence. (Figure 8 A)

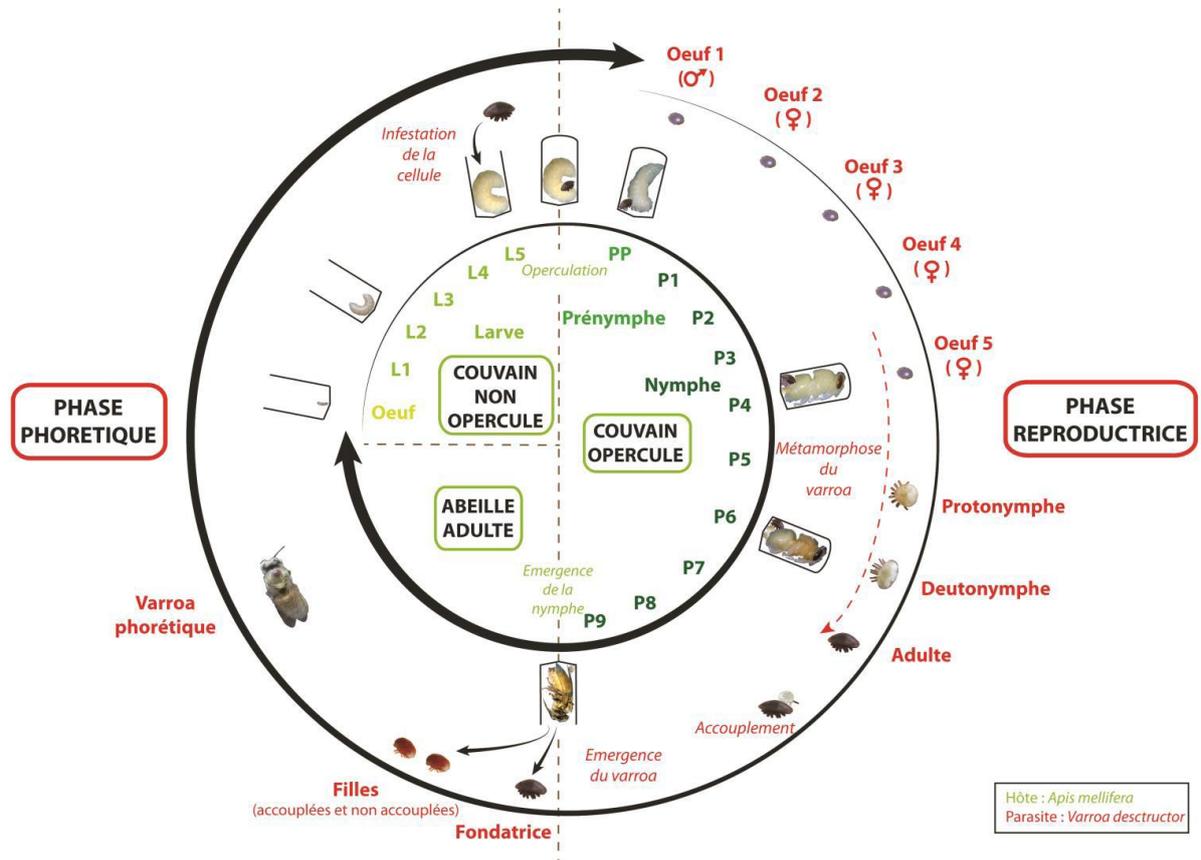
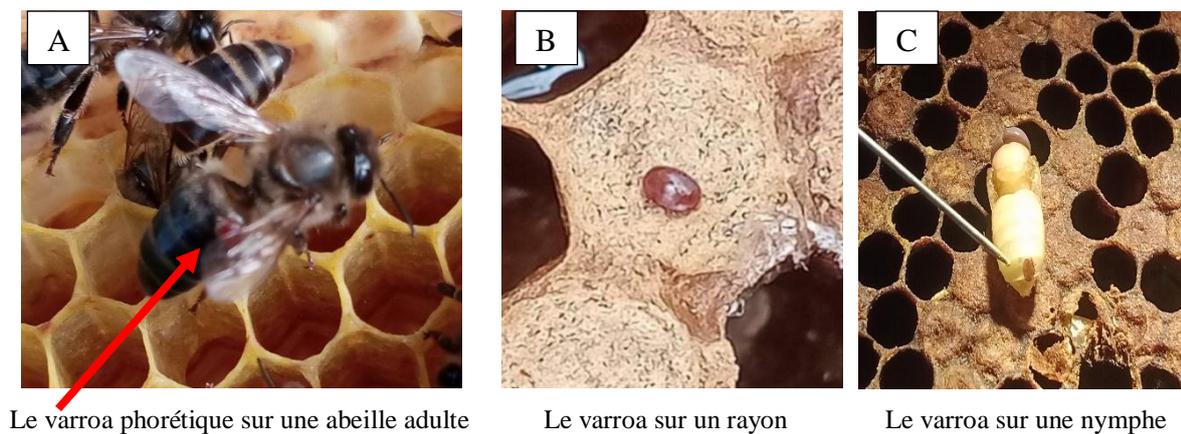


Figure 7: Représentation schématique du cycle de développement du varroa, en synchronisation avec le cycle de développement de l'abeille domestique (Mondet et al., 2016).



A Le varroa phorétique sur une abeille adulte

B Le varroa sur un rayon

C Le varroa sur une nymphe

Figure 8: Les différentes phases de développement du varroa A :phase phorétique , B et C:phase reproductive (Original, 2022)

2.5. Pathogénie

Le *Varroa destructor* est un stresser majeur, il a des effets sur l'individu et sur la colonie d'abeilles, il agit sur les adultes et sur le couvain, ce qui conduit à nombreuses altérations physiques et physiologiques par diverses actions : spoliatrice, mutilante, vectrice de virus (Tentcheva et al., 2004) et immunosuppressive (Yang et Cox-Foster, 2005).

2.5.1. Action mécanique

Les abeilles parasitées par un ou plusieurs varroas phorétiques se trouvent gênées dans l'accomplissement de leurs tâches habituelles et leurs activités dans la ruche. En effet, elles présentent un comportement altéré à cause du poids supplémentaire du parasite, ce qui entraîne une diminution de leur capacité de vol (Fernandez et Coinneau, 2007), et une augmentation de la perte des ouvrières durant le butinage (Kralj et Fuchs, 2006).

2.5.2. Action spoliatrice

Faucon, (2003) rapporte que les femelles varroa adultes percent la cuticule de larves, nymphes et abeilles adultes pour se nourrir de l'hémolymphe. Néanmoins, des études récentes de Ramsey et al., (2019) ont montré que le varroa se nourrit des corps gras ce qui engendre une régression de ces derniers, entraînant des réductions de la teneur en protéine et d'environ 30% du poids des jeunes abeilles à l'émergence (Weinberg et Madel, 1985) (Figure 9.A). Chez les faux bourdons le varroa altère la spermatogénèse. En effet le nombre de spermatozoïdes est réduit chez ces derniers (Duay et al., 2002).

2.5.3. Action vectrice

Le *V destructor* diminue l'immunité des abeilles et les sensibilisent aux attaques des autres pathogènes. L'infestation par ce parasite est souvent associée à la transmission ou à l'augmentation des charges virales (Bowen-Walker et Gunn, 2001). Le virus DWV, responsable de la déformation des ailes est généralement transmis par le *Varroa destructor*

(Bowen-Walker *et al.*, 1999 ; Annoscia *et al.*, 2018) (Figure 9 B), il le transmet directement dans le milieu intérieur de l'abeille lors de sa nutrition.

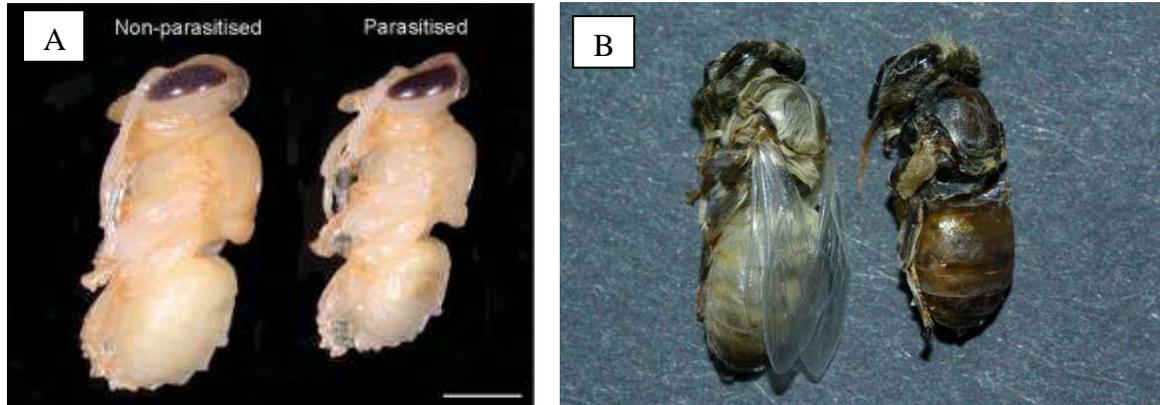


Figure 9: Dommages physiques dus à une infestation par le varroa au stade nymphal

A: Réduction du poids des nymphes (Mondet *et al.*, 2016),

B: Abeille saine (à gauche) et abeille parasitée par Varroa (à droite) peu de temps avant l'éclosion (Charrière *et al.*, 2012).

2.6. Symptômes de la Varroase

Le tableau clinique de la varroase est très diversifié, les symptômes pathognomoniques de cette parasitose sont : la présence des varroas sur les abeilles adultes (varroa phorétique), la mortalité importante des larves et nymphes due à la pression parasitaire ainsi que l'émergence d'ouvrières et de faux bourdons avec des ailes déformées et /ou un abdomen raccourci (Ballis, 2013).

2.7. Méthodes de lutte contre la Varroase

Afin de faire face à la propagation du parasite dans une colonie d'abeilles, des méthodes de lutte biologique, biotechnique ainsi que des molécules chimiques peuvent être utilisées (Habbi *et al.*, 2019). (Tableau III)

Tableau III : Synthèse des Moyens de lutte contre le parasite *Varroa destructor* et les traitements acaricides actuellement utilisés, à partir de (Houle, 2004; Rosenkranz *et al.*, 2010 ; Balis, 2013 ; Breton, 2016).

Lutte chimique «Acaricides synthétiques»		Lutte biologique «Acaricides naturels»		Lutte biotechnique «Méthodes mécaniques»
Matière active	Nom commercial	Matière active	Nom Commercial	
Amitraze	-Apivar®	- Thymol	Apiguard® Thymovar®	-Planchers intégralement grillagés. - Planchers intégralement graissés (feuille blanche). - Piégeage de varroa dans des cadres mâles. - Poudrage des abeilles (sucre en poudre). - Un comptage précis sur la chute des varroas. -Blocage de ponte de la reine. -Formation de jeunes nucléi. -Sélection de souches Tolérantes .
Tau-fluvalinate	-Apistan® -Klarton®	-Thymol, Eucalyptol, Menthol et Camphre	ApiLifeVar®	
Fluméthrine	-Bayvarol®	- Application des acides organiques		
Organo-phosphate Coumaphose	-Perizin®	L'Acide oxalique	DiffuseurMAQs®	
	-Checkmite®	L'Acide formique	Api-Bioxal® OxyBee®	
	-Asuntol®	L'Acide lactique		
		- Application des huiles essentielles		
		- Acaricides naturels (l'ail, l'ortie,...)	montocaross®	

2.8. Résistance de l'abeille au varroa

La tolérance naturelle de certaines sous espèces d'abeilles de la lignée Africaine et ses hybrides pourrait être expliquée par différents paramètres naturels (Calderón *et al.*, 2010) :

Le comportement hygiénique est divisé en trois étapes : la reconnaissance du couvain malade (larve ou nymphe), la désoperculation, et le nettoyage de l'alvéole (Panasiuk *et al.*, 2009). Les études de Behrens *et al.*, (2011) indiquent que des dizaines de gènes semblent impliqués dans l'olfaction des abeilles hygiéniques qui discriminent mieux les couvains malades et les évacuent rapidement. L'élimination des larves d'abeilles malades provoquent la mort des *V. destructor* immatures. (Figure 10)

Le comportement d'épouillage ou de toilettage est un mécanisme qui permet à l'abeille d'éliminer une partie des varroas phorétiques, soit sur elle-même (auto-toilettage), soit sur une de ses consœurs (allo-nettoyage) (Boecking et Spivak, 1999 ; Fernandez et al., 2007 ; Dadoune et al., 2020).

Un autre mécanisme de résistance au varroa est la diminution de la fertilité de ce dernier (Martin et al., 1997), c'est-à-dire que les varroas auraient de la difficulté à se reproduire lors de l'invasion subséquente d'une cellule de couvain (désoperculation/ réoperculation). En effet, la manipulation du couvain par les ouvrières pourrait désynchroniser le cycle reproducteur de parasite avec celui de l'abeille ce qui engendre ainsi une baisse de fertilité ultérieure du varroa (Kirrane et al., 2011).

La réduction de la longueur de la période de post-operculation peut jouer un rôle dans la résistance au varroa (Büchler et Drescher, 1990 ; Rasolofoaivao, 2014).



