

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Réf : ...../UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/2021

## MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

**Domaine** : Science de la nature et de vie    **Filière** : Biologie

**Spécialité** : Biotechnologie Microbienne

**Présenté par :**

*AMMAR KHODJA Hocine & BENABDERRAHMANE Nouara*

*Thème*

**Isolement et caractérisation du microbiote intestinal de  
l'abeille domestique *Apis mellifera intermissa* dans la  
région de Bouira**

**Soutenu le :** 15/07/2021

**Devant le jury composé de :**

<i>Nom et Prénom</i>	<i>Grade</i>		
<i>Dr METIDJI Karima</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Présidente</i>
<i>Dr CHERIFI Assia</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Promotrice</i>
<i>Dr DJENADI Katia</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Co-promotrice</i>
<i>Dr BOUTELDJA Razika</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Examinatrice</i>

**Année Universitaire : 2020/2021**

## **Remerciement**

Arrivé au terme de notre mémoire, nous remercions notre grand Dieu tout puissant, lui exprimant notre reconnaissance pour sa grande générosité. Dieu nous a garanti la foi, la volonté, la patience, la santé et la confiance durant toutes nos années d'études.

Nous remercions nos parents pour leur patience, générosité ; qui nous ont toujours souhaité beaucoup de motivation, d'encouragements et surtout pleins de bonheurs.

Nous tenons à remercier sincèrement **Mme. CHERIFI Assia** (Promotrice) et **Mme. DJENADI Katia** (Co-promotrice), qui fut pour nous des encadreurs attentifs et disponibles malgré leurs nombreuses charges. Leur compétence, leur rigueur scientifique et leur clairvoyance nous ont beaucoup aidées dans notre parcours. Elles ont été de tout temps disponible avec nous pendant la préparation jusqu'à la finalisation de ce mémoire.

Nous exprimons tous nos remerciements à l'ensemble des membres du jury **Mme. METIDJI K** (Présidente) et **Mme. BOUTELDJA R** (Examinatrice), qui ont bien voulu nous honorer et accepter d'évaluer notre travail.

Nous tenons à exprimer toute notre gratitude à **Mme Sad-Eddine** enseignante au niveau de l'Université de Bejaïa pour son aide et sa disponibilité pour accomplir notre stage pratique.

Nous souhaitons aussi adresser nos remerciements les plus sincères à **M. Chedri**, ingénieur de laboratoire à l'université Akli Mouhand Oulhadj de Bouira pour son aide et sa serviabilité.

Nous tenons aussi à adresser toute notre gratitude à **Mme. Rouane** qui s'est montré toujours présent pour nous donner de l'aide en matière de matériels nécessaires pour effectuer notre pratique dans les bonnes conditions.

Nous recommandons nos plus cordiaux remerciements à tous nos proches, amis et camarades de Master II, qui nous ont toujours soutenu et encouragé au cours de la réalisation de ce mémoire.

Nous ne saurons terminer nos remerciements sans citer toutes les personnes qui « sont dans l'ombre » et dont leur contribution à notre travail est non négligeable, notamment tout le personnel du laboratoire de la faculté de Bouira ainsi que de la faculté Bejaïa.

Merci à toutes et à tous !

*A mes très chers parents*

Ma mère et mon père qui m'ont soutenu au long de mes études.

A qui je dois tout.

*A mon Frères et mes sœurs*

Source d'espoirs et de motivation.

*À mon binôme Hocine*

Merci pour ton soutien, tes efforts, ta patience, et pour tous les moments de galère et de pression qu'on a surmontés ensemble.

*A toute ma famille*

*A tous mes amis*

*A tous les gens qui m'aiment*

*A vous aussi . . .*

*~ Nouara ~*

*À mes chers parents*

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consentis pour mon instruction et mon bien-être,

Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagnera toujours.

Merci à vous deux encore mille fois. Que Dieu le plus puissant vous garde et vous procure la santé, le bonheur et la longue vie.

*À mes chers frères*

En témoignage de mon affection fraternelle, de ma profonde tendresse et reconnaissance, je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès et que Dieu, le tout puissant, vous protège et vous garde.

*À ma chère sœur*

Une sœur comme on ne peut trouver nulle part ailleurs, Puisse Allah te protéger, garder et renforcer notre fraternité. Je te souhaite tout le bonheur du monde.

*À mon binôme Nouara*

Merci pour tes efforts, ta patience, et pour tous les moments de galère qu'on a surmontés ensemble.

À mes amis de toujours **Amine, Fayçal, Yahia.**

*Je tiens à présenter mes reconnaissances et mes remerciements*

À tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail,

À tous ceux ou celles qui me sont chers et que j'ai omis involontairement de citer.

*~ Hocine ~*

**Table des matières**

**Remerciement**

**Dedicace**

**Liste des abréviations**

**Liste des figures**

**Liste des tableaux**

**INTRODUCTION GENERALE ..... 1**

**CHAPITRE I : GENERALITES SUR L'ABEILLE DOMESTIQUE *Apis mellifera***

I.1. Position systématique d'*Apis mellifera* ..... 3

I.2. Répartition géographique ..... 3

I.3. Anatomie générale d'*Apis mellifera* ..... 4

    I.3.1 . Morphologie externe..... 4

    I.3.2 . Morphologie interne ..... 5

I.4. Organisation des abeilles dans la colonie..... 9

    I.4.1 . Description du nid des abeilles ..... 10

I.5. Reproduction et cycle de développement..... 12

    I.5.1 . Le développement..... 13

I.6. Alimentation et durée de vie ..... 14

**Chapitre II : Pathologies de l'abeille**

II. Pathologies de l'abeille ..... 15

    II.1. Maladies typiques du couvain..... 16

        II.1.1 . Loque américaine ..... 16

        II.1.2 Loque européenne ..... 16

        II.1.3 Le couvain plâtré ou Ascospherose..... 18

    II.2. Maladies des abeilles adultes ..... 19

II.2.1 L'acariose.....	19
II.2.2 Varroase .....	19
II.2.3 La nosémose .....	20
II.3. Le microbiote intestinal d' <i>Apis mellifera</i> .....	21
II.4. Rôle du microbiote et de ses composantes .....	23
<b>Chapitre III : Matériel et méthodes</b>	
III.1. Zone d'échantillonnage .....	25
III.1.1 . Données climatiques .....	25
III.1.2 . Emplacement du rucher .....	26
III.2. Matériel.....	27
III.2.1 . Matériel de recueil des échantillons sur le terrain.....	27
III.2.2 . Matériel biologique .....	28
III.3. Méthodes d'étude .....	28
III.3.1 . Echantillonnage et méthodes d'étude .....	28
III.3.1 . Etude de la diversité du microbiote de l'abeille.....	29
III.3.2 . Etude histologique.....	33
Résultats et discussion.....	36
IV. Résultats et discussion .....	36
IV.1. Résultats .....	36
IV.1.1 . Diversité bactérienne dans le corps de l'abeille.....	36
IV.2. Discussion .....	43
<b>Conclusion.....</b>	<b>46</b>
<b>VI. Références bibliographiques.....</b>	<b>47</b>
<b>Annexes .....</b>	<b>58</b>
<b>Résumé</b>	

**Liste des abréviations**

<b>MI:</b>	Microbiote intestinal, Microbiote intestinal
<b>C:</b>	Chapman
<b>fcf:</b>	Faible colonie couvain fermé
<b>Fcf:</b>	Forte colonie couvain fermé
<b>fco:</b>	Faible colonie couvain ouvert
<b>Fco:</b>	Forte colonie couvain ouvert
<b>FE:</b>	Forte colonie entrée
<b>FFB:</b>	Forte colonie faux bordeaux
<b>H:</b>	Hektoen
<b>LB:</b>	Luria Bertani
<b>M.E.V.A.G:</b>	Milieu d'Etude de la Voie d'Attaque des Glucides
<b>MRS:</b>	Man Rogosa et Sharpe
<b>RM-VP:</b>	Rouge de méthyle et de Voges-Proskauer
<b>S1:</b>	Souche 1
<b>S2:</b>	Souche 2
<b>TSI:</b>	Triple Sugar Iron
<b>VF:</b>	Viande foie

## Liste des figures

<b>Figure 1:</b> <i>Apis mellifera</i> .....	3
<b>Figure 2:</b> Morphologie de l'abeille .....	4
<b>Figure 3:</b> Schéma de l'anatomie interne de l'abeille adulte, Vue latérale .....	6
<b>Figure 4:</b> Anatomie de l'appareil respiratoire de l'abeille adulte .....	7
<b>Figure 5:</b> Schéma du système nerveux de l'abeille adulte, Vue latérale.....	8
<b>Figure 6:</b> Schéma du système digestif et excréteur de l'abeille adulte, Vue latérale.....	9
<b>Figure 7:</b> Les trois castes des abeilles .....	10
<b>Figure 8:</b> Un cadre avec couvain ouvert, operculé.....	10
<b>Figure 9:</b> Développement de différentes castes de la colonie d'abeilles.....	14
<b>Figure 10:</b> Représentation de la pathosphère de l'abeille mellifère .....	15
<b>Figure 11:</b> Signes cliniques de la loque américaine .....	16
<b>Figure 12:</b> La loque européenne sur un cadre du couvain. A= larves avec teinte jaunâtre, B= larves saines .....	17
<b>Figure 13:</b> Les différents types de momies. A= momie noire. B= Momie Blanche.....	18
<b>Figure 14:</b> A= Femelle <i>Acarapis woodi</i> . B=œuf embryonné (x 400).....	19
<b>Figure 15:</b> Femelle <i>V. destructor</i> sur nymphe d' <i>A. mellifera</i> unicolor.....	20
<b>Figure 16:</b> Spores de <i>Nosema ceranae</i> (a) et de <i>Nosema apis</i> (b) observé sous microscopie optique x1000 (barre = 5 µm).....	21
<b>Figure 17:</b> Représentation de l'intestin d' <i>Apis mellifera</i> et composition bactérienne générale du microbiote.....	23
<b>Figure 18:</b> Localisation de la station d'échantillonnage.....	27

**Liste des tableaux**

<b>Tableau 1:</b> Rôles des ouvrières selon leur période de vie .....	11
<b>Tableau 2:</b> Liste des bactéries présentes dans le microbiote intestinal de l'abeille ouvrière. .	22
<b>Tableau 3:</b> Températures moyennes mensuelles de la région de Bouira (2014-2016) .....	25
<b>Tableau 4:</b> Précipitations moyennes mensuelles (mm) de la station météorologique de Bouira (Période : 2014-2016).....	26
<b>Tableau 5:</b> Aspect macroscopique des isolats sur les différents milieux .....	36
<b>Tableau 6:</b> Aspect microscopique des isolats .....	38
<b>Tableau 7:</b> Résultats de la galerie biochimique .....	40

## INTRODUCTION GENERALE

Les abeilles sociales du genre *Apis* existent depuis 10 à 20 millions d'années. En effet, l'Abeille domestique, ou *Apis mellifera*, est un insecte eusocial qui est élevé par l'homme depuis des milliers d'années (Philippe, 2007).