Figure 10: Le comportement hygiénique de l'abeille (Le Conte, 2015)

1. Le stress oxydatif

3.1. Définition du stress oxydatif

Reuter et al. (2010), définissent le stress oxydatif comme étant un déséquilibre entre la production de radicaux libres et de métabolites réactifs, que l'on appelle des oxydants ou des espèces réactives de l'oxygène (ERO), et leur élimination par des mécanismes de protection, dénommés antioxydants. Il se développe lorsque les radicaux libres et les molécules oxydantes sont produits plus rapidement qu'ils ne peuvent être neutralisés par l'organisme (Tremellen, 2008). (Figure 11)

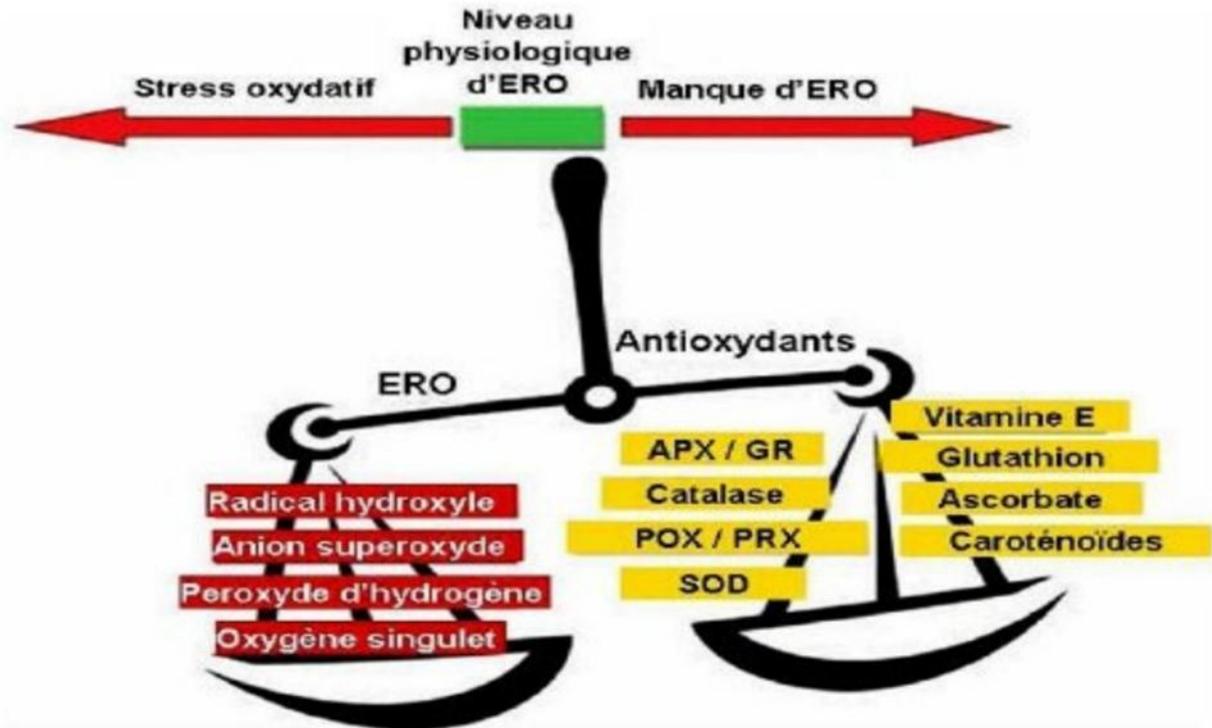


Figure 11: Schématisation de la balance entre les espèces réactives oxygénées ERO et les antioxydants (Pourrut, 2008).

3.2. Les radicaux libres et les espèces réactives de l'oxygène ERO

3.2.1. Les radicaux libres

Les radicaux libres sont des espèces chimiques (atomes, molécules et ions), qui possèdent un ou plusieurs électrons libres qui leur confère une réactivité vis-à-vis d'autres molécules en leur arrachant un électron (Lushchak, 2014) et en les transformant à leur tour en molécules radicalaires (Miranda-Vilela et al., 2010). Les radicaux libres sont des composés instables ayant des durées de vie le plus souvent extrêmement courtes, et sont, par là même, difficiles à identifier et à quantifier (Vergely et Rochette, 2003). Les ERO, également appelés ROS (reactive oxygen species) et les ERA espèces réactives à l'azote (NOS nitrogene reactive species) sont des termes utilisés collectivement pour l'ensemble des radicaux libres (Pham-huy et al., 2008).

3.2.2. Les espèces réactives à l'oxygène ERO

Les espèces réactives à l'oxygène (ERO) sont des espèces chimiques oxygénées telles que les radicaux libres, ions oxygénés, peroxydes, rendues chimiquement très réactives par la présence d'électrons de valence non appariés dans l'orbite la plus externe. L'équilibre est

rétabli soit par oxydation (perte de cet électron libre) ou par réduction (gain d'un autre électron). Le caractère radicalaire de la molécule ne disparaît pas, l'électron libre peut passer sur d'autres molécules, c'est le phénomène d'oxydation en chaîne (**Bensakhria, 2018**).

3.3. Les principales espèces réactives à l'oxygène

La réactivité des radicaux de l'oxygène varie selon la nature du radical. Ainsi parmi les radicaux formés chez les êtres vivants, l'anion radicalaire superoxyde (O_2°) comme le monoxyde d'azote (NO°) ne sont pas très réactifs, mais constituent des précurseurs d'autres espèces plus réactives. Par contre, des radicaux comme les radicaux peroxydes (ROO°) ou surtout le radical hydroxyle (HO°) sont extrêmement réactifs, et ce avec la plupart des molécules des tissus vivants (**Favier, 2003**).

Tableau IV : les principales espèces réactives (**Mac Laren, 2007**).

Espèces oxygénées réactives (ERO)	Formule chimique
Radical superoxyde	O_2°
Radical hydroperoxyde	H_2O°
Peroxyde d'hydrogène	H_2O_2
Radical hydroxyle	OH°
Oxygène singulet	1O_2
L'ozone	O_3
Espèces réactives de l'azote (ERA)	Formule chimique
Monoxyde d'azote	NO°
Dioxyde d'azote	NO_2°
Peroxyneutre	$ONOO-$

3.4. Origine du stress oxydatif

La production des radicaux libres peut être d'origine endogène notamment pendant le métabolisme normal, principalement lors des réactions de détoxifications médiées par le cytochrome P-450, au niveau de la chaîne mitochondriale de transport d'électron.

Les cellules immunitaires peuvent également être à l'origine de la production de radicaux libres. En effet, la stimulation des neutrophiles et des macrophages génère l'oxygène singulet par des réactions qui impliquent la NADPH oxydase (**Steinbeck et al., 1993**).

De même, il existe des systèmes enzymatiques qui dans les conditions normales ou physiopathologiques, sont capables de produire de l'O₂[°] et ses dérivés. Ces systèmes enzymatiques sont : la NADH/NADPH oxydase, la lipoxygénase, la glucose oxydase, la myéloperoxydase et la xanthine oxydase (**Wassman et al.,2004**). **Wulf, (2002)** considère La production des radicaux libres par la xanthine oxydase comme la principale source du stress oxydant dans certaines conditions pathologiques.

Les radicaux libres peuvent également avoir une origine exogène tels que les radiations, les métaux toxiques, les fumées de combustion, les médicaments,...etc (**Woodside et Young, 2001**).

3.5.Les cibles biologiques des ERO

Les espèces réactives oxygénées ERO peuvent engendrer des dommages importants dans la structure et le métabolisme cellulaire en dégradant de nombreuses cibles : les acides nucléiques les protéines, et les lipides, (**Pincemail et al.,1999 ; Cadenas et Davies, 2000**). (Figure 12)

3.5.1. L'acide désoxyribonucléique ou ADN

L'ADN est une cible privilégiée pour les ERO, il est particulièrement sensible au radical OH (radical hydroxyle). Les ERO réagissent avec les nucléotides, Ils peuvent mener par exemple à des modifications des bases azotées, à la fragmentation de l'ADN, à des ruptures de brins ou à des pontages entre des bases (**Kadiiska et al., 2005**).

3.5.2. Les protéines

Les acides aminés sont ciblés par les ERO. Toute attaque radicalaire provoque de la fragmentation de chaînes polypeptidiques, de l'oxydation de certains acides aminés ou de l'interaction de leur chaîne latérale avec des produits de la peroxydation lipidique (**Levine, 2002**). Ces modifications sont des réactions irréversibles, l'oxydation de certaines protéines conduisent à une perte de fonction catalytique dans le cas de nombreuses enzymes cellulaires ou structurale dans le cas des protéines de transport qui deviennent inactivées puis sensibles aux protéases (**Bernhard, 2001**).

3.5.3. Les lipides

Les acides gras polyinsaturés (AGPI) sont aussi la cible majeure de l'attaque radicalaire (ERO), en raison de leurs hydrogènes bis allyliques facilement oxydables (**Beckman et Ames, 1998 ; Lehucher-Michel et al, 2001**). L'oxydation des lipides est appelée la peroxydation lipidique, au cours de ce processus, les (AGPI) présents dans les membranes plasmiques forment de très nombreux produits primaires et secondaires qui provoquent une altération de la fluidité membranaire et par conséquent la mort cellulaire (**Murphy, 1996 ; Favier, 2003 ; Galila et al., 2012**).

3.5.4. Les lipoprotéines

Les lipoprotéines attaquées par les ERO libèrent leurs lipides en aboutissant à la formation des LDL (lipoprotéines de densité légère) oxydés, qui seront captées par des récepteurs spécifiques les macrophages (**Favier, 2003 ; Haleng, 2007**).

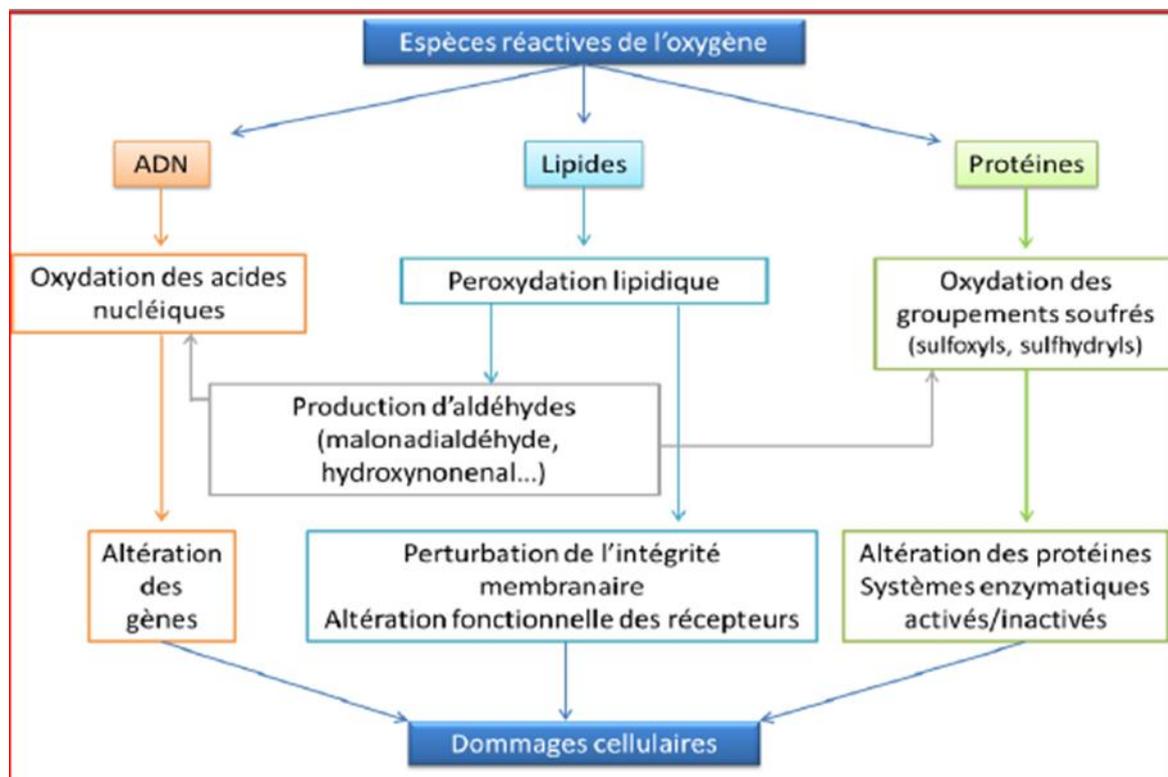


Figure 12: Les différentes cibles biologiques des espèces réactives de l'oxygène (**Poisson, 2013**)

3.6. Les défenses antioxydantes

Pour se protéger des effets délétères des ERO, l'organisme dispose d'un ensemble complexe de défenses anti oxydantes. Ces dernières sont définies par **Halliwell (1999)** comme « toute substance qui, en faible concentration par rapport au substrat susceptible d'être oxydé, prévient ou ralentit l'oxydation de ce substrat ». La source de ces défenses antioxydantes peut être exogène ou endogène.

3.6.1. Source d'antioxydants exogène (alimentation)

Les antioxydants peuvent provenir des aliments. La vitamine C (acide ascorbique), la vitamine E (tocophérol), les caroténoïdes, l'ubiquinone, les flavonoïdes, le glutathion ou l'acide lipoïque sont des antioxydants par excellence.

3.6.2. Source d'antioxydants endogène

Les antioxydants endogènes se retrouvent sous plusieurs formes :

- Enzymes produites par l'organisme (**Baba et McGrath, 2008**), elles sont considérées comme la première ligne de défense de notre organisme contre les radicaux libres (**Chavan et Melinkeri, 2013**). Les enzymes antioxydantes les plus importantes identifiées dans les fluides corporels des abeilles sont le super oxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT), le glutathion S transférase (GST) et la peroxydase (**Weirich et al., 2002 ; Collins et al., 2004 ; Collins et al., 2006**).
- Protéines, principalement la ferritine, la transferrine, la céruléoplasmine et l'albumine.
- Systèmes de réparation des dommages oxydatifs comme les endonucléases.
- les oligoéléments comme le sélénium, le cuivre et le zinc qui sont des cofacteurs d'enzymes antioxydantes (**Haleng et al., 2007**).

Matériel

et

Méthodes

1. Matériel

1.1. Matériel biologique

Dans la présente étude, des nymphes de faux bourdons *Apis mellifera intermissa*, stade p 6 (Yeux violets foncés Thorax jaune) issues de deux ruchers ont été utilisées pour évaluer le niveau de stress oxydatif de chaque catégorie.

Le premier rucher se trouve à Mezgoug (Chemini, Béjaia), il se caractérise par des colonies fortes (ruche mère de 10 cadres+ hausse). Le second se situe à Taghrast toujours à Chemini dans la wilaya de Béjaia, les colonies de cette dernière localité sont faibles (essaims de l'année à 4 cadres).

1.2. Matériel de terrain

Pour faciliter notre travail sur le terrain, nous avons utilisé le matériel suivant : des ruches avec des cadres de couvain fermé (Figures 13 et 14), un enfumoir, un lève cadre, une brosse, une tenue de protection apicole, des pinces entomologiques, des aiguilles, des boîtes de pétrie, des boîtes en plastique, un lit de glace, une glacière.



Figure 13: Ruche située à Mezgoug (colonie forte) (Original, 2022)



Figure 14: Ruche située à Taghrast (colonie faible) (Original, 2022)

1.3. Matériel de laboratoire

Afin de réaliser nos expérimentations nous avons utilisé des béchers, des flacons, des tubes à hémolyse, des tubes à essai en verre, des micro pipettes, des cuves en plastique, du papier absorbant, un mortier et un pilon en porcelaine (Figure 15), une balance précise (Figure 16), une plaque magnétique (Figure 17), un barreau magnétique, une centrifugeuse réfrigérée (Figure 18), un bain marie, un spectrophotomètre.



Figure 15 : Mortier et pilon en porcelaine (Original, 2022)



Figure 16 : Balance de précision (Original, 2022)



Figure 17 : Plaque magnétique (Original, 2022)



Figure 18: Centrifugeuse réfrigérée (Original, 2022)

1.4. Produits chimiques et réactifs

Lors de nos expérimentations nous avons utilisé différents réactifs, nous les avons résumés dans le tableau (Tableau V)

Tableau V: Liste des produits chimiques utilisés

	Préparation de la solution tampon PBS	Test TBARS	Test ABTS
Produits chimiques	-NaCl (137 m mol) -Kcl (2.7 m mol) -KH ₂ PO ₄ (10 m mol) -Na ₂ PO ₄ (1.76m mol) -Eau distillée	-TCA (30%) -TBA (0.1%) -EDTA (0.1mol/l)	-ABTS (7 n mol) - K ₂ S ₂ O ₈ (2.45 n mol)

1.5. Logiciel de statistiques StatView

Ce logiciel nous a permis de traiter les résultats obtenus lors des différents tests, nous avons calculé les moyennes, les erreurs standard et nous avons effectué le test de student.

2. Méthodes

2.1. Prélèvement des échantillons

Le principe consiste à prélever aléatoirement des nymphes de faux bourdons du stade p6 (Yeux violets foncés Thorax jaune) saines et infestées par le *Varroa destructor* à partir de colonies fortes et d'autres nymphes de faux bourdons à partir de colonies faibles.

Pour se faire, nous avons secoué les cadres de couvain fermé au-dessus des ruches pour y faire tomber les abeilles qu'ils contenaient, nous avons désoperculé les alvéoles avec des pinces entomologiques. Au total 240 nymphes (50% nymphes non infestées et 50% nymphes infestées) ont été retirées délicatement puis immédiatement transférées dans des boîtes posées sur un lit de glace pour les préserver d'un éventuel stress oxydatif puis ces mêmes boîtes sont fermées hermétiquement et transportées dans une glacière jusqu'au laboratoire où elles sont conservées au congélateur à -4°C (Figure19)



Figure 19:Prélèvements de nymphes de faux bourdons (Original, 2022)

2.2. Préparation de la solution tampon salin PBS (phosphate-buffered saline)

Le PBS est une solution tampon , elle imite la concentration ionique, l'osmolarité et le pH des fluides corporels. Nous l'avons utilisé lors de la préparation des échantillons car il n'est pas susceptible de provoquer des dommages cellulaires, une toxicité ou des précipitations indésirables.

Pour la préparation d'un litre de PBS nous avons utilisé : 8 g de chlorure de sodium (NaCl) à 137m mol, 0,2 g de chlorure de potassium (KCl) à 2.7 m mol, 1,42 g d'hydrogène phosphate de sodium (Na_2HPO_4) à 10 m mol et 0,24 g de phosphate mono potassique (KH_2PO_4) à 1.76 m mol.

Après avoir pesé chaque produit séparément, nous les avons mis dans un bécher en verre, et nous avons dilué en ajoutant 500 ml d'eau distillée.

Au bout de 5 minutes d'agitation sur une plaque magnétique, nous avons rajouté 500 ml d'eau distillée. Le PBS remis sur la plaque magnétique est laissé s'agiter encore quelques minutes. Le PBS est conditionné dans des flacons étiquetés et stocké au réfrigérateur.

2.3. Préparation des échantillons

Nous avons adaptée au besoin de la présente étude le protocole de **Weirich et al., (2001)** ; **Al-Quraishy, (2020)**.

Dans un mortier en porcelaine posé sur un lit de glace (Figure 20), nous avons mis 1 g de nymphes préalablement congelées auxquelles nous avons additionné 8 ml de solution tampon PBS puis nous les avons broyés finement. La suspension obtenue est versée dans des tubes à hémolyse en plastique étiquetés. La suspension est centrifugée dans une centrifugeuse réfrigérée pendant 30 minutes à une vitesse de 6000 tours/min et une température de -4°C . Le surnageant est récupéré à l'aide d'une micro pipette, puis conditionné dans des tubes étiquetés (Figure 21). Tous les échantillons (surnageant) ont été congelé à une température de -4°C pour des tests ultérieurs.



Figure 20: Broyage de nymphes de faux bourdon(Original, 2022)



Figure 21: Conditionnement des échantillons dans des tubes (Original, 2022)

2.4. Mesure de la peroxydation lipidique ou Test de TBARS

Le test TBARS s'est fait sur les échantillons décongelés sur plusieurs étapes :

2 ml de l'échantillon ont été prélevés puis additionné de 1 ml de TCA à 30 %. Ils sont ensuite incubés à 0°C pendant 120 minutes.

Une centrifugation a été effectuée pendant 20 minutes, à une vitesse de 6000 tours/minutes et à une température de -4°C .

Après la centrifugation, 2ml du surnageant ont été transvasés dans des tubes à essai en verre auxquels on a ajouté 0.5 ml de TBA à 1% et 0.150 ml d'EDTA à 0.1 mol. Les tubes sont chauffés dans un bain-marie (Figure 23) à une température de 95°C pendant 15 min. la réaction enzymatique est stoppée en plongeant les tubes dans un bain glacé pendant 20 minutes.

La dernière étape consiste à mesurer l'absorbance des échantillons grâce à un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 535 nm (Figure 22). Les résultats sont enregistrés pour une analyse statistique ultérieure. Au total, 22 répétitions ont été effectuées pour chaque catégorie de nymphes.

La concentration en MDA est calculée grâce à formule suivante :

$$\text{Concentration en MDA (nmol/ml)} = \frac{\text{absorbance de l'échantillon}}{1.56} \times 10$$



Figure 22: Spectrophotomètre
(Original, 2022)

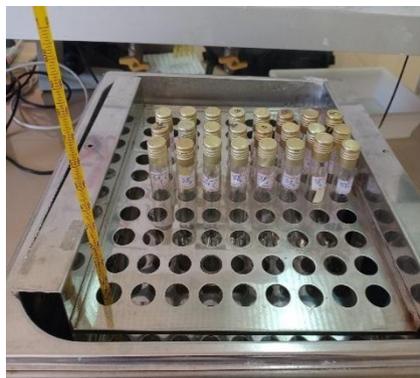


Figure 23: Echantillons mis au
Bain-marie (Original, 2022)



Figure 24: Coloration des échantillons
lors du test TBARS (Original, 2022)

2.5. Mesure de l'activité antioxydante totale ou Test ABTS

La méthode a été développée sur la base de l'absorbance du cation radical ABTS⁺ pour l'évaluation de la capacité antioxydante totale.

Afin d'obtenir le radical ABTS^{o+}, deux volumes de solution ABTS à 7 n mol ont été mélangés avec un volume de persulfate de potassium K₂S₂O₈ à 2.45n mol. Cette opération a été effectuée dans une obscurité totale afin de ne pas oxyder la solution.

12 à 14 h plus tard, la solution chromophore vert /bleu obtenue est progressivement diluée jusqu'à obtention d'une absorbance de 0.70 (+/- 0.02) à une longueur d'onde de 734 nm.

Parallèlement, nous avons préparé :

Un blanc du témoin avec 10 µl d'eau distillée (ou tampon) et 1ml d'eau distillée (ou tampon).

Un témoin à partir de 10 µl d'eau distillée (ou tampon) et 1 ml d'ABTS^{o+}.

Un blanc d'échantillon avec 10 µl d'échantillon et 1 ml d'eau distillée (ou tampon).

Les échantillons ont été chaque fois préparés avec 10 µl d'échantillon additionné de 1 ml ABTS^{o+}. Ils sont incubés pendant 6 min à l'ombre après l'ajout du radical ABTS^{o+}. Puis l'absorbance de la solution obtenue est mesurée à une longueur d'onde de 734 nm.

NB : nous avons effectué 12 répétitions pour chaque catégorie de nymphes.

Les absorbances enregistrées ont été utilisées pour le calcul du pourcentage d'inhibition à partir de la formule suivante :

$$PI_{ABTS^{o+}} = \frac{AC - AT}{AC} \times 100$$

PI = pourcentage d'inhibition.

AC=absorbance du témoin sans échantillon à T 0 min.

AT= absorbance des antioxydants (échantillons)à T 6 min.

Résultats

et

Discussions

1. Mise en évidence du stress oxydatif dû à la présence du varroa

Le statut oxydatif d'un individu est évalué par la mesure d'un groupe de marqueurs. Ces marqueurs sont formés par l'oxydation de biomolécules reflétant ainsi des modifications au niveau des tissus qui sont exposés aux oxydants.

Dans cette partie expérimentale, nous avons choisis d'analyser les échantillons en effectuant à chaque fois deux tests : le TBARS et l'ABTS.

1.1. Mesure de la peroxydation lipidique ou test de TBARS

Les résultats des concentrations en MDA (Malon Di Aldéhyde) obtenus lors de l'analyse des échantillons de nymphes infestées et des nymphes non infestées sont résumés dans le (Tableau VI).

Tableau VI: Comparaison de la concentration moyenne en MDA entre les échantillons de nymphes infestées par le *Varroa destructor* et les échantillons de nymphes non infestées.

	Minimum	Maximum	Moyenne	Erreur standard	p
échantillons non infestés	0,596	0,897	0,819	0,012	<0,0001
échantillons infestés	0.609	1,276	0,974	0,032	

Les moyennes des concentrations en MDA et les erreurs standard sont représentées sur la figure (25)

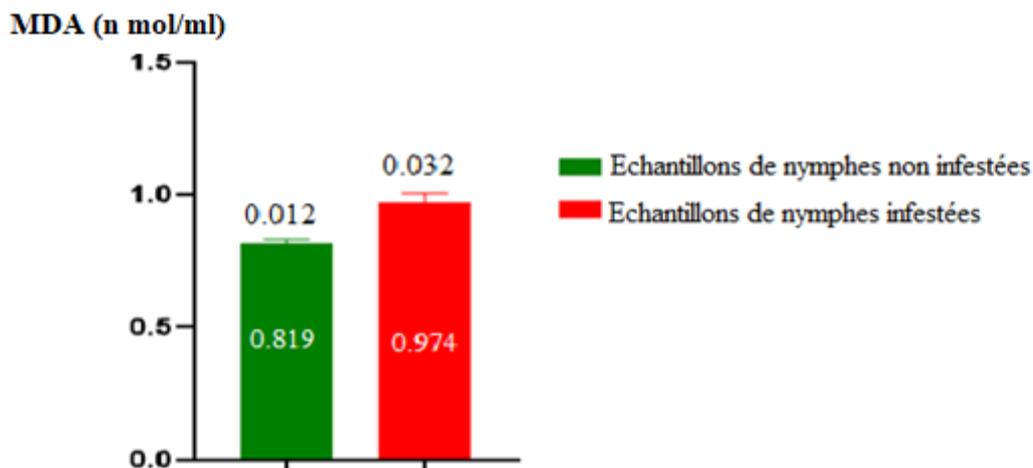


Figure 25: Histogramme représentant les moyennes de concentrations en MDA dans les échantillons de nymphes infestées et de nymphes non infestées.