L'importance de l'abeille domestique est liée à la production de miel, de gelée royale et de cire. Ces produits de la ruche sont connus non seulement pour leur importance économique, mais aussi pour leurs effets bénéfiques sur la santé de l'homme (Imdorf *et al.*, 2006) cité par Rouibi, (2016). En outre, Les colonies d'abeilles *A. mellifera* sont d'une importance vitale pour la production agricole de nombreuses denrées, puisque plusieurs plantes dépendent en partie et parfois totalement de la pollinisation. Par ailleurs, elles assurent le maintien de la biodiversité des écosystèmes et elles sont considérées comme d'excellents indicateurs biologiques (Bradbear, 2010).

Toutefois, l'abeille domestique est confrontée à diverses maladies infectieuses, qui peuvent être classées en quatre grandes catégories : parasitaires et envahisseurs (acariens, insectes et protozoaires), bactériennes, fongiques et virus. Selon De Jong *et al.*, (1982), plus de 83 espèces d'acariens ont été retrouvées dans les ruchers du monde, mais la plupart ne sont pas considérés préoccupants puisque le genre *Apis* n'est pas leur hôte habituel. Cependant, les principales infestations par des acariens chez l'abeille domestique sont causées par le *Varroa destructor*, les acariens du genre *Acarapis* (*A. woodi*, *A. externus* et *A. dorsalis*) et les acariens du genre *Tropilaelaps*. Pour les maladies bactériennes, deux bactéries causent des problèmes de santé dans le couvain à savoir : *Melissococcus plutoniuse* et *Paenibacillus larvae* qui sont respectivement responsable de la loque européenne, et de la loque américaine (Evans et Schwarz, 2011). D'autres parts, des champignons peuvent également être source de maladie pour l'abeille. Parmi ces champignons *Nosema spp* qui attaque le tube digestif de l'abeille adulte, ainsi que *Ascospaera apis* et *Aspergillus spp*. Causant des problèmes dans le couvain (Bailey, 1968, Evans et Schwarz, 2011).

En Algérie, rares sont les études et les enquêtes sur la situation des colonies d'abeilles bien que depuis plusieurs années, des phénomènes de mortalités anormales des abeilles locales, de disparitions de butineuses sont souvent signalés par les apiculteurs. Aucune étude antérieure n'a permis d'incriminer un facteur de risque précis. Toutefois, cinq maladies des abeilles figurent sur la liste des maladies animales à déclaration obligatoire fixée par décret exécutif n° 95-66 du 22 février 1995. Ce sont : La varroase, les loques américaines et européennes, la

nosémose et l'acariose des abeilles. A part quelques travaux de recherches sur le *Varroa* (Achou, 2007, Adjlane, 2010, Belaid et Doumandji, 2010, Loucif-Ayad *et al.*, 2010, Adjlane *et al.*, 2013, Berkani-Ghalem *et al.*, 2013, Cherifi et Aouar-Sadli, 2014, Adjlane *et al.*, 2015, Aouar-Sadli *et al.*, 2019). Les études sur les autres pathologies apicoles telles que la nosémose et la loque américaine ainsi que l'évaluation de leur prévalence dans les colonies d'abeilles, et leur relation dans l'affaiblissement et les mortalités signalées sont vraiment rares (Adjlane *et al.*, 2012, Adjlane *et al.*, 2016).

Par ailleurs, Le microbiote intestinal (MI) représente l'ensemble des bactéries présentes dans le tube digestif. Il participe au maintien de l'homéostasie et à la défense contre les infections (Lemaitre et Miguel-Aliaga, 2013). Chez l'abeille domestique, ce microbiote est assez proche de celui des mammifères bien qu'il soit moins complexe dans sa composition (Kwong et Moran, 2016). En 2017, Kwong et ses collègues ont montré une augmentation de l'expression des gènes de deux peptides antimicrobiens apidécine (Casteels *et al.*, 1994) et hyménoptécine (Casteels *et al.*, 1993) dans les tissus et dans la lumière du tube digestive. Ceci permettrait de réguler le microbiote intestinal naturel et de participer à une meilleure résistance de l'abeille aux bactéries pathogènes qui pourraient être ingérées.

L'objectif de ce présent travail consiste à mettre en évidence la diversité microbienne à l'intérieur du corps de l'abeille domestique. Notre approche vise à exposer les microorganismes présents chez l'abeille par isolement et caractérisation microbiologiques et histologiques d'*Apis mellifera* de la région de Bouira.

Ce travail débute par une synthèse bibliographique qui résume dans les deux premiers chapitres des généralités sur l'abeille domestique *Apis Mellifera* ainsi que les pathologies qui menacent cette dernière. Puis la partie expérimentale qui porte sur l'ensemble du matériel et méthodes appliquées sur le terrain et au laboratoire pour la réalisation de cette recherche. Il se poursuit par les résultats obtenus et la discussion. Enfin nous terminons par une conclusion et perspectives.



***SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE***

*CHAPITRE I : GENERALITES  
SUR L'ABEILLE DOMESTIQUE  
*Apis mellifera**

### **I.1. Position systématique d'*Apis mellifera***

L'abeille domestique est un insecte social (Aufauvre, 2013), appartenant à l'ordre des hyménoptères, du grec « hymen » qui signifie membrane et « ptéra » qui veut dire aile, et à la famille des apidés (Roman, 2009). C'est au sein de la sous famille des Apinés que l'on trouve les abeilles mellifères (Figure 1) du genre *Apis* (Boucher, 2016).

Selon Linné (1758) , l'abeille domestique appartient à la classification suivante :

- **Règne** : Animalia
- **Embranchement** : Arthropoda
- **Sous- Embranchement** : Pancrustacea
- **Classe** : Insecta
- **Ordre** : Hymenoptera
- **Sous-Ordre** : Apocrita
- **Famille** : Apidae
- **Genre** : *Apis*
- **Espèce** : *Apis mellifera* Linnaeus



**Figure 1:** *Apis mellifera* (M'henni, 2003).

### **I.2. Répartition géographique**

*Apis mellifera* est présente à l'origine en Europe et en Afrique (Le conte, 2011). Cependant, avec les échanges commerciaux, elle est actuellement répandue sur toute la surface du globe, excepté dans les pays où l'hiver est trop rigoureux. En effet, la répartition d'*Apis mellifera* s'étend depuis la pointe sud des savanes africaines, passant par la méditerranée jusqu'à atteindre la limite de son expansion en Europe du nord et en Scandinavie du sud. Une telle variété d'habitat, de conditions climatiques et de flore, a permis l'apparition de nombreuses sous espèces ou races géographiques qui sont interfécondes, chacune avec ses caractéristiques morphologique et physiologique adaptées à chaque région (Chauvin, 1968).

En Algérie, on signale la présence de deux races :

- *Apis mellifera intermissa* décrite par Buttel-Reepen en (1906), appelée également abeille tellienne : elle est la plus répandue et son aire de répartition

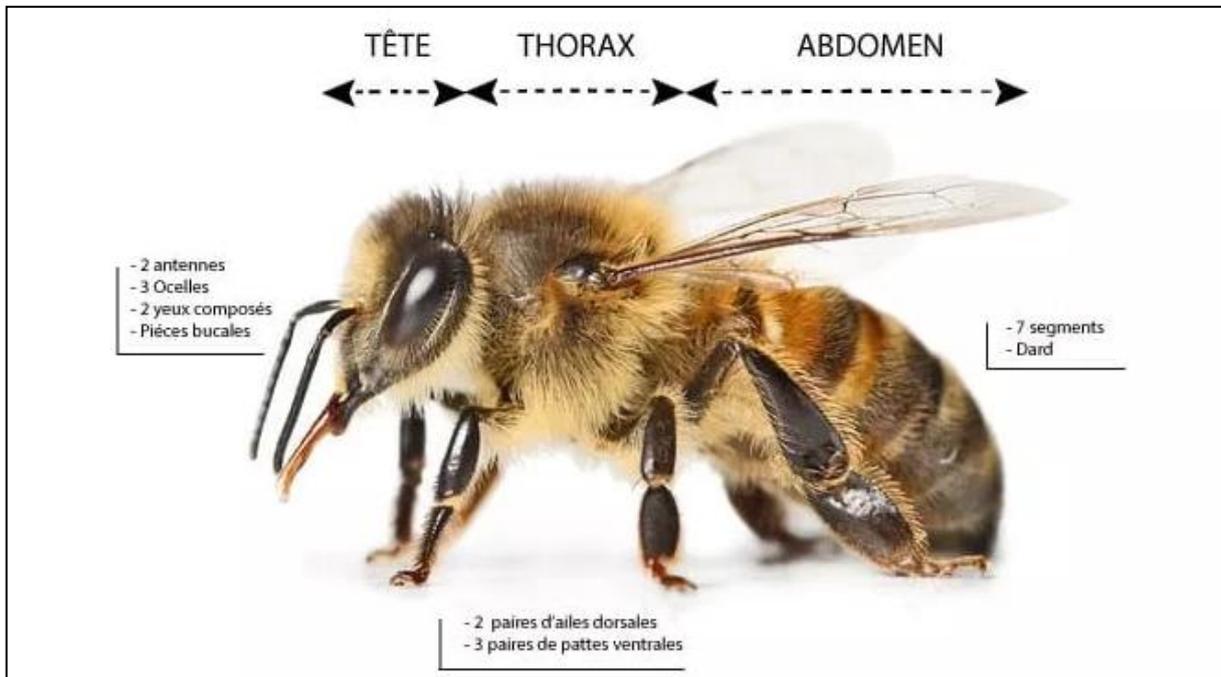
s'étend à toute l'Afrique du nord : Maroc, Tunisie, Algérie (Barour *et al.*, 2011, Loucif-Ayad *et al.*, 2015) et Lybie (Le conte, 2011). En Algérie, elle est rencontrée, plus précisément, au nord du Sahara Algérien (Adam, 1953, Bendjedid et Achou, 2014).

- *Apis mellifera sahariensis*, ou abeille saharienne : elle a été décrite par Haccour (1961). Elle est localisée au sud du Maroc et d'Algérie (plus particulièrement, au sud-ouest : Bechar, Ain Sefra ...).

### I.3. Anatomie générale d'*Apis mellifera*

#### I.3.1. Morphologie externe

L'*Apis mellifera* est une abeille possédant un corps segmenté avec une cuticule qui entoure tout leur corps. Cette membrane externe de chitine dure est recouverte de poils) (Le Conte et Albouy, 2014). Le corps est constitué de trois parties : une tête qui porte les principaux organes sensoriels, un thorax muni de deux paires d'ailes et de trois paires de pattes et un abdomen qui contient la plus grande partie des organes internes (Figure 2) (Winston et Mark, 1993).