Les résultats du test TBARS mettent évidence une différence hautement significative ($p < 0.0001$) entre les moyennes de concentration en MDA des échantillons de nymphes infestées et des nymphes non infestées. Elles sont respectivement de 0.974 ± 0.032 n mol/ml pour les échantillons de nymphes infestées contre 0.819 ± 0.012 n mol/ml pour les échantillons de nymphes non infestées.

Les concentrations minimales en MDA dans les échantillons de nymphes non infestées étaient de l'ordre de $0,596$ n mol/ml pour 0.609 n mol/m dans les échantillons de nymphes infestées. La différence des valeurs observées dans chaque catégorie d'échantillon était plus significative lors de la comparaison des concentrations maximales. En effet la concentration maximale en MDA dans les échantillons de nymphes non infestées était de l'ordre $0,897$ n mol/ml alors qu'elle atteignait $1,276$ n mol/ml dans les échantillons de nymphes infestées par le varroa.

1.1.1. Discussion des résultats du test TBARS

Afin de mesurer le niveau de peroxydation lipidique dans les tissus de nymphes de faux bourdons saines et infestées par le *Varroa destructor*, nous avons procédé au test TBARS qui se base sur la réaction entre les MDA (Malon dialdéhyde), et le TBA (thiobarbituric acid) aboutissant à la formation d'un chromophore de couleur rose à orange qui absorbe entre 532 et 535 nm (Satoh, 1978 ; Devasagayam et al., 2003; Palmieri et Sblendorio, 2007). En effet, les lipides et principalement leurs acides gras polyinsaturés sont la cible privilégiée de l'attaque par le radical hydroxyle (Beckman et Ames, 1998; Valko et al., 2006).

Les résultats obtenus lors du test TBARS ont montré des concentrations en MDA inférieures dans les échantillons de nymphes non infestées par rapport aux échantillons de nymphes infestées. En d'autres termes l'intensité de la peroxydation lipidique était supérieure dans les échantillons de nymphes parasitées.

Gurgoze et al. (2003), Arab et Stegens (2004), Bildik et al. (2004), Kiral et al., (2005), rapportent que l'augmentation des niveaux de peroxydation lipidique sont associée à une variété de maladies y compris les infestations parasitaires.

De ce fait nous pouvons déduire que le parasite *Varroa destructor* a généré un stress oxydatif qui s'est manifesté par une plus grande peroxydation lipidique chez les nymphes infestées.

Ce stress oxydant est dû à des réactions complexes du système immunitaire des abeilles. En fait, à l'instar de tous les organismes, les abeilles ont développé des mécanismes de défense individuelle pour limiter l'impact des pathogènes à travers des réponses physiologiques, immunitaires et comportementales (**Evans et Spivak, 2010**).

Par ailleurs, **Zóltowska et al., (2006)**, **Reshi et al., (2014)** rapportent que l'attaque d'agents pathogènes comme les virus, les bactéries et les parasites font partie des facteurs de stress biotiques augmentant la production d'espèces réactives de l'oxygène par le biais de réactions immunologiques.

Plusieurs auteurs rapportent des résultats identiques, notamment **Badotra et al., (2013)** qui ont observé que les concentrations en MDA étaient significativement plus élevées chez les nymphes infestées par le varroa.

Des résultats similaires ont été également rapportés dans d'autres cas de parasitoses sur d'autres animaux notamment par **Al-Quraishy et al., (2019)**, lors de son étude sur l'impact de l'éimérose due à *Eimeria papillata* chez des rongeurs et toujours par **Al-Quraishy et al., (2020)** qui a mené une étude sur la coccidiose chez les poulets où le parasitisme a provoqué une augmentation des niveaux de MDA et de monoxyde d'azote (NO), Ce qui est peut-être causé par une réponse inflammatoire grave due aux dommages oxydatifs.

Par ailleurs une étude menée par **Al-Hosary et al., (2018)**, dans le but d'évaluer le stress oxydatif chez les moutons infestés de tiques et Diagnostic concomitant de theilériose a mis en évidence une augmentation de MDA chez les brebis et les béliers infestés.

En outre, **kebi et al.,2020** ont également rapporté une augmentation de la peroxydation lipidique survenue suite à un stress oxydatif chez les chiens infestés par *Rhipicephalus sp*, ce qui peut être considéré comme une indication de lésions cellulaires causées par ce parasite.

1.2.Mesure de l'activité anti oxydante totale (test ABTS)

Lors cette étude nous avons comparé la capacité anti oxydante totale des échantillons de nymphes infestées et de nymphes non infestées, les résultats obtenus sont résumés dans le tableau (VII). Les moyennes des pourcentages d'inhibition du radical ABTS^{o+} et les erreurs standard ont été représentées sur la figure (26).

Tableau VII: Comparaison des pourcentages d'inhibition du radical ABTS^{o+} entre les échantillons de nymphes non infestées et les échantillons de nymphes infestées

Etat sanitaire des échantillons	Minimum	Maximum	Moyenne	Erreur STD	P
Echantillons non infestés	43,3	82,04	55,37	2,18	<0,046
Echantillons infestés	29,34	71,21	48,66	2,45	

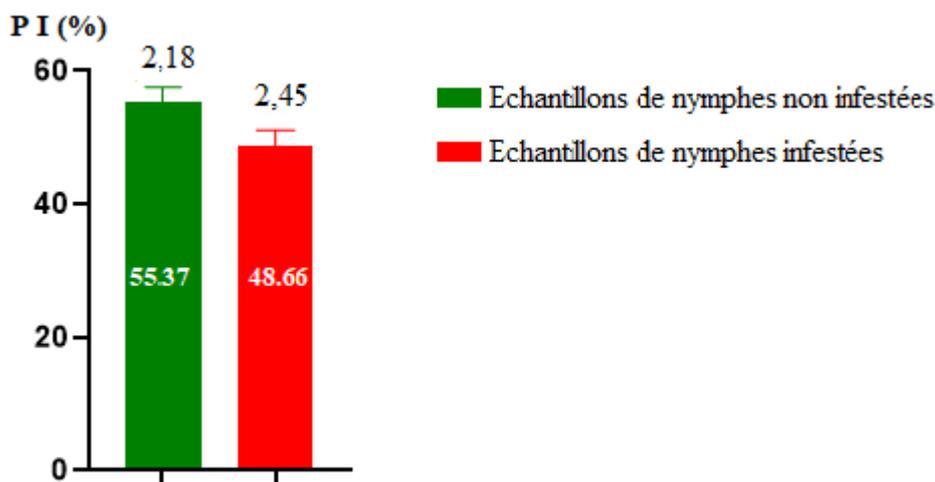


Figure 26: Histogramme représentant les moyennes du pourcentage d'inhibition du radical ABTS^{o+} dans les échantillons de nymphes infestées et les échantillons de nymphes non infestées.

Les résultats montrent une diminution significative du pourcentage d'inhibition (PI) du radical ABTS^{o+} dans les échantillons de nymphes infestées par rapport aux échantillons de nymphes non infestés avec $p < 0.05$. En effet la moyenne du PI dans les échantillons infestés est de $48,66 \pm 2,45$ % alors qu'elle est de $55,37 \pm 2,18$ % dans les échantillons non infestés.

Les pourcentages d'inhibition minimal et maximal enregistrés étaient respectivement de 43,3% et 82,04% dans les échantillons de nymphes non infestées. Par contre dans les échantillons de nymphes infestées le PI minimal était de 29,34 alors que le PI maximal enregistré était de 71,21%.

1.2.1. Discussion des résultats du test ABTS

Les niveaux d'antioxydants et l'activité des enzymes antioxydantes, qui préviennent les dommages cellulaires causés par l'oxydation, sont des facteurs importants déterminant la bonne santé d'un organisme (Clarkson et Thompson, 2000). Dans ce contexte, plusieurs

études ont confirmé la survenue d'un stress oxydatif chez des animaux infectés par des parasites (**Samadieh et al., 2017 ; Al-Hosary et al., 2018**).

Les résultats de notre étude montrent une augmentation du PI dans les échantillons de nymphes non infestées par rapport aux échantillons de nymphes infestées, ce qui peut être expliqué par la pauvreté en enzymes anti oxydantes des échantillons de nymphes infestées.

Si des études ont montré que la capacité des abeilles à se défendre contre les espèces réactives à l'oxygène semble fortement limitée par rapport aux autres insectes (**Claudianos et al., 2006 ; Corona et Robinson, 2006 ; Oakeshott et al. 2010**), une étude récente de **Farjan et al. (2014)**, a démontré que l'addition d'un anti oxydant en l'occurrence l'acide ascorbique (vitamine c) au régime alimentaire d'abeilles infestées naturellement par le varroa, a permis de réduire l'intensité de l'infection chez ces dernières, de même qu'ils ont observé qu'une augmentation considérable du statut anti oxydant total (TAS) s'est produite chez les abeilles parasitées recevant de la vitamine C par rapport aux abeilles uniquement parasitées.

Parallèlement, La réduction de l'activité antioxydant chez les nymphes infestées est probablement due à l'action spoliatrice qu'exerce le varroa sur son hôte. En effet, **Glinski et al. (1984)** rapportent que le volume et la teneur en protéines totales sont réduits et l'azote total est augmenté dans l'hémolymphe des abeilles infestées.

Les éléments figurés de l'hémolymphe, comme dans tout le monde vivant, utilisent le stress oxydant pour neutraliser les intrus parasitaires ou microbiens. Pour que ce mécanisme qui se déroule à une vitesse élevée (1/15 000 seconde) puisse être efficace, il est nécessaire que l'abeille soit bien équipée en oligo-éléments. En effet ce sont les oligo-éléments qui rendent efficaces les cellules de défense en les protégeant contre leur propre destruction au cours de la neutralisation des intrus. (**Grosmond, 2008**)

Dimri et al. (2010), ont rapporté une réduction de la défense antioxydante et une augmentation des dommages oxydatifs aux tissus dermiques chez les moutons atteints de gale psoroptique, ainsi que des concentrations sériques plus faibles en zinc et en cuivre chez ces animaux. Ils ont expliqué leurs résultats par le rôle essentiel du zinc et du cuivre en tant que cofacteurs de l'enzyme antioxydant super oxyde dismutase SOD, Par conséquent, l'utilisation ou la séquestration globale du zinc et du cuivre pour neutraliser la surproduction d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) pourrait être responsable de leurs concentrations sanguines plus faibles dans les cas cliniques de gale.

Singha et al. (2011), ont également signalé une altération significative de l'équilibre oxydant/antioxydant chez les chiens infestés par les acariens *Sarcoptes*. En effet ils ont révélé la baisse significative de plusieurs enzymes anti oxydantes dont : la super oxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT) et la glutathion peroxydase (GSH-Px).

Néanmoins, **Gülmez et al. (2016)**, rapportent que l'augmentation du niveau d'activité enzymatique chez les abeilles infestées indique que le système de défense de l'hôte est activé pour piéger les radicaux super oxyde générés à la suite d'une infestation par des acariens.

Les résultats du test ABTS confirment ceux du test TBARS. En effet nous avons pu démontrer que l'infestation par le *Varroa destructor* s'accompagnait d'une baisse de l'activité anti oxydante ainsi qu'une plus grande peroxydation lipidique.

Par ailleurs **Zbigniew et krystyna (2005) et Badotra et al. (2013)**, ont rapporté que l'infestation par le parasite *varroa destructor* s'accompagnait par une augmentation de l'activité anti oxydante. Les indications biochimiques du stress oxydatif chez les pré nymphes des faux bourdons infestés par le varroas se sont manifestés sous la forme d'une activité élevée de trois enzymes antioxydantes avec des activités superoxyde dismutases (SOD) quatre fois plus élevées chez les prénymphe infestées que chez les prénymphe non infestées.

Il faut rappeler que le parasitisme de *Varroa* est associé à une altération du développement des abeilles immatures, une diminution de la synthèse lipidique, une réduction des titres protéiques et une altération de la fonction métabolique (**Bowen-Walker et Gunn, 2001**). D'après **Yang et Cox-Foster (2005)** ; **Yang et Cox-Foster (2007) et Annoscia et al. (2018)**, le varroa provoquerait aussi une altération de la fonction immunitaire. Une diminution de la longévité a été signalée par **Tewarson (1983) et Amdam et al., (2004)**.

2. Mise en évidence de l'influence de la force de la colonie sur le stress oxydatif chez les nymphes de faux bourdons infestées et les nymphes non infestées

2.1. Comparaison de la concentration en MDA des nymphes issues de colonies fortes et de nymphes issues de colonies faibles

Afin de souligner l'impact de la force de la colonie sur la capacité de cette dernière à résister au stress oxydatif, nous avons choisis de confronter les résultats obtenus lors du test TBARS en prenant en compte deux paramètres : l'état sanitaire et la force de la colonie.

Les résultats relatifs aux valeurs de la concentration en MDA sont rapportés dans le tableau (VIII)

Tableau VIII: Concentration en MDA dans les échantillons de nymphes non infestées et dans les échantillons de nymphes infestées issues de colonies fortes et de colonies faibles.

Etat sanitaire	Force de la colonie	Minimum	Maximum	Moyenne	Erreur Standard	p
échantillons non infestés	colonie forte	0,609	0,897	0,783	0,019	0,0025
	colonie faible	0,769	0,981	0,855	0,011	
échantillons infestés	colonie forte	0,596	1,058	0,821	0,027	<0,0001
	colonie faible	0,897	1,481	1,128	0,036	

L'histogramme (Figure 27) Représente une comparaison entre les moyennes de concentrations en MDA rapportées pour les nymphes provenant de colonies fortes et de nymphes issues de colonies faibles.

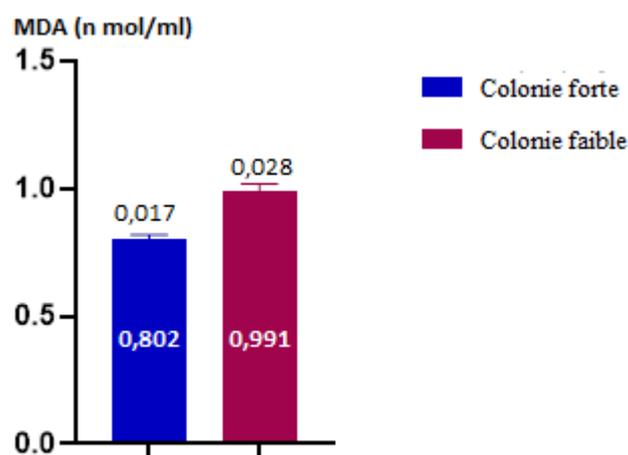


Figure 27: Histogramme représentant les moyennes de concentration en MDA dans les colonies fortes et dans les colonies faibles.

Les résultats détaillés mettant en évidence une comparaison entre les moyennes de concentrations en MDA des échantillons de nymphes infestées et de nymphes non infestées prélevées à partir de colonies fortes et de colonies faibles sont illustrés dans la figure (28).

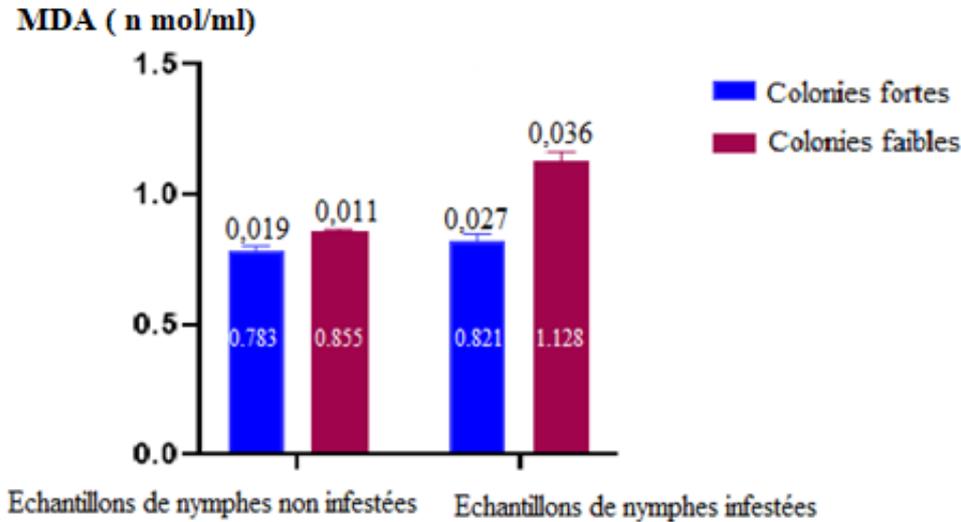


Figure 28: Histogramme représentant les moyennes de concentrations en MDA des échantillons de nymphes infestées et de nymphes non infestées issues de colonies fortes et de colonies faibles.

L'analyse globale des résultats obtenus lors du test TBARS sur des échantillons provenant de colonies faibles et d'échantillons provenant de colonies fortes a montré une différence hautement significative de la concentration en MDA entre ces derniers avec $p < 0.0001$ (Figure 27). En effet, nous avons observé une augmentation de la concentration moyenne en MDA dans les échantillons issus de colonies faibles $0,991 \pm 0,028$ n mol/ml par rapport à la moyenne de concentration en MDA enregistré dans les colonies fortes qui était de $0,802 \pm 0,017$ n mol/ml.

L'analyse des résultats du tableau (VIII) et de la figure (28) montrent une différence hautement significative de la quantité en MDA dans les échantillons provenant de la colonie faible par rapport à ceux qui proviennent de la colonie forte avec $P=0.0025$ pour les échantillons non infestés et $p < 0.0001$ pour les échantillons infestés.

Par ailleurs, nous avons observé que les concentrations moyennes en MDA étaient plus faibles dans les échantillons de nymphes non infestées, elles étaient respectivement de $0,855 \pm 0,011$ n mol/ml pour les échantillons qui provenaient de colonies faibles et de $0,783 \pm 0,019$ n mol/ml dans les échantillons provenant de colonies fortes. Alors que les moyennes

de concentrations en MDA enregistrées dans les échantillons de nymphes infestées étaient respectivement de $1,128 \pm 0,036$ n mol/ml pour les échantillons issus de colonies faibles et de $0,821 \pm 0,027$ n mol/ml dans les échantillons provenant de colonies fortes.

De ce fait, quel que soit le statut sanitaire des nymphes de faux bourdons, nous avons observé une plus grande peroxydation lipidique chez les nymphes issues de colonies faibles.

2.2. Comparaison des résultats du test ABTS en fonction de la force de la colonie

Les résultats obtenus à partir du test ABTS lors la comparaison des pourcentages d'inhibition des échantillons infestés et non infestés par le varroa provenant soit de colonies faible soit de colonies fortes sont résumés dans le tableau (IX).

Tableau IX: Pourcentages d'inhibition du radical $ABTS^{\circ+}$ des nymphes issues de colonies fortes et de nymphes issues de colonies faibles .

Etat sanitaire	Etat de la Colonie	Minimum	Maximum	Moyenne	Erreur STD	P
échantillons non infestés	Forte	45,67	82,04	61,85	3,38	0,0013
	Faible	43,3	55	48,89	0,95	
échantillons infestés	Forte	37	71,21	54,96	2,75	0,0071
	Faible	29,34	55,85	42,36	3,23	

L'histogramme (Figure 29) Représente une comparaison entre les moyennes du pourcentage d'inhibition du radical $ABTS^{\circ+}$ rapportées pour les nymphes provenant de colonies fortes et de colonies faibles.

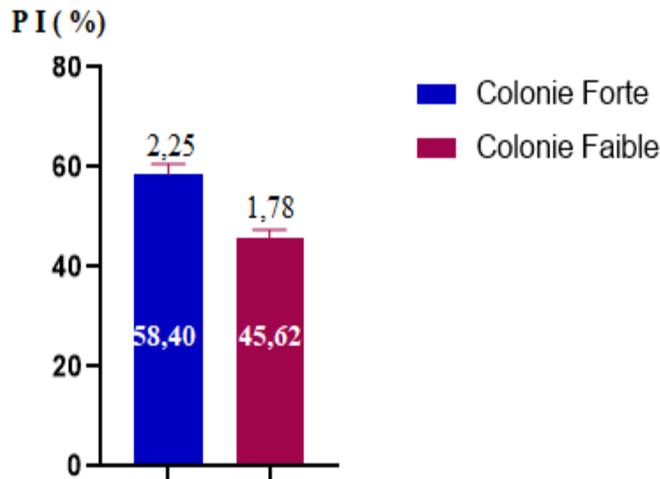


Figure 29: Histogramme représentant le pourcentage d'inhibition du radical ABTS^{°+} dans les colonies fortes et colonies faibles .

Les résultats détaillés mettant en évidence une comparaison entre les moyennes du pourcentage d'inhibition du radical ABTS^{°+} des échantillons de nymphes infestées et de nymphes non infestées prélevées à partir de colonies fortes et de colonies faibles sont illustrés dans la figure (30).

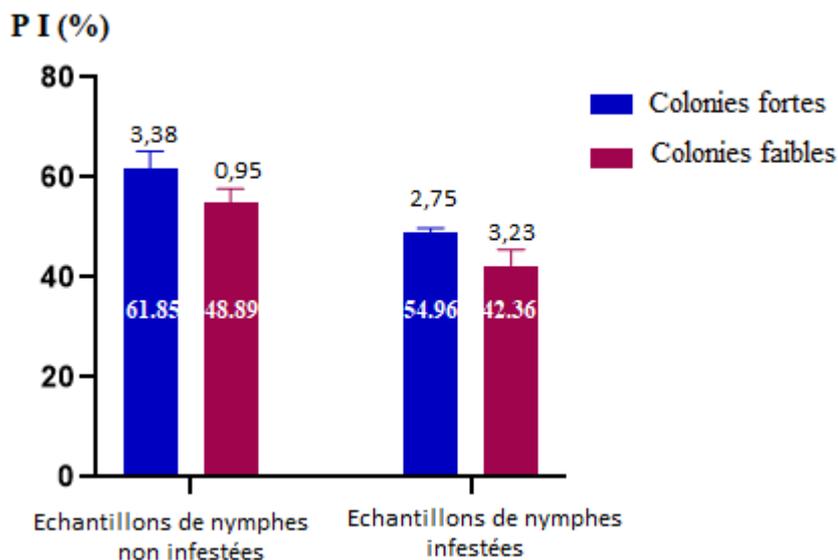


Figure 30: Histogramme représentant les moyennes des pourcentages d'inhibition du radical ABTS^{°+} des échantillons de nymphes infestées et de nymphes non infestées issues de colonies fortes et de colonies faibles.

Il ressort des résultats rapportés dans le tableau (IX) et la figure (29) les moyennes du pourcentages d'inhibition du radical ABTS^{o+} sont nettement supérieures dans les colonies fortes que dans les colonies faibles. En effet le PI moyen du radical ABTS^{o+} est significativement différent entre les échantillons issus de colonies fortes PI=58,407 ± 2,251 % et les échantillons issus de colonies faibles PI= 45,627 ± 1,783 %, avec P<0.0001.

Par ailleurs lors d'une analyse plus détaillée prenant en compte le paramètre statut sanitaire des nymphes en plus de leur provenance (colonies faibles ou bien colonies fortes), nous avons constaté une différence très significative du PI pour les échantillons de nymphes non infestées avec p= 0,0013, cette différence est également très significative pour les échantillons de nymphes infestées avec p=0,0071. (Figure 30)

Dans les colonies faibles, les moyennes du PI enregistrées étaient de 48,89 ± 0,95 % pour les échantillons de nymphes non infestées et de 42,36 ± 3,23 % pour les échantillons de nymphes infestées. Dans les colonies fortes, les moyennes du PI étaient de 61,85 ± 3,38 % pour les échantillons de nymphes non infestées et de 54,96 ± 2,75 % pour les échantillons de nymphes infestées.

2.3. Discussion des résultats

L'ensemble des résultats montre que le niveau des MDA est significativement plus élevé dans les colonies faibles que dans les colonies fortes et ce quel que soit le statut sanitaire des nymphes, de même le pourcentage d'inhibition du radical ABTS^{o+} est nettement inférieur dans les colonies faibles.

Cela suppose que l'origine du stress oxydatif est multi factoriels. En effet, en plus de l'infestation par le *Varroa destructor* d'autres facteurs peuvent être à l'origine des mécanismes de la réponse immunitaire et antioxydante notamment la force de la colonie.

En fait, les abeilles domestiques ayant développées un mode de vie social basé sur la coopération des individus dans le soin apporté au couvain, la division du travail liée à la reproduction et le chevauchement des générations, elles sont définies comme des insectes eusociaux (**Michener, 1969**)

En outre, la réponse à un stress va se faire non seulement dans l'intérêt de l'individu mais également dans celui de la colonie (**Bordier et al., 2016**). Parmi les exemples concrets de cette caractéristique :

La thermorégulation, qui est elle-même tributaire de la vigueur de la colonie. En effet les abeilles domestiques maintiennent le couvain à la température précise de $34,5 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, en dépit des fluctuations de la température ambiante. (Jones et al., 2004).

Droz et al., (2015) confirment l'importance de la force de la colonie dans la régulation de la température à l'intérieure de la ruche, ces derniers démontrent qu'au-dessous d'un seuil critique (5000 à 8000 abeilles) la colonie ne peut pas réguler la température malgré les réserves accumulées.