**Figure 2:** Morphologie de l'abeille (Kerbastard, 2020).

### **I.3.1.1. La tête (prosome)**

C'est une capsule ovoïde (Le conte, 2011) qui présente deux grands yeux composés et trois ocelles (organes visuels), placés de chaque côté de la tête, elle présente aussi des antennes qui permettent la communication et les pièces buccales. Elle est reliée au thorax par un premier rétrécissement, le cou (Gustin, 2008, Clément, 2010).

Selon Pelletier (2010), la tête comprend aussi des cellules nerveuses liées aux sens réparties sur plusieurs régions elles ont aussi un rôle très important dans la mémoire, la navigation, et le contrôle moteur. Ayme (2014), indique que les deux antennes de l'abeille assurent le fonctionnement de ces sens (Toucher, odorat). En outre, elles procurent des informations sur l'humidité, la température et la teneur de l'air en CO<sub>2</sub> (Pelletier, 2010).

### **I.3.1.2. Le thorax (mésosome)**

Il est composé de trois segments appelés : prothorax, mésothorax et métathorax (Bakiri, 2018). C'est la partie la plus dure du corps (Riondet, 2013). Il assure la locomotion de l'abeille car il porte deux paires d'ailes et les trois paires de pattes (Clément, 2010). Les ailes sont séparées en ailes antérieures et postérieures qui s'accrochent grâce à des crochets (Pohl, 2008). Le thorax est relié à l'abdomen par un segment étroit nommé le « pétiole », il contient des muscles puissants et trois paires d'orifices respiratoires appelés stigmates (Le conte, 2011).

### **I.3.1.3. L'abdomen (métasome)**

C'est la partie la plus postérieure et la plus grande du corps, composée de sept segments visibles et abritant la majorité des organes internes (Bourg, 2006). D'après Ivert (2016), l'abdomen contient, une série de systèmes complexes qui comprend, entre autres, le système respiratoire, le système reproducteur, le système digestif et l'organe de venin pour les reines et les ouvrières.

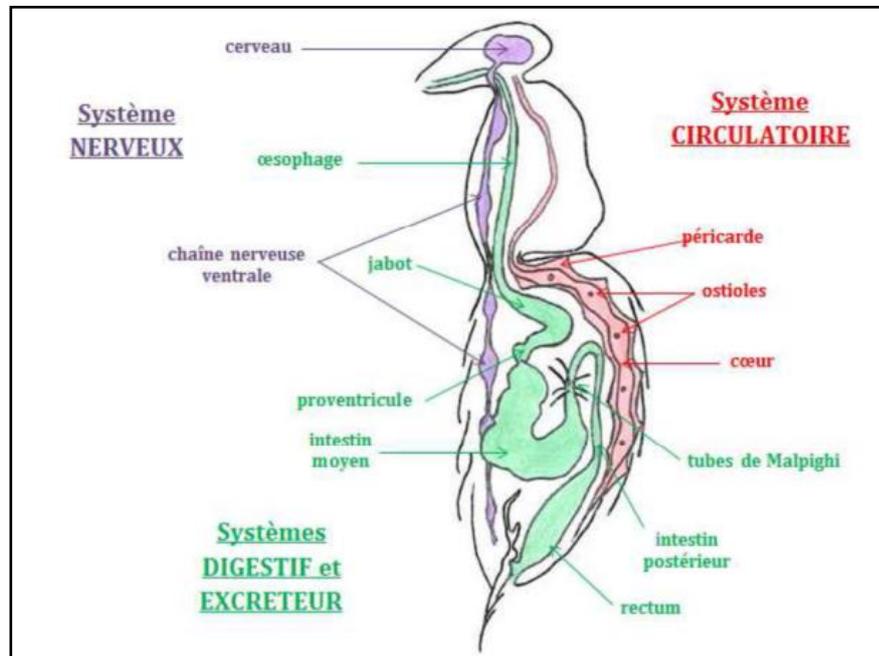
## **I.3.2. Morphologie interne**

### **I.3.2.1. Système circulatoire**

Comme pratiquement tous les insectes, les abeilles ont les systèmes respiratoire et circulatoire séparés. Toutefois, le système circulatoire est un système ouvert. Et extrêmement simple (Figure 3), il est constitué d'un cœur dorsal composé de cinq ventricules abdominaux, séparés par des ostioles. Ce cœur propulse le liquide circulatoire, appelé hémolymphe, dans une aorte reliant l'abdomen à la tête (Le Conte, 2004, Biri, 2010).

Ensuite l'hémolymphe se propage de façon lacunaire tout autour des organes.

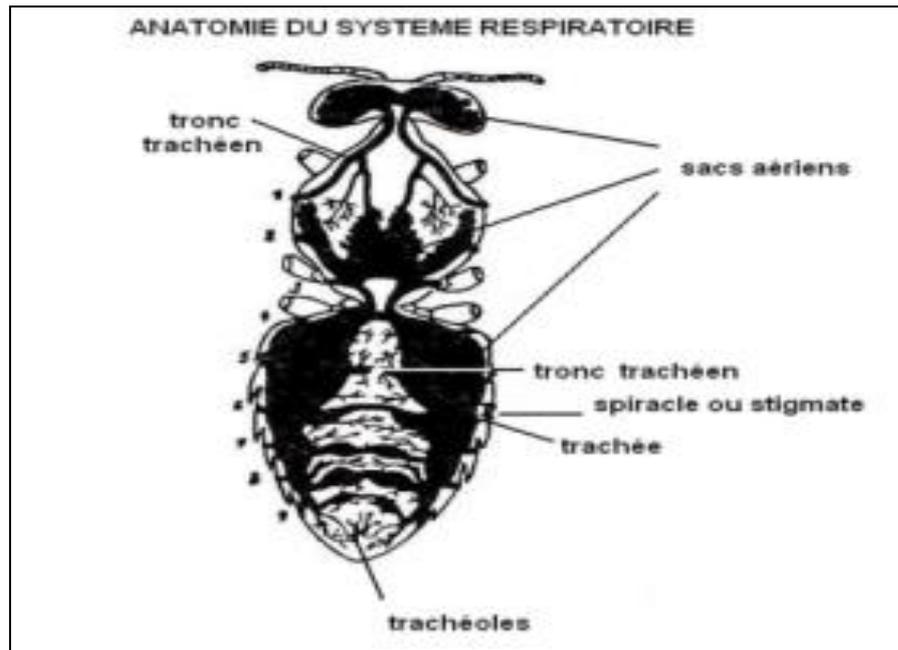
Les fonctions principales du système circulatoire sont : l’approvisionnement des cellules du corps en hormones et en éléments nutritifs depuis l’intestin moyen, l’évacuation des déchets issus du métabolisme cellulaire, ainsi que la participation à la défense de l’organisme (Le Conte, 2004, Biri, 2010).



**Figure 3:** Schéma de l'anatomie interne de l'abeille adulte, Vue latérale (Paillot, 1949).

### **I.3.2.2. Système respiratoire**

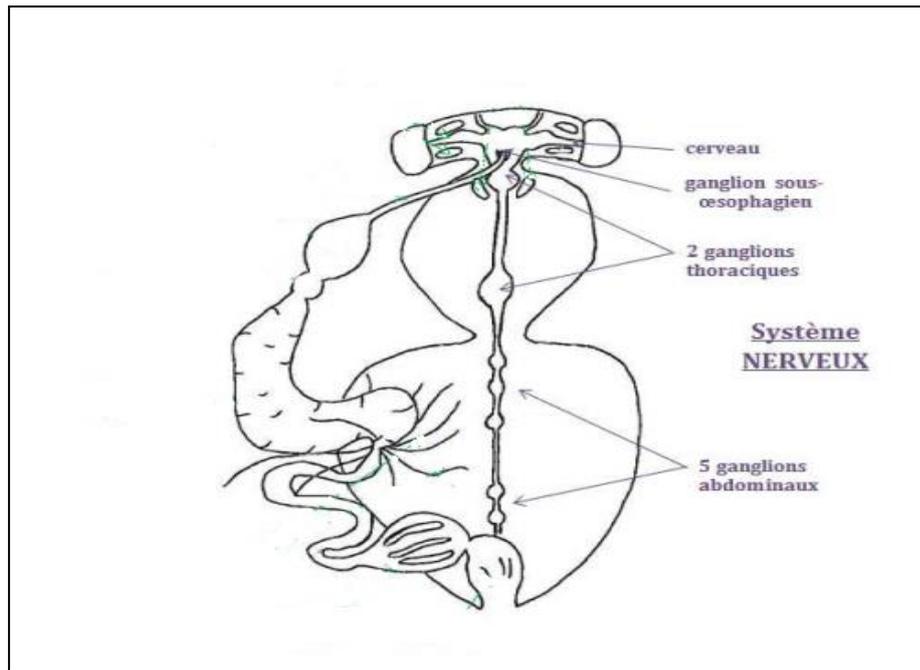
Dans le système respiratoire les échanges gazeux sont assurés par un réseau de sacs aériens et de trachées qui se ramifient en trachéoles apportant directement l’oxygène au niveau cellulaire (Figure 4). Les trachées s’ouvrent sur l’extérieur par une paire de stigmates thoracique et abdominal, ces derniers comprennent une valve et une chambre munie de poils permettant la filtration de l’air. L’ouverture et la fermeture des valves sont commandés par des muscles qui initient les mouvements respiratoires, formant ainsi une puissante pompe. Les sacs aériens facilitent également le vol en réduisant le poids total de l’abeille (Le Conte, 2004, Biri, 2010).



**Figure 4:** Anatomie de l'appareil respiratoire de l'abeille adulte (Encyclopédie de la langue française, 2013).

### I.3.2.3. Système nerveux

Le système nerveux chez les insectes est constitué du système nerveux central et du système nerveux stomatogastrique, lié à l'activité des organes internes (peu décrit chez l'abeille) (Figure 5). Le système nerveux central comprend une chaîne ventrale de huit ganglions nerveux (ganglion sous-œsophagien, deux ganglions thoraciques et cinq abdominaux) et un cerveau qui résulte de la fusion des trois premières paires de ganglions (Le Conte, 2004, Biri, 2010).