Il a également été démontré que le couvain d'abeilles stressé par le froid présentait un taux métabolique élevé (Ramirez et al., 2017 ; Ramirez et al., 2020). Un taux métabolique plus élevé a été lié à une plus grande production de ERO et il a été suggéré qu'il s'agissait d'un coût physiologique de la croissance compensatoire survenant après la période de stress dû au froid (De Block et Stoks, 2008).

La taille de la colonie a un impact sur sa capacité hygiénique, Najafgholian et al. (2011) rapportent que plus la colonie est peuplée plus la capacité de nettoyage est rapide.

Farrar (1937) et Liebig (1993) ont démontré qu'en présence de bonnes conditions de miellée, plus les colonies sont fortes plus les quantités de miel récoltées sont importantes.

Toujours dans cette logique Shahrouzi (2009) confirme qu'un manque d'ouvrières et donc de ressources nutritives entraîne un développement ralenti des colonies et une population insuffisante. Nicolas (2011) suppose que la diminution des ressources nutritives conduit à une carence des abeilles en acides aminés, préjudiciable à leur santé, au développement du couvain et à la santé de la colonie.

Par conséquent, nous émettons l'hypothèse que lorsque l'effectif est restreint, la répartition des tâches entre les ouvrières nourrices, nettoyeuses et butineuses pour maintenir la cohésion de la ruche est fortement impactée, causant le surmenage des abeilles et éventuellement du stress oxydatif.

Conclusion

et

Perspectives

Conclusion et perspectives

L'objectif de notre étude était d'évaluer le stress oxydatif chez les nymphes d'abeilles locales *Apis mellifera intermissa* infestées par le parasite *Varroa destructor* en premier lieu, puis par la suite d'évaluer l'effet de la force de la colonie sur le stress oxydant.

Afin de mettre en évidence le stress oxydatif, nous avons utilisé le test TBARS qui a permis d'évaluer la concentration des MDA (Malon dialdéhyde), et le test ABTS pour mesurer le pourcentage d'inhibition de radicale ABTS^{°+} par les antioxydants.

A partir de test TBARS les moyennes des concentrations des MDA dans les échantillons des nymphes infestées sont élevées par rapport à celles des échantillons des nymphes non infestées, et à partir du test ABTS, les moyennes du pourcentage d'inhibition de radicale ABTS^{°+} dans les échantillons des nymphes infestées sont inférieure à celles des échantillons des nymphes non infestées.

Nous avons établi que les nymphes de faux bourdon infestées présentaient des marqueurs de stress oxydatif à savoir une plus grande intensité de peroxydation lipidique et une diminution de l'activité antioxydante, ce qui indique la présence réelle d'un stress oxydatif.

En effet, le parasitisme par le varroa a généré un stress oxydatif avec accumulation de radicaux libres dans les tissus des nymphes infestées. Les espèces réactives à l'oxygène ont oxydé les substrats et par conséquent ont induit la dégradation des lipides et leur peroxydation.

La seconde partie de notre travail consistait à évaluer l'impact de la force de la colonie sur le paramètre du stress oxydatif. Nous avons comparé le statut oxydant des nymphes provenant de colonies fortes et des nymphes de colonies faibles. Les résultats nous ont confirmé la présence d'un stress oxydatif élevé dans les échantillons des nymphes prélevées dans des colonies faibles par rapport à celles prélevées dans des colonies fortes quel que soit leur statut sanitaire. Il ressort que le statut oxydatif des nymphes d'abeilles soit impacté, non seulement par le parasitisme mais aussi par plusieurs autres facteurs stressants notamment la faiblesse de la population, qui se répercute négativement sur la collectivité du la colonie. A cet effet les résultats générés par notre étude ont démontré l'effet positif de la vigueur de la colonie.

En perspectives, il serait nécessaire de faire des recherches plus poussées pour mieux comprendre la pathogénèse de la varroase et mettre en place des moyens de lutte adéquats en prenant en considération le statut oxydant ainsi que le statut sanitaire des colonies d'abeilles.

Il serait également intéressant de développer de nouveaux moyens de lutte en renforçant le système de défense naturel des abeilles notamment en supplémentant leur nutrition avec des compléments alimentaires riche en antioxydant.

Références

Bibliographiques

Références bibliographiques

Adam F., (1985). Biométrie de l'abeille, *2ème édition de l'OPDA*, 50 p.

Adam G., (2010). La biologie de l'abeille. *Cours École d'apiculture Sud-Luxembourg*. 26p.

Adam J. M., (1987). Textualité et séquentialité l'exemple de la description. *In : Langue française, n°74, 1987. La typologie des discours. pp. 51-72.* En ligne : URL : <https://doi.org/10.3406/lfr.1987.6435> .

Akimovia, Zaloznaya L., Piletskaya, (1986). Arrhénotokie et différenciation du sexe dans la ponte de l'acarien *Varroa jacobsoni*. *Vestnik Ceskoslovenske Spolecnosti Zoologicke*, 64-68.

Al-Hosary, A. A. T., Ellah, M. R. A., et Ahmed, L. S. E. D. (2018). « Evaluation of oxidative stress in sheePinfested with ticks and concurrent diagnosis of Theileriosis ». *Asian J. Anim. Vet. Adv*, 13, 263-268.

Allsopp, M.H., (2007). Analysis of *Varroa destructor* infestation of southern african honey bee populations.

Al-Quraishy, S., Qasem, M. A., Al-Shaebi, E. M., Murshed, M., Mares, M. M., et Dkhil, M. A. (2020). *Rumex nervosus* changed the oxidative status of chicken caecum infected with *Eimeria tenella*. *Journal of King Saud University-Science*, 32(3), 2207-2211.

Al-Quraishy, S., Thagfan, F. A., Al-Shaebi, E. M., Qasem, M., Abdel-Gaber, R., et Dkhil, M. A. M. (2019). *Salvadora persica* protects mouse intestine from eimeriosis. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 28, 605-612.

Amdam, G. V., Hartfelder, K., Norberg, K., Hagen, A., et Omholt, S. W. (2004). Altered physiology in worker honey bees (Hymenoptera: Apidae) infested with the mite *Varroa destructor* (Acari: Varroidae): a factor in colony loss during overwintering?. *Journal of economic entomology*, 97(3), 741-747.

Anderson, D. L., et Trueman, J. W. H., (2000). *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) is more than one species. *Experimental et applied acarology*, 24(3), 165-189.

Annoscia, D., Brown, S. P., Di Prisco, G., De Paoli, E., Del Fabbro, S., Zanni, V., Galbraith, D., Caprio, E., Grozinger, M., Pennacchio, F.; Nazzi, F., (2018). Haemolymph removal by the parasite *Varroa destructor* can trigger the proliferation of the deformed wing virus in mite infested bees (*Apis mellifera*), contributing to enhanced pathogen virulence. *BioRxiv*, 257667.

Arab, K., et Steghens, J. P. (2004). Plasma lipid hydroperoxides measurement by an automated xylenol orange method. *Analytical biochemistry*, 325(1), 158-163.

Aymé, A., (2014). *Synthèse des connaissances sur l'apiculture réunionnaise et enjeux pour la filière*, Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVET, 147 p.

Baba, L., et Mc Grath, L. (2008). Oxygen free radicals: effects in the new born period., 8, 256–264.

Bacher R. et Merle C., (2016). J'installe une ruche dans mon jardin. Ed. Ferre vivante. France. 118p.

Badotra, P., Kumar, N. R., et Harjai, K. (2013). *Varroa* causes oxidative stress in *Apis mellifera*. *L. Journal of Global Biosciences*, 2(6), 199-201.

Baldensperger P. J., (1924). North African bees. *Bee World*, 5 : 175 - 176.

Ballis A., (2016). Mémento de l'apiculteur Un guide sanitaire et réglementaire Version1.

Ballis, A., (2013). *flash ' abeilles*. Conseiller Technique Apicole Service Elevage Chambre d'Agriculture Régionale d'Alsace.

Beckman, K.; Ames, B., (1998). The free radical theory of aging matures. *Physiological Reviews*. 78: 547–581.78.

Behrens, D., Huang, Q., Geßner, C., Rosenkranz, P., Frey, E., Locke, B., Moritz, R.F.A., Kraus, F.B., (2011) Three QTL in the honeybee *Apis mellifera* L. suppress reproduction of the parasitic mite *Varroa destructor*. *Ecol. Evol.* 1, 451–458.

Belaid M. et Doumandji S.E., (2010). Effets du *Varroa destructor* sur la morphométrie alaire et sur les composants du système immunitaire de l'abeille ouvrière *Apis mellifera intermissa*. Lebanese Science Journal. Vol. 11(1) : pp 83-90.

Bensakhria, A. (2018). Le stress oxydatif. *Toxicologie générale*, 70-86.

Bernhard, M., Buhrke, T., Bleijlevens, B., De Lacey, A. L., Fernandez, V. M., Albracht, S. P., et Friedrich, B. (2001). The H₂ sensor of *Ralstonia eutropha*: biochemical characteristics, spectroscopic properties, and its interaction with a histidine protein kinase. *Journal of Biological Chemistry*, 276(19), 15592-15597.

Bildik A., Kargin F., Seyrek K., Pasa S., Ozensoy S. 2004.Oxi-dative stress and non-enzymatic antioxidative status in dogs with vis-ceral Leishmaniasis. Res. Vet. Sci., 77, 63-66.

Binon Pascal et Diel Jean-Pierre, (2013). Extrait du livret de cours « Initiation et Perfectionnement à l'apiculture » délivré par le GDSA 07, Rédigé pour le GDSA 07.

Biri, M., (2010). *Tout savoir sur les abeilles et l'apiculture*. De Vecchi.

Blanken, I., Van De Ven, N., et Zeelenberg, M. (2015). A meta-analytic review of moral licensing. *Personality and Social Psychology Bulletin*, 41(4), 540-558.

Boecking, O., et Spivak, M., (1999). Behavioral defenses of honey bees against *Varroa jacobsoni* Oud. *Apidologie*, 30(2-3), 141-158.

Boot w.J., Calis J.N.M.et Beetsma J., (1992). Differential periods of *Varroa* mite Invasion into worker and drone cells of honey bees. Exp. Appl.Acarol.16: 295 301.

Bordier C., Pioz M., Crauser D., Le Conte Y., Alaux C. 2016. Should I stay or should I go: honeybee drifting behaviour as a function of parasitism. *Apidologie*, 48(3), 286-297

Boucher, S., (2016). *Maladies des abeilles*. Editions France Agricole.

Bowen- Walker, P. L., et Gunn, A. (2001). The effect of the ectoparasitic mite, *Varroa destructor* on adult worker honeybee (*Apis mellifera*) emergence weights, water, protein, carbohydrate, and lipid levels. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 101(3), 207-217.

Bowen-Walker, P. L., Martin, S. J., et Gunn, A. (1999). The Transmission of Deformed Wing Virus between Honeybees (*Apis mellifera* L.) by the *Ectoparasitic Mite Varroa jacobsoni* Oud. *Journal of invertebrate pathology*, 73(1), 101-106.

Breton, A., (2016). Lutter Contre Varroa De Manière Raisonnee. *A Section Apicole Régionale de GDS Aquitaine*, 21p.

Brodtschneider, R., Moosbeckofer, R., Crailsheim, K (2010). Surveys as a tool to record winterlosses of honeybee colonies: atwoyear case study in Austria and South Tyrol. *Journal of Apicultural Research* 49(1): 23-30.

Büchler, R., Drescher W., (1990). Variance and heritability of the capped developmental stage in european *Apis mellifera l.* and its correlation with increased *Varroa jacobsoni oud.* Infestation. *Journal of Apicultural Research* 29, 172-176.

Buttel-Reepen, (1906). Beitrage Zur systematik, Biologie sowie zurgeschicht-licen und geographiochen verbreitung der honigbiene (*Apis mellifera* L), ihner varietaten undder ubrigen Apis- Arten. *Mitteilungen aus dem Zoologischen Museum in Berlin* 3: 119-201.

Cadenas, E., et Davies, K. J. (2000). Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging. *Free radical biology and medicine*, 29(3-4), 222-230.

Calderon RA, van Veen JW, Sommeijer MJ, Sanchez LA, (2010). Reproductive biology of *Varroa destructor* in Africanized honey bees (*Apis mellifera*). *Exp Appl Acarol* 50:281–297.

Cardinaux m., (1995). L’homme et l’abeille. Publiée par l’Age d’homme. p 192-194.

Charrière J.D., Dietemann V., Schäfer M., Dainat B., Neumann P., Gallmann P., (2012). Guide de la sante de l’abeille - édité par le centre de recherches apicoles ALP forum n° 84f |.

Chauzat, M-P ; Carpentier, P ; Madec, F; Bougeard, S ; Cougoule, N; Drajunel, P;Clement, M-C; Aubert, M; Faucon, J-P (2010). The role of infectious agents and parasites in the health of honeybee colonies in France. *Journal of Apicultural Research* 49(1): 31-39.

Chavan, V., et Melinkeri, R. (2013). Study of proteincarbonyl group, nitricoxide and mda (index of lipidperoxidation) as biomarkers of oxidative stress in type 2 diabetesmellitus. *Community Med*, 4(2), 294–9.

Chiron, J ; Hattenberger, AM. (2009). Mortalités, effondrements et affaiblissements des colonies d'abeilles. Afssa Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments. 222.

Chouchaine, M., Barbouche, N., et Khemiri, A., (2015). Etude comparative des paramètres internes du thermopréférendum des haplotypes de l'abeille tellienne tunisienne *Apis mellifera intermissa* (Buttel Reepen 1906). *Livestock Research for Rural Development*, 27(9).

Clarkson, PM et Thompson, HS (2000). Antioxydants : quel rôle jouent-ils dans l'activité physique et la santé ? *American Journal of Clinical Nutrition* 72 (Suppl.), 637S–646S.

Claudianos, C., Ranson, H., Johanson, RM, Biswas, S., Schuler, MA, Barenbaum, MR, Feyereisen, R. et Oakeshott, JG (2006). Un déficit d'enzymes de détoxification : sensibilité aux pesticides et réponse environnementale chez l'abeille. *Biologie moléculaire des insectes* 15, 615–636. doiÿ: 10.1111/j.1365-2583.2006.00672.x.

Clément, Le Conte, Barbançon, Vaissière, Bonnaffé, Reeb, Fert G, Domerego R. et Ratia G., (2006). Collectif **Rustica** - Collection Les **traités Rustica** ,528 pages.

Collins, AM, Williams, V. et Evans, JD (2004). Stockage du sperme et enzyme antioxydante expression chez l'abeille domestique, *Apis mellifera*. *Insecte Mol. Biol.*, 13(2), 141-146.

Collins, AM, Caperna, TJ, Williams, V., Garrett, WM, Evans, JD (2006) Analyses protéomiques des contributions mâles au stockage et à l'accouplement du sperme d'abeille. *Insecte Mol. Biol.* 15 (5), 541–549

Corona, M. et Robinson, GE (2006). Gènes du système antioxydant de l'abeille mellifère : annotation et phylogénie. *Biologie moléculaire des insectes* 15, 687–701. doiÿ: 10.1111/j.1365-2583.2006.00695.x.

Dadoun, N., Nait-Mouloud, M., Mohammedi, A., et Sadeddine Zennouche, O., (2020). Differences in grooming behavior between susceptible and resistant honey bee colonies after 13 years of natural selection. *Apidologie*, 51(5), 793-801.

Deblock, M., et Stoks, R. (2008). Short- term larval food stress and associated compensatory growth reduce adult immune function in a damselfly. *Ecological entomology*, 33(6), 796-801.

Delfinado-Baker, M.; Rath, W.; Boecking, O., (1992). Phoretic bee mites and honeybee grooming behavior, *int. J. Acaro!.*, 18, 315- 322.

Devasagayam, TPA., Bloor, KK., Ramasarma, T., (2003). Methods for estimating lipid peroxidation: An analysis of merits and demerits. *Indian J Biochem Biophys* 40:300–308.

Dietemann, V., Nazzi, F., Martin, S. J., Anderson, D. L., Locke, B., Delaplane, K. S., ... et Ellis, J. D., (2013). Standard methods for varroa research. *Journal of apicultural research*, 52(1), 1-54.

Dimri, U., Sharma, M. C., Yamdagni, A., Ranjan, R., et Zama, M. M. S. (2010). Psoroptic mange infestation increases oxidative stress and decreases antioxidant status in sheep. *Veterinary parasitology*, 168(3-4), 318-322.

Drescher P., et Schneider W., (1987). Einfluss der Parasitierung durch die Milbe *Varroa jacobsoni* Oud. auf das Schlupfgewicht, die Gewichtsentwicklung, die Entwicklung der Hypopharynxdrüsen und die Lebensdauer von *Apis mellifera* L. *Apidologie*, 18(1), 101-110.

Droz, B., Dietemann, V., Gauthier, L., & Charrière, J. D. (2015). L'encagement des reines: une méthode pour traiter contre varroa en été. *Revue Suisse d'Apiculture*, 20-28.

Duay, P., De Jong, D., et Engels, W., (2002). Decreased flight performance and sperm production in drones of the honey bee (*Apis mellifera*) slightly infested by *Varroa destructor* mites during pupal development. *Genet. Mol. Res*, 1(3), 227-232.

En ligne : URL : <https://doi.org/10.1073/pnas.1818371116>

Evans, J. D., et Spivak, M. (2010). Socialized medicine: individual and communal disease barriers in honey bees. *Journal of invertebrate pathology*, 103, S62-S72.

- Farjan, M., Łopieńska-Biernat, E., Lipiński, Z., Dmitryjuk, M., et Żóltowska, K. (2014).** Supplementing with vitamin C the diet of honeybees (*Apis mellifera carnica*) parasitized with *Varroa destructor*: effects on antioxidative status. *Parasitology*, 141(6), 770-776.
- Farrar, C. L. (1937).** The influence of colony populations on honey production. *J. agric. Res*, 54(12), 945-954.
- Faucon j.P., (2003).** La Varroatose. La santé de l'abeille, 194 : 15 – 19p.
- Favier A. (2003).** Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Actualité chimique*. 108-115.
- Fernández, N. A., et Coineau, Y. (2002).** *Varroa, tueur d'abeilles*. Atlantica.
- Fernandez, N., et Coineau, Y., (2007).** *Maladies, parasites et autres ennemis de l'abeille mellifère*. Ed. Atlantica, 237p.
- Fries, I., Hansen H., Imdorf A., Rosenkranz P., (2003).** Swarming in honey bees (*Apis mellifera*) and *Varroa destructor* population development in sweden. *Apidologie* 34, 389-398.
- Galila Yacout A., Elguindy, N. M., et El Azab, E. F., (2012).** Hepatoprotective effect of basil (*Ocimum basilicum* L.) on CCl₄-induced liver fibrosis in rats. *African Journal of Biotechnology*, vol 11, n°90, p.15702-15711.
- Gerschman, R., Gilbert, D. L., Nye, S. W., Dwyer, P., et Fenn, W. O. (1954).** Oxygen poisoning and x-irradiation: a mechanism in common. *Science*, 119(3097), 623-626.
- Giovenazzo, Pierre, et Dubreuil, P. (2011).** Evaluation of spring organic treatments against *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) in honey bee *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) colonies in eastern Canada. *Experimental and Applied Acarology*, 55(1), 65-76.
- Glinski, Z., et Jarosz, J. (1984).** Alterations in haemolymph proteins of drone honey bee larvae parasitized by *Varroa jacobsoni*. *Apidologie*, 15(3), 329-338.

Grosmond Gilles(2008). Dr Vétérinaire guide des pratiques alternatives en apiculture P19.
En ligne : URL : https://www.abeilles_mayennaises.fr/IMG/pdf/

Gülmez, Y., Kisa, D., et Can, I. (2016). Effects of *Varroa destructor* anderson et trueman infestation on antioxidant enzymes of adult worker honey bee (*Apis mellifera* L.). *Asian Journal of Chemistry*, 28(3), 663.

Gurgoze,SY., Sahin,T., Sevgili,M. Ozkultu,Ozan,ST., 2003. L'effet du traitement à l'ivermectine ou à la doramectine sur certaines enzymes antioxydante et le niveau d'antioxydantes et le niveau de peroxydation lipidique chez les moutons atteints de gales sarcoptique naturelle. *Yuzuncu.Yil.Univ. Vétérinaire. Fac. Derg.* 14, 30-34.

Guzmán-novoa, E; Eccles, L; Calvete, Y; McGowan, J; Kelly p G; Correa-benitez, A (2010). *Varroa destructoris* the main culprit for the death and reduced populations of over winter honeybee (*Apis mellifera*) colonies in Ontario, Canada. *Apidologie*41: 443-450.

Habbi-Cherifi A.; Adjlane N.; Medjdoub-Bensaad F., (2019). La varroase de l'abeille mellifère: biologie, cycle de développement, pathogénie et moyens de lutte Algerian, *journal of arid environment* vol. 9, n°2.

Haleng J, Pincemail J, Defraigne J-O, Charlier C, Chapelle J-P., 2007. Le stress oxydant. *Rev Médicale Liège.* Belgique 62 : 10 : 628-638.

Halliwell B., (1999). How to characterize a biological antioxidant. *Free Radic Res Commun* 9, 1-32.

Harvell, C. D., (1994). The evolution of polymorphism in colonial invertebrates and social insects. *The Quarterly Review of Biology*, 69(2), 155-185.

honeybee drifting behaviour as a function of parasitism. *Apidologie.* doi: 10.1007/s13592-016-0475-1.

Houle E., (2004). Les méthodes physiques en lutte intégrée. Centre de référence en Agriculture et agroalimentaire du Québec. Journée champêtre en apiculture. 5p.

Jacobs F., Pflüger W., Schmidt H.W., Schmuck R. et Van Laere O., (2005). A propos de la santé des abeilles. Ed. P.R. Paris, 109p.

Jones, M. D., et Smith, S. E. (2004). Exploring functional definitions of mycorrhizas: are mycorrhizas always mutualisms?. *Canadian Journal of Botany*, 82(8), 1089-1109.

Kadiiska, M. B., Gladen, B. C., Baird, D. D., Germolec, D., Graham, L. B., Parker, C. E., ... et Barrett, J. C. (2005). Biomarkers of oxidative stress study II: are oxidation products of lipids, proteins, and DNA markers of CCl₄ poisoning?. *Free Radical Biology and Medicine*, 38(6), 698-710.

Kebbi, R., Besseboua, O., Belhadj-Kebbi, M., Hassissen, L., et Ayad, A. (2020). Hematological and Oxidative Status Parameters in Domestic Dogs Naturally Infested by Sp. *Macedonian Veterinary Review*, 43(2), 103-110.

Kiral, F., Karagenc, T., Pasa, S., Yenisey, C., et Seyrek, K. (2005). Dogs with Hepatozoon canis respond to the oxidative stress by increased production of glutathione and nitric oxide. *Veterinary Parasitology*, 131(1-2), 15-21.

Kirrane, M. J., De Guzman, L. I., Rinderer, T. E., Frake, A. M., Wagnitz, J., et Whelan, P. M., (2011). Asynchronous development of honey bee host and *Varroa destructor* (Mesostigmata: Varroidae) influences reproductive potential of mites. *Journal of economic entomology*, 104(4), 1146-1152.

Kralj, J., et Fuchs, S., (2006). Parasitic *Varroa destructor* mites influence flight duration and homing ability of infested *Apis mellifera* foragers. *Apidologie*, 37(5), 577-587.

Lacube J., (2015). L'ABC de l'apiculture, Edition Rustica, p.223.

Le ConteY et Navajas M (2008), Climat change : impact on honeybee populations and diseases. *Revue Scientifique et Technique-Office International des Epizooties*.Vol.27, n°2, pp.499-510

Leconte, C., (2015). From pathology to mainstream phenomenon: Reviewing the Euroscepticism debate in research and theory. *International Political Science Review*, 36(3), 250-263.

Lehucher-Michel, M. P., Lesgards, J. F., Delubac, O., Stocker, P., Durand, P., et Prost, M. (2001). Oxidative stress and human disease. Current knowledge and perspectives for prevention. *Presse Medicale (Paris, France: 1983)*, 30(21), 1076-1081.

Levine RL., (2002). Carbonyl modified proteins in cellular regulation, aging, and disease. *Free RadicBiol Med*; 32 : 790-796.

Liebig G. (1993). Volksstärke und Honigleistung. *Deutsches Bienen Journal* (6) 306-307.

Lushchak, V. I. (2014). Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification. *Chemico-biological interactions*, 224, 164-175.

MacLaren, D. P., Morton, J. P., M., Cable, N. T., Campbell, I. T., Evans, L., Bongers, T., ... et Drust, B. (2007). Elevated core and muscle temperature to levels comparable to exercise do not increase heat shock protein content of skeletal muscle of physically active men. *Acta physiologica*, 190(4), 319-327.

Marchenay, P., et Bérard, L., (2007). L'homme, l'abeille et le miel (p. 224). Editions De Borée.

Martin, S. J., (1994). Ontogeny of the mite *Varroa jacobsoni* Oud in worker brood of the honeybee *Apis mellifera* L under natural conditions. *Experimental and Applied Acarology* 18: 87-100.

Martin,S., Holland K., Murray M., (1997). Non-reproduction in the honey bee mite *Varroa jacobsoni*. *Experimental and applied acarology* 21, 539-549.

Michener, C. D. (1969). African genera of allodapine bees (Hymenoptera: Anthophoridae: Ceratinini). *Journal of the Kansas Entomological Society*, 289-293.

Miranda-Vilela, A. L., Alves, P. C., Akimoto, A. K., Lordelo, G. S., Gonçalves, C. A., Grisolia, C. K., et Klautau-Guimarães, M. N. (2010). Gene polymorphisms against DNA damage induced by hydrogen peroxide in leukocytes of healthy humans through comet assay: a quasi-experimental study. *Environmental Health*, 9(1), 1-9.

Mondet, F., Maisonnasse, A., Kretzschmar, A., Alaux, C., Vallon, J., Basso, B., ... et Le Conte, Y., (2016). Varroa: Son impact, les méthodes d'évaluation de l'infestation et les moyens de lutte. *Innovations Agronomiques*, 53, 63-80.