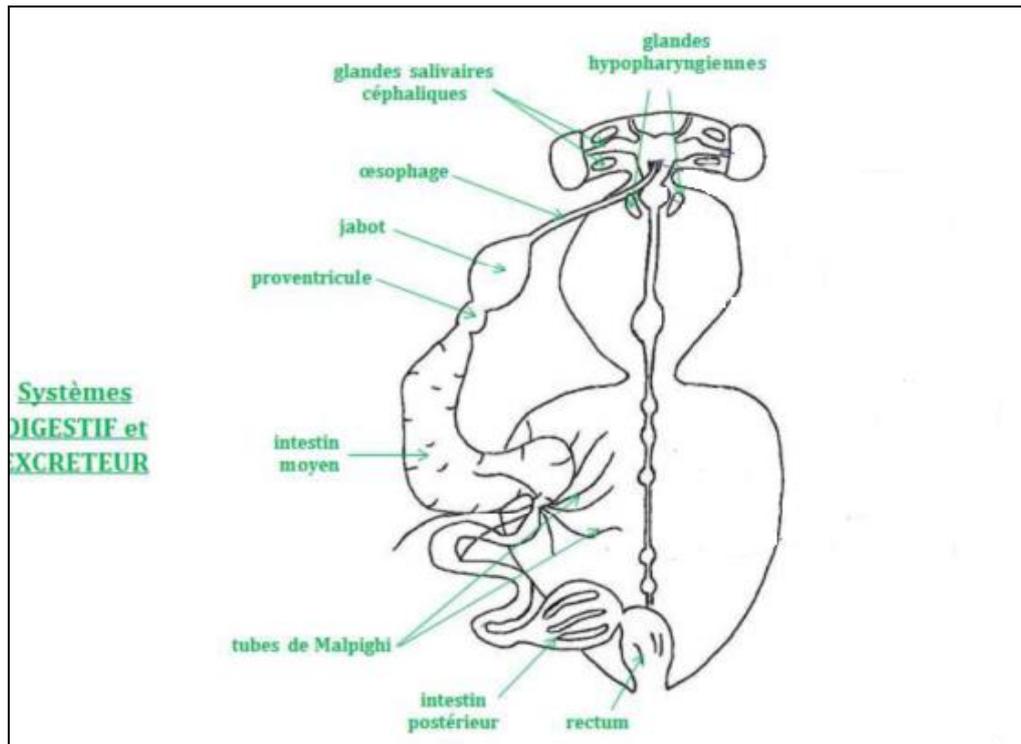


**Figure 5:** Schéma du système nerveux de l'abeille adulte, Vue latérale (Paillot, 1949).

#### I.3.2.4. Système digestif et excréteur

Le système digestif de l'abeille commence par la bouche où se trouvent sur la lèvre inférieure les glandes salivaires (fonction peu définie) et nourricières (glandes hypopharyngiennes qui sécrètent la gelée royale) et se prolonge par l'hypopharynx puis le pharynx qui se comporte comme une pompe d'aspiration (Figure 6). L'œsophage achemine par la suite les aliments jusqu'au jabot qui sert de réservoir pour transporter miel, nectar ou eau (Le Conte, 2004, Biri, 2010).

Le système digestif se continue par un ventricule ou intestin moyen, lieu de la digestion et de l'absorption. Une valve proventriculaire, située entre le proventricule et l'intestin moyen, empêche les liquides de remonter dans le jabot. Autour de l'intestin moyen se trouvent les tubes de filtration des déchets du métabolisme cellulaire contenus dans l'hémolymphe appelés les tubes de Malpighi. Ces derniers s'abouchent dans l'intestin postérieur. Les déchets azotés liquides se mélangent aux déchets solides de la digestion et s'accumulent dans le rectum, très extensible pour permettre d'accumuler les déchets, en particulier pendant l'hiver. La défécation se réalise à l'extérieur de la ruche lors d'un vol dit, « de propreté » (Le Conte, 2004, Biri, 2010).



**Figure 6:** Schéma du système digestif et excréteur de l'abeille adulte, Vue latérale (Paillot, 1949)

#### I.4. Organisation des abeilles dans la colonie

L'abeille mellifique vit au sein d'une famille, ou colonie, permanente dont le nombre de membres varie en fonction de la saison et de la force spécifique de chaque ruche la race, les qualités génétiques et l'âge de la reine (Von Frisch, 1977, Ravazzi, 2007). La communauté des abeilles se base sur l'existence de trois castes (la reine, les ouvrières et les faux-bourdon) (Figure 7) qui accomplissent des activités bien différenciées, s'aident et se complètent les unes les autres pour la survie de la communauté (Crespi, 1983). Une colonie comporte au minimum environ quinze mille individus en hivers, ce chiffre pouvant passer à cent mille en période de récolte avec environ 95 % d'ouvrières et 5 % de mâles ou faux-bourdon (Von Frisch, 1977, Ravazzi, 2007). Ces individus correspondent à la descendance d'une mère unique, la reine.

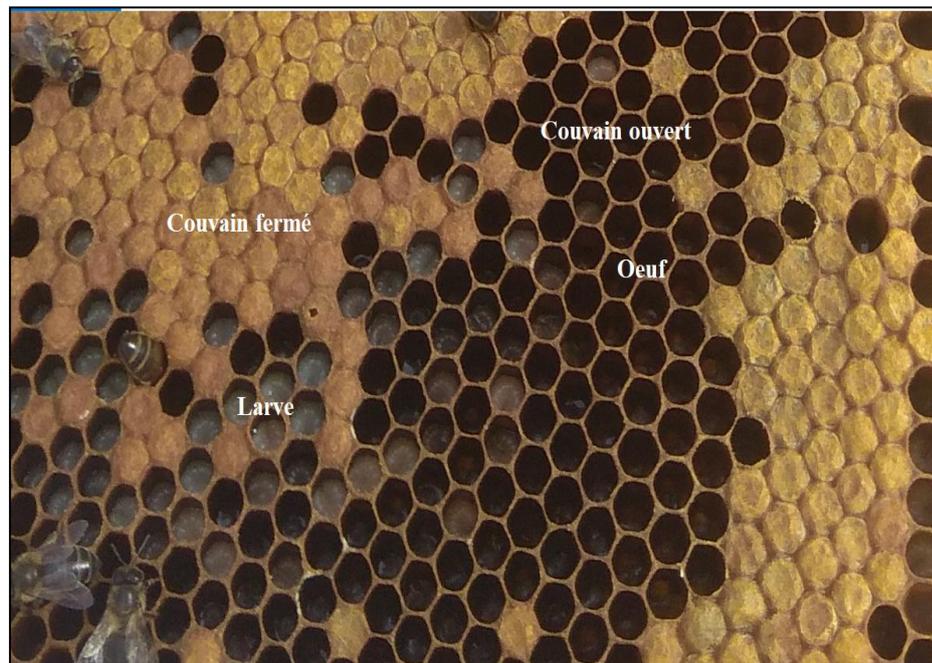
Les mâles ou faux-bourdon sont haploïdes, ils résultent du développement d'un ovule non fécondé par parthénogenèse arrhénotoque. Par contre, les femelles résultent d'œufs fécondés et sont diploïdes (Adams *et al.*, 1977).



**Figure 7:** Les trois castes des abeilles (Rasolofoarivao, 2014).

#### I.4.1. Description du nid des abeilles

La société d'abeilles domestiques est établie dans un nid fonctionnel composé de milliers d'alvéoles hexagonales en cire qui lui procure une interface pour les diverses interactions entre les individus (Figure 8). Le nid est aussi une structure optimale pour l'évolution de la colonie, pour le développement larvaire et le stockage de pollen et de miel (Wilson, 1971).



**Figure 8:** Un cadre avec couvain ouvert (sain), operculé. (Photo Originale).

#### I.4.1.1. Reine

C'est la mère de toutes les abeilles. La reine est entourée par des ouvrières qui lui prodiguent les soins nécessaires, en la nourrissant avec une nourriture riche (la gelée royale) lui permettant d'assurer ses rôles principaux (Winston et Punnett, 1982).

Son premier rôle de pondreuse est indispensable à la survie de la colonie. En effet, elle pond entre 500 et 2 000 œufs par jour en fonction de son âge, race et la qualité de la miellée. Alors que son deuxième rôle, permet la cohésion de la colonie par le biais des phéromones régulant la physiologie et le comportement des ouvrières. La reine secrète sur son abdomen une phéromone ; celle-ci circule parmi toutes les abeilles de la colonie par trophallaxie (c'est l'échange de la nourriture) (Winston et Punnett, 1982). Cette phéromone inhibe également la maturation des ovaires chez les Ouvrières (Amirat, 2014). La reine vit jusqu'à 5 ans et se fait féconder une fois dans sa vie (Amirat, 2014).

#### I.4.1.2. Les ouvrières

Les ouvrières occupent plusieurs fonctions au cours de leur vie. Elles se consacrent à toutes les tâches nécessaires au fonctionnement de la colonie, du soin au couvain à celui de la reine mais aussi au butinage, production de cire ou à la défense de la ruche (Spurgin, 2008, Maisonnasse *et al.*, 2010).

Les ouvrières accomplissent toutes les tâches simultanément (Tableau 1), mais chaque ouvrière, à un temps donné, est spécialisée dans une tâche, toutes ces tâches peuvent être interchangeables au besoin de la colonie (Spurgin, 2008, Maisonnasse *et al.*, 2010).

**Tableau 1:** Rôles des ouvrières selon leur période de vie (Louri et Bouchetta, 2017).

Période de vie	Rôle des ouvrières
3 jours	Veille à la propreté des cellules (nettoyeuse)
De 3 à 11 jours	Nourricières, distribuent la gelée royale à toutes les larves qui donneront naissance aux jeunes abeilles et aux reines.

De 11 à 20 jours	Nettoyage, débarrassent la ruche des débris, et déchargent le nectar récolté par les butineuses et le distribue entre elles, le dépose dans les alvéoles (rôle de magasiniers).
De 12 à 17 jours	Bâtisseuses de rayons.
Du 18 au 21 <sup>ème</sup> jour	Gardiennes, prend la défense de la ruche.
Du 21 <sup>ème</sup> jour jusqu'à la mort	Butineuse, récoltent le pollen et le nectar des fleurs pour la production du miel.

#### **I.4.1.3. Les mâles**

Les mâles chez les abeilles sont appelés faux-bourçons, ils sont conçus à partir d'ovules non fécondés. Leur rôle principal est la fécondation de la reine lors de la période d'accouplement qui a lieu au printemps, après l'essaimage, et parfois en été en cas de mort d'une reine, les faux-bourçons ne s'approvisionnent pas directement sur les fleurs, ils sont nourrit par les ouvrières (Alphandéry, 2002).

Ils s'avèrent également qu'ils participent à la ventilation de la ruche, indispensable à la concentration du miel, et au réchauffement du couvain. Bien qu'ayant un jabot plus petit que celui des ouvrières, ils pourraient participer activement à la fabrication du miel (Anchling, 2008).