Murphy RC., (1996). Free radical-induced oxidation of glycerol phospho choline lipids and formation of biologically active products. *AdvExp Med Biol*; 416 : 51-58.

Najafgholian, J., Thahmasbi, G., Pakdel, A., et Nehzati, G. (2011). Effect of population size on the expression of hygienic behavior in the iranian honey bee. *Apis Mellifera meda*, 5, 44-52.

Nazzi, F; Brown, S P; Annoscia, D; Del piccolo, F; Di prisco, G; Varricchio, P; Della vedova, G; Cattonaro, F; Caprio, E; Pennacchio, F (2012). Synergistic parasite-pathogen interactions mediated by host immunity can drive the collapse of honeybee colonies. *PLoS Pathogens* 8(6): e1002735.

Nicholas, L., Calderone, W., (1998). Proximate mechanisms of age polyethism in the honey bee, *Apis mellifera*. *Apidologie* 29, 127–158.

Nicolas Vidal- Naquet, (2011). *Docteur Vétérinaire, diplômé en Apiculture et ... Vétérinaire conseil du GDSA IF, membre de la commission apicole des GTV.* 22 pages.

Oakeshott, J., Claudianos, C., Campbell, P. M., Newcomb, R. D., et Russell, R. (2010). Biochemical genetics and genomics of insect esterases. *Comprehensive molecular insect science. Volume, 5.*

Oldroyd B.-P., 2007, « What's Killing American HoneyBees ? », En ligne : URL : <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0050168>.

Palmieri, B., et Sblendorio, V. (2007). Oxidative stress tests: overview on reliability and use. *European review for medical and pharmacological sciences*, 11(6), 383-399.

Panasiuk, B., Skowronek W., Gerula D., (2009). Effect of period of the season and environmental conditions on rate of cleaning cells with dead brood. *J apic Sci* 53, 95- 103.

Pham-Huy, L. A., He, H., et Pham-Huy, C. (2008). Free radicals, antioxidants in disease and health. *International journal of biomedical science: IJBS*, 4(2), 89.

Philippe J.M., (1994). Le guide de l'apiculteur / Jean M.philippe, (2 éd, Révisée), -Aix-en-provence : Edisud, cop. 347 P. DE PL. ILL., 25 cm –ISBN 2-85744703-5 Bcsion/Magasins SAR cote : BCV SAR 1507.

Poisson C., 2013. Rôle du stress oxydant au niveau hépatique et rénal dans la toxicité de l'uranium après exposition chronique. ; Innovation thérapeutique : du fondamental à l'appliqué.

Pourrut B., Perchet G., Silvestre J., Cecche M., Guiresse M. et Pinelli E., 2008. Potential role of NADPH-oxylase in early steps of lead-induced oxidative burst in *vicia faba* roots. *journal of plante physiology* 165(6), 571-579.

Princemail J., Meurisse M., Limet R. et Defraigne J.O., 1999. Mesure et utilisation des antioxydants en médecine humaine Medisphère, 1-4.

Ramirez, L., Luna, F., Mucci, C. A., et Lamattina, L. (2020). Fast weight recovery, metabolic rate adjustment and gene-expression regulation define responses of cold-stressed honey bee brood. *Journal of Insect Physiology*, 128, 104178.

Ramirez, L., Negri, P., Sturla, L., Guida, L., Vigliarolo, T., Maggi, M., ... et Lamattina, L. (2017). Abscisic acid enhances cold tolerance in honeybee larvae. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 284(1852), 20162140.

Ramsey, S. D., Ochoa, R., Bauchan, G., Gulbranson, C., Mower y, J. D., Cohen, A., et Ellis, J. D., (2019). *Varroa destructor* feeds primarily on honey bee fat body tissue and not hemolymph. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 116, 1792– 1801.

Rasolofoarivao H., (2014). *Apis mellifera unicolor* (Latreille 1804, Hymenoptera Apidae) et *Varroa destructor* (Anderson and Trueman, 2000, Acari : Varroidae) à Madagascar : diversité génétique, impact et comportement hygiénique.

Ratnieks, F. L., et Carreck, N. L. (2010). Clarity on honey bee collapse?. *Science*, 327(5962), 152-153.

Ravazzi G., (2007). Abeille et apiculture, Vecchi, Paris, 43, 55, 72p.

Reshi, M. L., Su, Y. C., et Hong, J. R. (2014). RNA viruses: ROS-mediated cell death. *International journal of cell biology*.

Reuter, S., Gupta, S. C., Chaturvedi, M. M., et Aggarwal, B. B. (2010). Oxidative stress, inflammation, and cancer: how are they linked?. *Free radical biology and medicine*, 49(11), 1603-1616.

Robaux P., (1986). Varroa et Varroatoose. Edition Oppida, 238p.

Rosenkranz, P. et M. Renz. (2003). Varroa destructor infestation of adult bees, workerbrood and drone brood during the season and consequences for treatment concepts. *Apidologie* 34: 509-510.

Rosenkranz, P., Aumeier P. et Ziegelmann B., (2010). Biology and control of *Varroa destructor*. *Journal of Invertebrate Pathology* 103: S96-S119.

Rosenkranz, P., Tewarson, N. C., Singh, A., et Engels, W., (1993). Differential hygienic behaviour towards *Varroa jacobsoni* in capped worker brood of *Apis cerana* depends on alien scent adhering to the mites. *Journal of Apicultural Research*, 32(2), 89-93.

Ruttner F., (1988). Biogeography and Taxonomy of Bees. Springer-Verlag, Berlin, 284 p.

Samadieh, H., Mohammadi, G. R., Maleki, M., Borji, H., Azizzadeh, M., & Heidarpour, M. (2017). Relationships between oxidative stress, liver, and erythrocyte injury, trace elements and parasite burden in sheep naturally infected with *Dicrocoelium dendriticum*. *Iranian journal of parasitology*, 12(1), 46.

Satoh, K. (1978). Estimation of lipid peroxides by thiobarbituric acid reactive substances (TBARS). *Clin Chim Acta*, 90, 37-43.

Shahrouzi, R. (2009). Causes de mortalite'des colonies d'abeilles en Afghanistan. *Iraq Iran*, 22.

Singha, S. K., Dimri, U., Sharma, M. C., Swarup, D., et Sharma, B. (2011). Determination of oxidative status and apoptosis in peripheral blood of dogs with sarcoptic mange. *Veterinary parasitology*, 178(3-4), 330-338.

Steinbeck, M. J., Khan, A. U., et Karnovsky, M. J. (1993). Extracellular production of singlet oxygen by stimulated macrophages quantified using 9, 10-diphenylanthracene and perylene in a polystyrene film. *Journal of Biological Chemistry*, 268(21), 15649-15654.

Tentcheva, D., Gauthier, L., Zappulla, N., Dainat, B., Cousserans, F., Colin, M. E., et Bergoin, M. (2004). Prevalence and seasonal variations of six bee viruses in *Apis mellifera* L. and *Varroa destructor* mite populations in France. *Applied and environmental microbiology*, 70(12), 7185-7191.

Tewarson, N. C. (1983). Nutrition and reproduction in the ectoparasitic honey bee (*Apis* sp.) mite, *Varroa jacobsoni*. na.

Tremellen K, 2008. Oxidative stress and male infertility--a clinical perspective. *Hum Reprod Update* 14, 243-258.

Valko, M., Rhodes, C. J. B., Moncol, J., Izakovic, M. M., et Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-biological interactions*, 160(1), 1-40.

Van Dooremalen, C., Stam, E., Gerritsen, L., Cornelissen, B., Van der Steen, J., Van Langevelde, F., et Blacquière, T. (2013). Interactive effect of reduced pollen availability and *Varroa destructor* infestation limits growth and protein content of young honey bees. *Journal of insect physiology*, 59(4), 487-493.

Vergely, Oudot, A., C., Ecartot-Laubriet, A., et Rochette, L. (2003). Angiotensin II activates NADPH oxidase in isolated rat hearts subjected to ischaemia–reperfusion. *European journal of pharmacology*, 462(1-3), 145-154.

Wahl, O., et Ulm, K. (1983). Influence of pollen feeding and physiological condition on pesticide sensitivity of the honey bee *Apis mellifera carnica*. *Oecologia*, 59(1), 106-128.

Warring A. et Warring C., (2014). Abeilles : Tous s'avoir sur l'apiculture. Ed.Artémis. Paris, 179p.

Wassmann, S., Czech, T., van Eickels, M., Fleming, I., Böhm, M., et Nickenig, G. (2004). Inhibition of diet-induced atherosclerosis and endothelial dysfunction in apolipoprotein E/angiotensin II type 1A receptor double-knockout mice. *Circulation*, 110(19), 3062-3067.

Weinberg, K. P., et Madel, G., (1985). The influence of the mite *Varroa jacobsoni* Oud. on the protein concentration and the haemolymph volume of the brood of worker bees and drones of the honey bee *Apis mellifera* L. *Apidologie*, 16(4), 421-436.

Weirich, D., et Sasse, M. A. (2001). Pretty good persuasion: a first step towards effective password security in the real world. In *Proceedings of the 2001 workshop on New security paradigms* (pp. 137-143).

Weirich, G.F., Collins, A.M., Williams, W.P. (2002). Antioxidant enzymes in the honeybee, *Apis mellifera*. *Apidologie*33(1), 3–14

Wilde, J., Fuchs S., Bratkowski J., Siuda M., (2005). Distribution of *Varroa destructor* between swarms and colonies. *Journal of Apicultural Research* 44, 190.

Wilson, E.O., (1971). The insect societies. Cambridge, Massachusetts: Harvard University Press.

Winston ML, (1993). La biologie de l'abeille. Traduit de l'anglais par G. Lambermont. Ed. Frison Roche. Paris. p276.

Winston, (1987). The Diversity of Insects. En ligne : URL : <https://www.alexanderwild.com/>

Woodside, J. V., et Young, I. S. (2001). Dietary antioxidants and protection from coronary heart disease. In *Nutritional Health* (pp. 101-120). Humana Press, Totowa, NJ.

Wulf, D. M., Emmett, R. S., Leheska, J. M., et Moeller, S. J. (2002). Relationships among glycolytic potential, dark cutting (dark, firm, and dry) beef, and cooked beef palatability. *Journal of animal Science*, 80(7), 1895-1903.

www.abeilles.ch/aidememoire Hotline 0800 274 274 V 2110

Yang X, Cox-Foster DL (2005). Impact of an ectoparasite on the immunity and pathology of an invertebrate: evidence for host immunosuppression and viral amplification. *Proc Natl Acad Sci USA* 102(21), 7470-5.

Yang, X., et Cox-Foster, D. (2007). Effects of parasitization by *Varroa destructor* on survivorship and physiological traits of *Apis mellifera* in correlation with viral incidence and microbial challenge. *Parasitology*, 134(3), 405-412.

Zbigniew lipin´ski and krystyna Zóltowska (2005). Preliminary evidence associating oxidative stress in honey bee drone brood with *Varroa destructor*

Zoltowska, K., Grochla, P., et Lopienska-Biernat, E. (2006). Activity of superoxide dismutase in *Galleria mellonella* larvae infected with entomopathogenic nematodes *Steinernema affinis* and *S. feltiae*. *Wiadomości Parazytologiczne*, 52(4)

Résumé

L'objectif de la présente étude est en premier lieu d'évaluer le stress oxydatif chez les nymphes de faux bourdons de l'abeille locale *Apis mellifera intermissa* infestées par le parasite *Varroa destructor*. En second lieu d'évaluer l'effet de la force de la colonie sur le stress oxydant chez les nymphes de faux bourdons. 240 nymphes de faux bourdons non infestées et de nymphes de faux bourdons infestées par le *varroa destructor* ont été prélevées à partir de colonies d'abeilles fortes et de colonies faibles. Pour chaque catégorie de nymphes, nous avons effectué deux tests pour évaluer le stress oxydatif : le test TBARS pour la mesure de peroxydation lipidique et le test ABTS pour la mesure de l'activité anti oxydante totale. Les résultats générés par l'étude ont été analysés avec le logiciel de statistiques Statview. Nous sommes parvenues à la conclusion que le parasitisme par le *varroa destructor* avait engendré un stress oxydatif, et que l'intensité du stress oxydant variait en fonction de la force de la colonie.

Mots clés : nymphe, *Apis mellifera intermissa*, faux bourdon, *varroa destructor*, stress oxydatif, TBARS, ABTS

Abstracts

The main objective of this study is to assess oxidative stress in the honey bee pupae of the local bee *Apis mellifera intermissa* that are infested with the mite *Varroa destructor*. The Second objective is to assess the effect of colony strength on oxidative stress in the drone's pupae.

240 pupae's of uninfested drones and drone's pupae infested with *Varroa destructor* mite were collected from strong and weak bee colonies. For each category of honey bee pupae, two tests were performed to assess oxidative stress: the TBARS test for lipid peroxidation measurement and the ABTS test for total antioxidant activity measurement.

The results generated by the study were analyzed with the Statview statistics software.

We concluded that *Varroa destructor* parasitism had created oxidative stress, and that the intensity of oxidative stress varied with the strength of the colony.

Keywords: Honey bee pupae, *Apis mellifera intermissa*, drone, *Varroa destructor*, oxidative stress, TBARS, ABTS.