#### **I.5. Reproduction et cycle de développement**

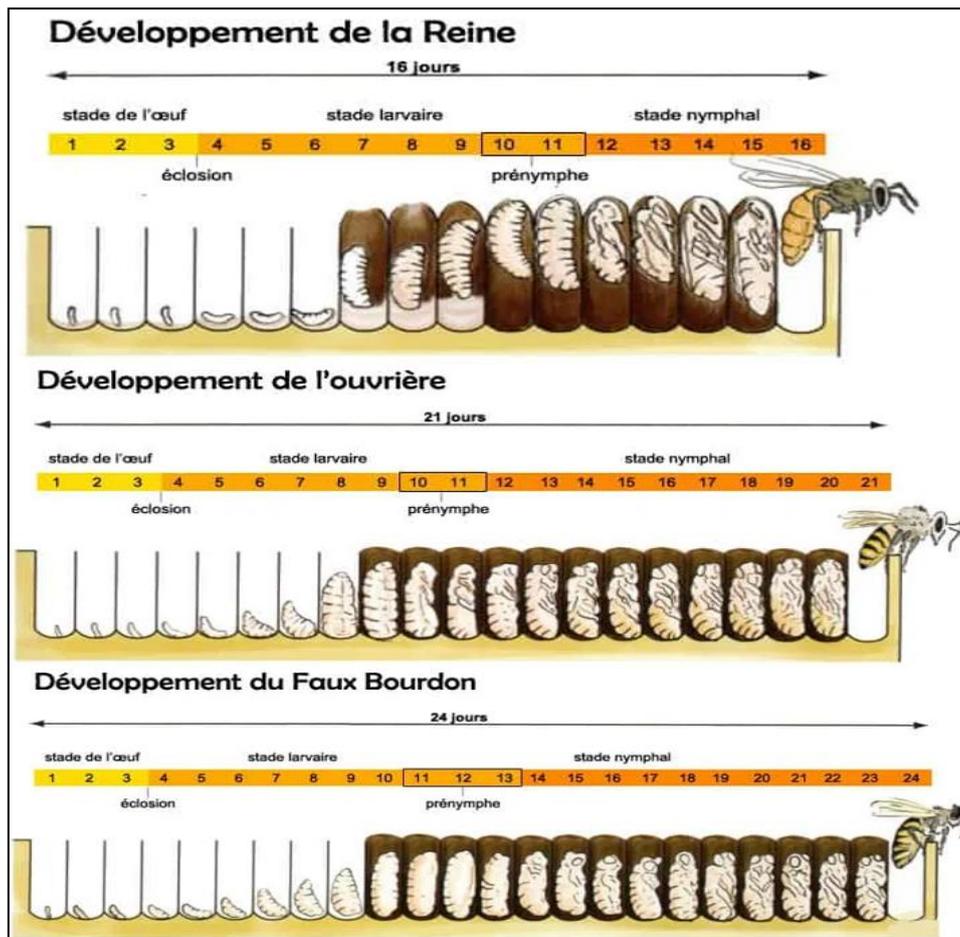
Le cycle de vie annuel de la colonie d'abeilles débute en fin d'hiver, quand la colonie commence à se développer. Comme tout organisme, le but principal de la colonie est de se reproduire pour se développer (Seeley, 2002). Pendant l'hiver, les abeilles se regroupent au centre de la colonie et forment une grappe pour maintenir une température adéquate pour la survie de la colonie. Quand les premières floraisons commencent, des milliers de cellules sont alors utilisées pour élever des larves. Durant le printemps, la colonie a une croissance maximale pouvant atteindre 80 000 individus (Free, 1977).

Une fois rentrée de son vol nuptial, la reine fécondée commence la ponte : jusqu'à 2 000 œufs par jour, pour un poids total équivalent à son propre poids. La ponte se réalise à partir du centre de la ruche dans les cellules des rayons, communément appelé nid. Autour de ce nid se trouvent une couronne d'alvéoles remplies de pollen, et encore plus à l'extérieur, les alvéoles remplies de miel. Les œufs donneront des ouvrières et des reines et des faux bourdons, et seule l'alimentation détermine la caste de ces individus (Prost et Le Conte, 2005, Von Frisch, 2011). Un mécanisme musculaire permet à la reine de choisir de féconder ou non les œufs qu'elle dépose au fond des alvéoles (Von Frisch, 2011).

### **I.5.1. Le développement**

L'abeille présente un cycle de développement holométabole. L'ontogénèse est découpée en 4 stades de développement, intercalés par 7 mues. Les immatures regroupent les œufs, les larves et les nymphes dont leurs développements se font au niveau des cellules operculées. Les œufs éclosent 3 j après la ponte et chaque œuf donne une larve qui subit 5 mues successives et devient une nymphe immobile. La mue imaginale transforme la nymphe en imago naissant.

Selon Winston (1993) la durée de développement des individus dans la colonie diffère d'une caste à autre et varie en fonction de facteurs environnementaux comme la chaleur et l'humidité. En effet, le développement est entre 14 et 17 jours pour la reine, 16 et 26 pour les ouvriers, 20 et 28 jours pour les mâles (Figure 9).

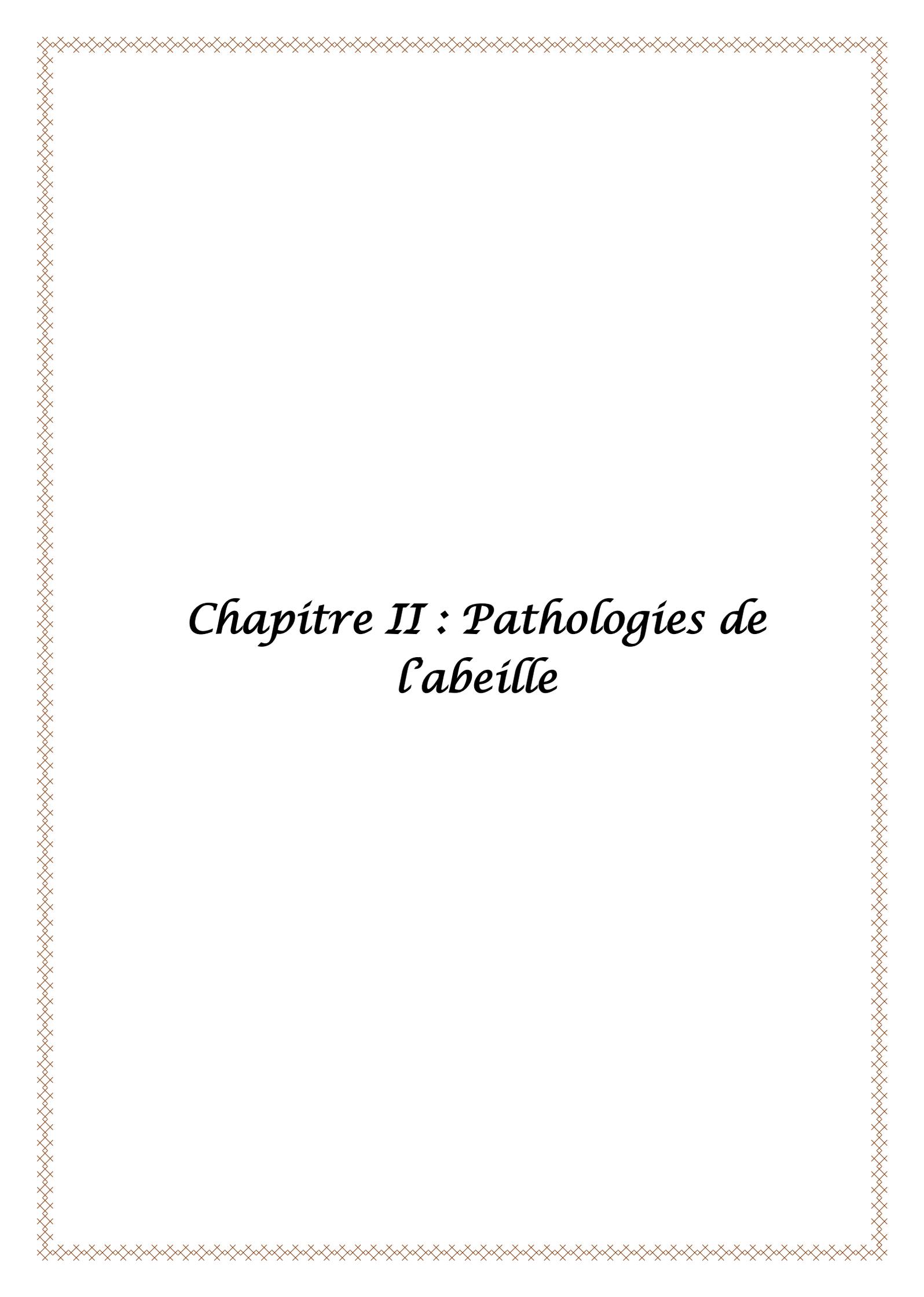


**Figure 9:** Développement de différentes castes de la colonie d'abeilles (Ialo, 2017).

### I.6. Alimentation et durée de vie

La nutrition des abeilles ouvrières et faux-bourçons est basée sur deux aliments essentiels : le miel et le pollen. Le miel couvrant les besoins énergétiques de l'abeille par un apport glucidique (Louveaux, 1985, Alleaume, 2012). Par contre, Le pollen est la seule source de protéine, Il est indispensable au développement des larves (Chauzat *et al.*, 2005) et aux jeunes adultes notamment pour la formation des muscles allaires et la constitution des organes internes tels que la glande nourricière, les corps adipeux (Brodshneider et Crailsheim, 2010). Au cours des premiers jours qui suivent l'émergence, les jeunes abeilles consomment du pollen en abondance (Haydak, 1970). La durée de vie de l'abeille ouvrière dépend de cette consommation de pollen (Brodshneider et Crailsheim, 2010).

Cependant, La larve de la reine est élevée à partir de gelée royale et continue à se nourrir de cette gelée jusqu'à sa mort (Beetsma, 1979, de Wilde et Beetsma, 1982).

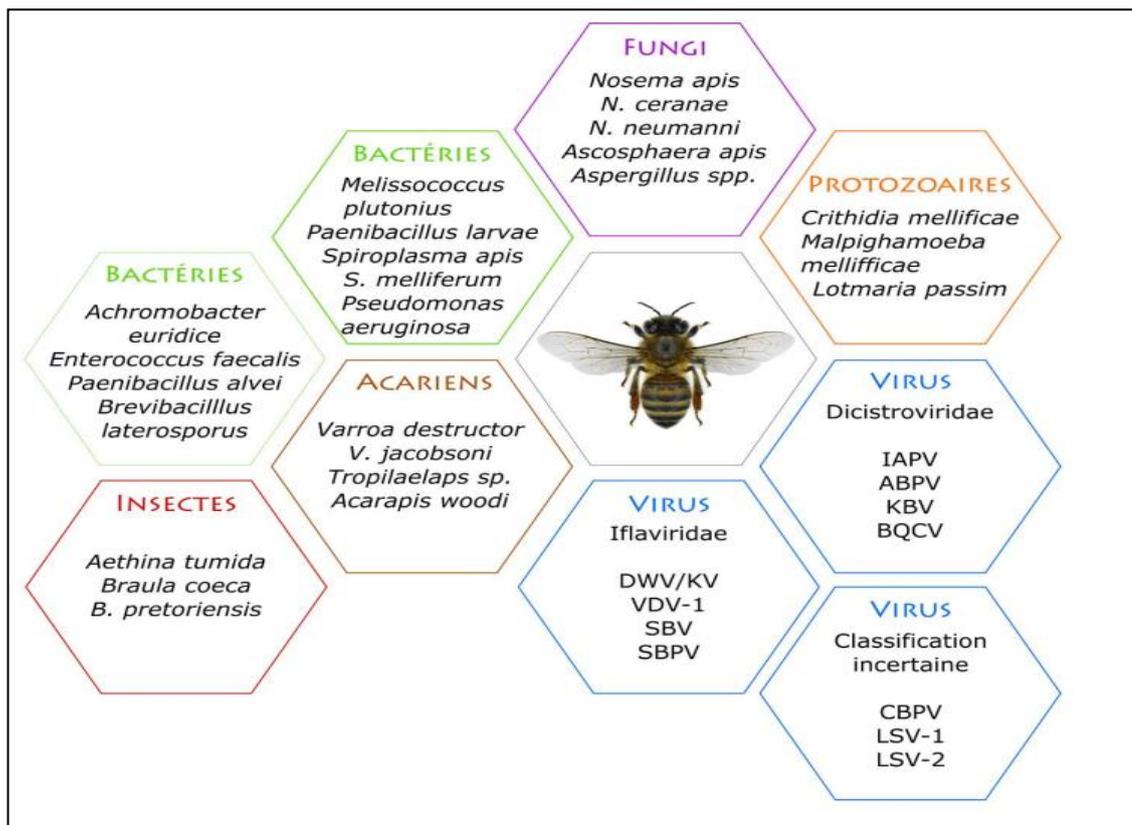


## *Chapitre II : Pathologies de l'abeille*

## II. Pathologies de l'abeille

Les abeilles sont susceptibles d'être affaiblies par plusieurs maladies et parasites. Les apiculteurs doivent être attentif et faire des suivis réguliers afin d'éviter la perte de leurs colonies (Rosenkranz *et al.*, 2010). La pathosphère de l'abeille mellifère est définie comme tous les dangers biologiques pouvant affecter la santé de l'abeille et des colonies (Figure 10). Ces dangers sont très variés et regroupent des bactéries, des protozoaires, des champignons, des arthropodes ou bien encore des virus (Evans et Schwarz, 2011).

Les pathogènes, les plus souvent incriminés sont les bactéries responsables de la loque américaine (*Paenibacillus larvae*) et la loque européenne (*Melissococcus plutonius* et *Paenibacillus alvei*), de nombreux virus à ARN simple brin positif, de l'ordre des picornavirales, et des champignons, notamment des microsporidies (comme *Nosema ceranae* et *Nosema apis*). Le plus incriminé reste cependant le varroa (*Varroa destructor*) (Frazier *et al.*, 2011).

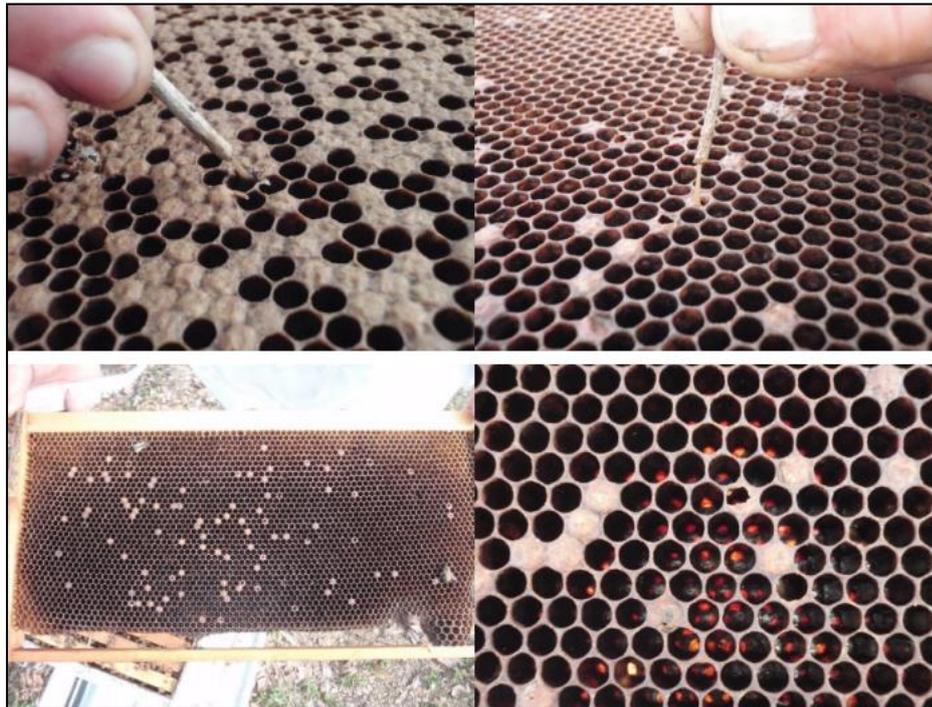


**Figure 10:** Représentation de la pathosphère de l'abeille mellifère (Evans et Schwarz, 2011).

## II.1. Maladies typiques du couvain

### II.1.1. Loque américaine

La loque américaine est une maladie bactérienne de couvain causée par la bactérie sporulante *Paenibacillus larvae*. Elle se manifeste par un affaissement et percement de l'opercule d'où se dégage une forte odeur d'ammoniac. Seules les larves jeunes sont sensibles à l'infection, les abeilles adultes ne sont pas touchées. Lorsqu'une larve est infectée, le couvain entier de la colonie peut être rapidement atteint par la bactérie. Les larves mortes qu'il contient sont filantes ou desséchées sous forme d'écaillés (Fernandez et Coineau, 2007). Faucon (1992) rapporte la présence des écaillés de couleur brun foncé à noir en forme de languette plate à l'intérieur des cellules du couvain. De nombreuses cellules désoperculées avec une répartition irrégulière forment un couvain en mosaïque (Fernandez et Coineau, 2007). Les larves et nymphes infectées par la loque américaine se dénaturent, avec les bactéries, forment un produit élastique (Prost et Le conte, 2005) (Figure 11).



**Figure 11:** Signes cliniques de la loque américaine (Esnault, 2018).

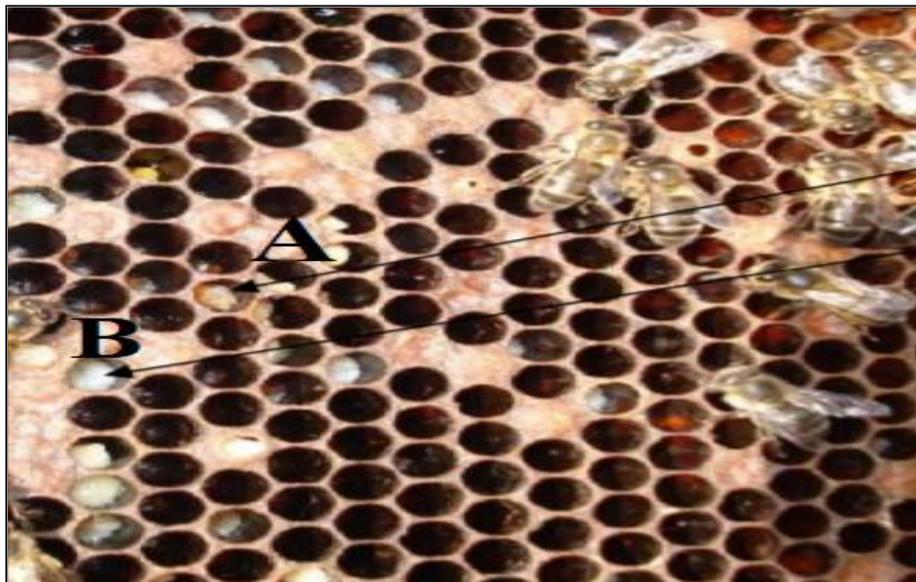
### II.1.2 Loque européenne

La loque européenne est présente dans le monde entier. Elle affecte les stades larvaires de l'abeille domestique, *Apis mellifera* (Alippi, 1999) (Figure 12). Contrairement à ce qui est observé après une infection de la loque américaine, les larves meurent un à deux jours avant l'operculation et quelques fois juste après (Anses, 2018). L'agent étiologique de la maladie est

*Melissococcus plutonius* (Bailey, 1963, Bailey et Collins, 1982, Alippi, 1991). D'autres agents peuvent également se multiplier de façon secondaire dans les larves malades comme *Paenibacillus alvei*, *Enterococcus faecalis* et *Achromobacter eurydice* (Anses, 2018).

Les jeunes larves d'abeilles, âgées généralement de moins de 48h, s'infectent en ingérant les bactéries *M. plutonius* via des aliments contaminés (Bailey et Ball, 1991). Les bactéries se multiplient dans l'intestin des larves, qui peuvent parfois être expulsées de la colonie par des nourrices. Celles qui meurent de l'infection peuvent être colonisées par des agents bactériens secondaires présents dans la ruche tels que *Paenibacillus alvei*, *Enterococcus faecalis* et *Brevibacillus laterosporus* (Forsgren *et al.*, 2005). Bien qu'il s'agisse d'une bactérie qui ne forme pas de spores, *M. plutonius* peut survivre dans des conditions difficiles et rester infectieuse pendant plusieurs années sur la cire. Cependant, elle est beaucoup moins résistante à la désinfection que les bactéries productrices de spores comme *Paenibacillus larvae*, l'agent causal de la loque américaine (Anses, 2018).

La propagation de la pathologie entre les colonies et entre les ruchers est liée à plusieurs facteurs tels que le pillage, la dérive, le déplacement des colonies infestées et les échanges de cadres de provisions contaminés (Delaplane, 1997). Les mesures relatives à l'assainissement et à la prévention du rucher sont les mêmes que pour la loque américaine. La destruction de la colonie, le nettoyage du matériel et des cadres sont obligatoires pour les apiculteurs (Belloy *et al.*, 2007).



**Figure 12:** La loque européenne sur un cadre du couvain. A= larves avec teinte jaunâtre, B= larves saines (Kidoud, 2017).

### II.1.3 Le couvain plâtré ou Ascospherose

L'ascospherose appelée aussi couvain calcifié couvain dur ou mycose, est une maladie du couvain provoquée par un champignon, *Ascospheera apis* (Spiltoir, 1955). Cette maladie peut atteindre toutes les castes de la colonie (Bamford et Heath, 1989).

Parmi les symptômes typiques de la pathologie, l'observation de larves momifiées dures et blanches (parfois noires) devant la ruche ou sur la planche d'envol (Thurber, 1979) (Figure 13). Concernant le couvain, il apparaît clairsemé, "mosaïque" et non compact avec une répartition aléatoire des larves d'âges différents. La pathologie provoque également la formation d'un amas cotonneux de filaments mycéliens blancs autour des larves qui occupe l'alvéole (Thorstensen, 1976).

La propagation se fait par les spores de ce champignon avec deux voies de contamination. La voie buccale est la plus fréquente, elle se fait par ingestion de la nourriture souillée. Cependant, il y a également la voie transcutanée qui affecte au début l'intestin moyen des abeilles et finit par envahir l'organisme entier (Heath, 1985). L'apparition de cette pathologie est favorisée par une chute brutale de la température et par des conditions d'humidité élevée (Pederson, 1976, Heath, 1982).



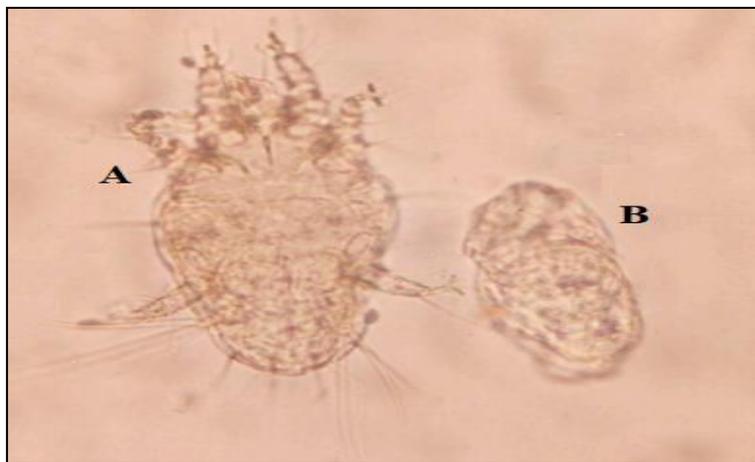
**Figure 13:** Les différents types de momies. A= momie noire. B= Momie Blanche (Fernandez et Coineau, 2007).

## II.2. Maladies des abeilles adultes

### II.2.1 L'acariose

L'acariose est une maladie parasitaire contagieuse qui infeste les trois castes des abeilles (Bailey, 1985). C'est une infection de l'appareil respiratoire de l'abeille adulte. Elle est causée par un acarien microscopique *Acarapis woodi* (Figure 14) (Rennie, 1921). Cet acarien est un parasite interne qui vit, se nourrit et se reproduit dans le système respiratoire des abeilles.

Les symptômes observés chez les abeilles infectées dépendent du nombre de parasites dans la trachée (Otis et Scott-dupree, 1992). L'action spoliatrice de l'acarien ouvre la voie à des infections secondaires (Eischen *et al.*, 1989) et provoque également une perte de substances nutritives pour l'abeille (Eischen, 1987).



**Figure 14:** A= Femelle *Acarapis woodi*. B= œuf embryonné (x 400) (Szawarski *et al.*, 2017).

### II.2.2 Varroase

D'après Mackowiak (2009), la varroase est une parasitose dont l'agent responsable est un acarien, *Varroa destructor* (Figure 15) qui parasite à la fois l'abeille adulte et le couvain. La transmission de cette pathologie se fait par plusieurs voies, soit d'abeille à abeille, d'une ruche à ruche ou d'un rucher à un autre. Cela est dû à divers facteurs, soit naturels par la dérive des butineuses, l'essaimage et le pillage par la transhumance et les échanges entre les apiculteurs (Anderson, 1988). Elle est considérée comme une menace pathogène majeure pour l'abeille domestique et peut conduire à l'effondrement des colonies infestées en l'absence de traitement (Hafsaoui et Tahraoui 2019).

Selon Charrière *et al* (2012), les symptômes cliniques de la varroase se manifestent par des troubles du couvain et des abeilles. L'un des principaux signes de la pathologie est la

présence d'un couvain irrégulier ou lacunaire avec des nymphes mortes atrophiées sous l'opercule.

Sur les abeilles adultes, les symptômes sont liés surtout à la présence des ouvrières avec des ailes déformées, des abeilles trainantes et mortes (Kidoud, 2017).

La lutte contre la varroase consiste à maintenir l'infestation en dessous du seuil dommageable. Les apiculteurs disposent de plusieurs moyens de luttés chimiques, biotechniques et naturelles.



**Figure 15:** Femelle *V. destructor* sur nymphe d'*A. mellifera unicolor* (Esnault, 2018).

### **II.2.3 La nosérose**

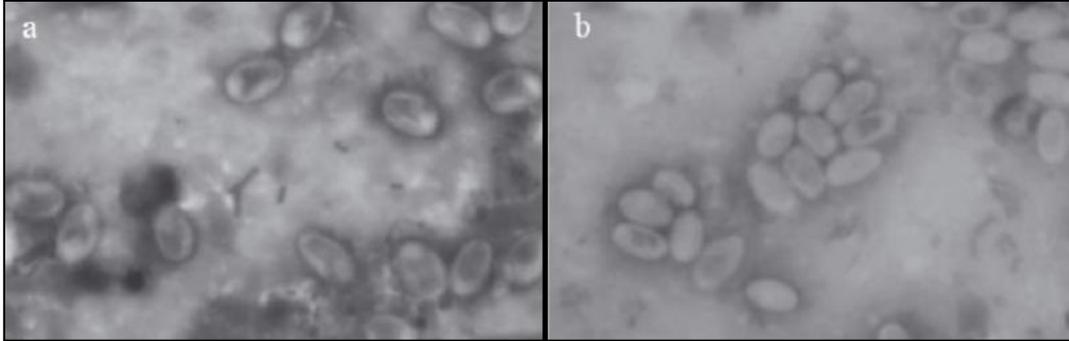
La nosérose est une maladie provoquée par une microsporidie du genre *Nosema* (Figure 16), des eucaryotes unicellulaires appartenant aux champignons (Delbac, 2009), Cette microsporodie touche le système digestif de l'abeille adulte. Les trois castes peuvent en être atteintes. Les causes qui favorisent le développement de cette pathologie sont les hivers longues au confinement prolongé de l'abeille à l'intérieur de la ruche (Bailey, 1981).

Le cycle parasitaire comporte un stade amiboïde : phase végétative dans le ventricule des abeilles et un stade de spore phase de résistance dans le milieu extérieur, par une spore d'une taille moyenne de 5-6  $\mu\text{m}$  de longueur et de 2-3  $\mu\text{m}$  de largeur et elle dispose d'une paroi épaisse. Le cycle complet dure environ cinq jours (Roy et L'Hostis, 2017).

Les abeilles fortement infectées ne peuvent digérer convenablement leur nourriture puisque les cellules épithéliales de l'intestin ont été endommagées par *Nosema*. Il en résulte une forme de diarrhée chez l'abeille, qui peut alors déféquer dans la ruche ou sur le plateau

d'envol (Bailey, 1954). Elle provoque également une modification de la partie postérieure de l'abdomen (Bailey, 1968).

La désinfection du matériel apicole sera une mesure efficace pour détruire les spores de *Nosema* et diminuer le développement des microorganismes en général (Vaillant, 1989).



**Figure 16:** Spores de *Nosema ceranae* (a) et de *Nosema apis* (b) observé sous microscopie optique x1000 (barre = 5  $\mu\text{m}$ ) (Higes *et al.*, 2006).

### II.3. Le microbiote intestinal d'*Apis mellifera*

Le microbiote intestinal est l'ensemble des micro-organismes qui peuplent l'intestin des êtres vivants. L'équilibre de la balance entre bactéries, levures, champignons et autres micro-organismes est très important pour la santé. Il participe activement au maintien de l'homéostasie et à la défense contre les infections (Lemaitre et Miguel-Aliaga, 2013).

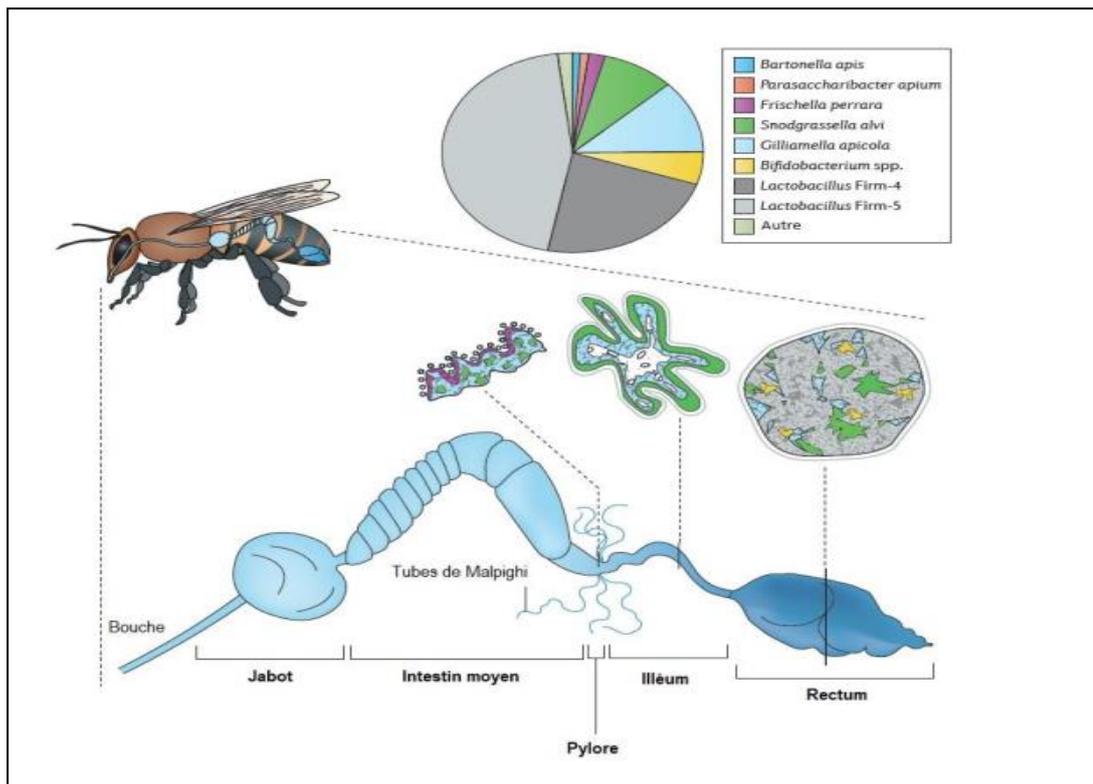
Chez l'abeille domestique *Apis mellifera*, le microbiote est assez semblable à celui des mammifères bien qu'il soit moins complexe dans sa composition (Kwong et Moran, 2016). Il contient environ un milliard de cellules bactériennes (Moran, 2015), dont 95 % des bactéries appartiennent seulement à 9 taxons, toutes cultivables (Martinson *et al.*, 2011, Moran *et al.*, 2012, Engel et Moran, 2013) (Tableau 2).

**Tableau 2:** Liste des bactéries présentes dans le microbiote intestinal de l'abeille ouvrière (Zheng *et al.*, 2018).

Taxa	Phylum	Localisation	Références
<b>Taxa omniprésents dans le TD</b>			
<i>Lactobacillus sp. Firm-5</i>			
<i>L. apis</i>			
<i>L. helsingborgensis</i>	Firmicutes	Iléum Rectum	Olofsson <i>et al.</i> , 2014 ; Killer <i>et al.</i> , 2014
<i>L. kimbladii</i>			
<i>L. kullabergensis</i>			
<i>L. melliventris</i>			
<i>Lactobacillus sp. Firm-4</i>	Firmicutes	Rectum	Olofsson <i>et al.</i> , 2014
<i>L. mellifer L. mellis</i>			
<i>Bifidobacterium sp.</i>	Actinobactérie	Rectum	Bottacini <i>et al.</i> , 2012 ; Ellegaard <i>et al.</i> , 2015 ; scardovi <i>et al.</i> , 1969
<i>B. asteroides</i>			
<i>B. coryneforme</i>			
<i>B. indicum</i>			
<i>Snodgrassella alvi</i>	Protéobactérie	Paroi de l'iléum	Kwong et Moran 2013
<i>Gilliamella apicola</i>	Protéobactérie	Lumière de l'iléum	Kwong et Moran 2013
<i>Frischella perrara</i>	Protéobactérie	Pylore Iléum	Engel <i>et al.</i> , 2013
<i>Bartonella apis</i>	Protéobactérie	Variable	Kešnerová <i>et al.</i> , 2016
<i>Commensalibacter sp.</i>	Proteobacteria	Variable	Martinson <i>et al.</i> , 2011 ; Roh <i>et al.</i> , 2008
<b>Alpha 2-1</b>			
<b>Autres taxons communs</b>			
<i>Apibacter adventoris</i>	Bacteroidetes	TD adulte TD larve et adulte	Kwong <i>et al.</i> , 2018 , Kwong et Moran 2016
<i>Parasaccharibacter apium</i>	Protéobactérie	Jabot TD reine Ruche	Korby-Harris <i>et al.</i> , 2014 ; Martinson <i>et al.</i> , 2011
<i>L. kunzei</i>	Firmicutes	TD larve et adulte Ruche Nectar	Endo <i>et al.</i> , 2012
<i>Fructobacillus fructosus</i>	Firmicutes	TD larve et adulte Ruche	Endo <i>et al.</i> , 2008
<i>Saccharibacter spp.</i>	Protéobactérie	Estomac / ventricule Miel Pollen	Chouaia <i>et al.</i> , 2014
<b>Pathogènes opportunistes</b>			
<i>Serratia marcescens</i>	Protéobactérie	TD adulte	Raymann <i>et al.</i> , 2017 ; Burritt <i>et al.</i> , 2016
<i>Hafnia alvei</i>	Protéobactérie	TD adulte	Tian et Moran 2016

Dans l'ensemble du tube digestif la répartition des souches bactériennes n'est pas homogène. L'intestin de l'abeille est sectionné en trois sections distinctes et chacune d'elle abrite différentes communautés bactériennes (Figure 17).

Une grande partie des bactéries est présente dans l'iléum et le rectum. Certaines souches bactériennes sont retrouvées dans le jabot et l'intestin moyen lieu de la digestion des aliments et de l'absorption des nutriments (Kwong et Moran, 2016). De ce fait la membrane intestinale à cet endroit est plutôt perméable et elle est considérée comme la porte d'entrée d'agents pathogènes différents, tels les virus et les parasites du genre *Nosema* (Ellis, 2015). Ce microbiote, transmis entre les individus par voie orale (alimentation, nettoyage ou trophallaxie), est complètement formé quatre jours après l'émergence des abeilles (Kwong et Moran, 2016).



**Figure 17:** Représentation de l'intestin d'*Apis mellifera* et composition bactérienne générale du microbiote (Kwong et Moran, 2016).

#### II.4. Rôle du microbiote et de ses composantes

Ces dernières années, le rôle du microbiote est le centre d'intérêt de nombreuses recherches. En effet, le MI pourrait jouer un rôle fondamental dans la défense de l'hôte face aux pathogènes, tout en stimulant le système immunitaire local de l'abeille (Kešnerová *et al.*, 2017, Li *et al.*, 2017, Raymann et Moran, 2018).

Le MI est en symbiose avec son hôte, le premier améliore les fonctions digestives et métaboliques, alors que le second offre un environnement protégé où vivre et des ressources alimentaires aux microorganismes (Neish, 2009).

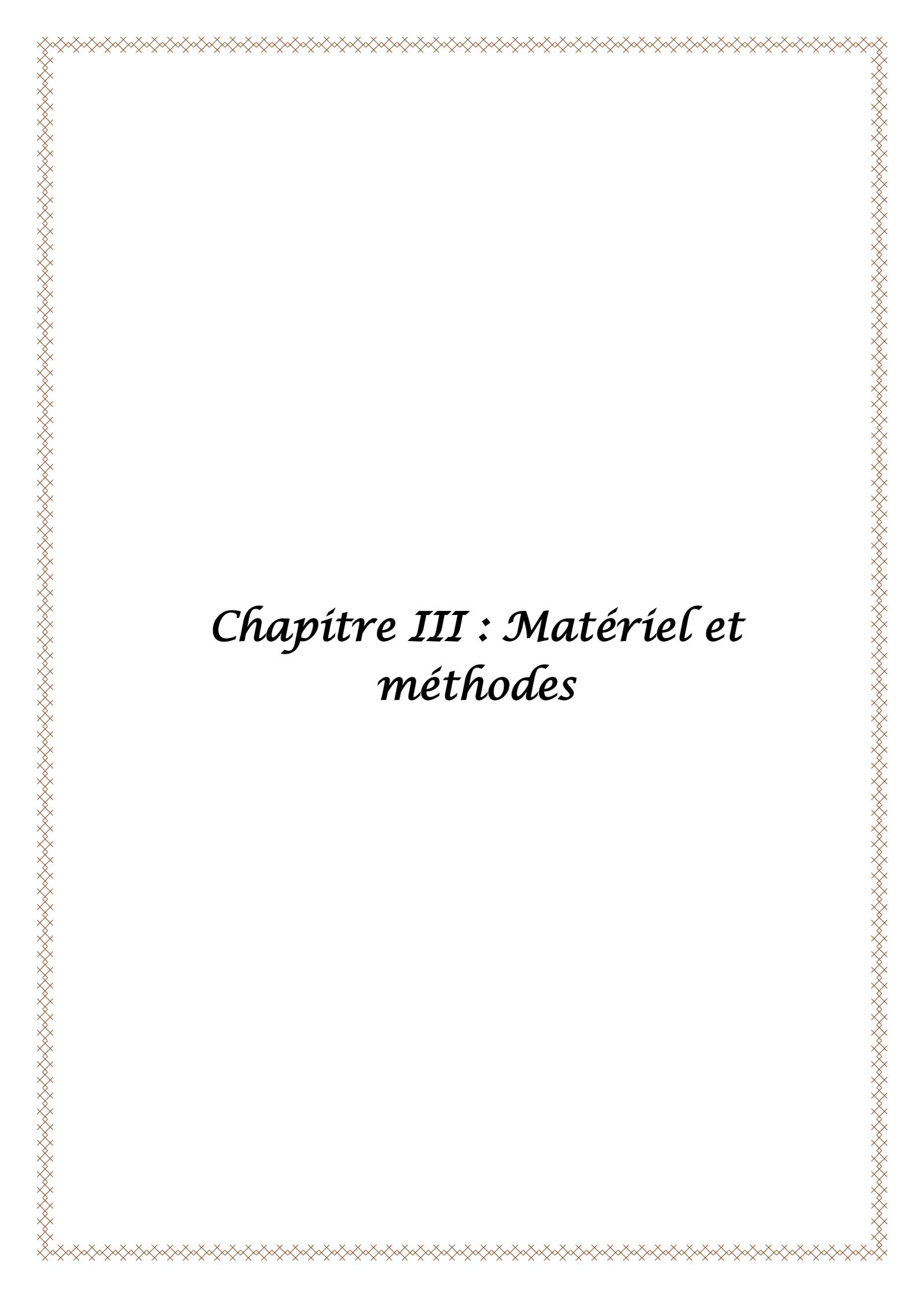
La fonction principale du MI chez tous les animaux est la transformation d'aliments en molécules assimilables par l'hôte. Des études réalisées sur des abeilles axéniques (ne possèdent pas de microbiote) et des analyses génomiques, ont montré comment chaque membre du MI interagit avec l'abeille. Chez l'abeille, cette fonction est assurée principalement par les taxons *G. apicola*, *Lactobacillus spp.* et *Bifidobacterium* (Hamdi *et al.*, 2011, Alberoni *et al.*, 2016). Les bactéries du MI synthétisent aussi des molécules essentielles, comme le font les membres

du taxon L. Firm-5, qui possèdent des gènes permettant la biosynthèse du tréhalose, un glucide utilisé comme réserve d'énergie chez les insectes (Kwong et Moran, 2016).

Les microorganismes composant le MI de l'abeille participent activement à la protection de son hôte de diverses façons. Certains symbiotes, comme la bactérie *Acinetobacter sp*, freine la croissance de l'agent causal de la loque américaine, *P. larvae*, lors de tests d'inhibition en plat de pétri (Evans et Armstrong, 2005). Il a également été montré qu'un déséquilibre du microbiote normal d'*A. mellifera* augmente la susceptibilité de l'insecte à être infecté par le parasite *Lotmaria passim* (Schwarz *et al.*, 2016) ce parasite s'en prennent aux abeilles mellifères et aux bourdons. Il cause des effets négatifs, tels que des troubles d'apprentissage (Gegear *et al.*, 2005) et l'affaiblissement du système immunitaire (Schwarz et Evans, 2013). Alberoni *et al* (2016) affirment que La couche de mucopolysaccharides qui recouvre le tube digestif protège les cellules épithéliales. La formation et le maintien de ce dernier est assuré par les bactéries lactiques, *Gilliamella. apicola* et *S. alvi* (Martinson *et al.*, 2012, Vásquez *et al.*, 2012). De plus, *F. perrara* stimule le système immunitaire et cela se traduit par l'apparition d'une bande colorée à la surface du pylore (Engel *et al.*, 2015). Sa présence provoque une augmentation de l'expression du peptide antimicrobien apidaecine (Emery *et al.*, 2017), ce qui peut être provoqué une réponse immunitaire pour l'abeille en l'aidant à combattre certaines bactéries pathogènes.

Les autres bactéries du MI de l'abeille exercent des fonctions plutôt diversifiées. Par exemple, *P. apium* possède des gènes qui sont liés à l'oogenèse, ce qui explique possiblement pourquoi elle domine l'intestin de la reine (Kapheim *et al.*, 2015). Cette bactérie peut aussi vivre dans la gelée royale alors que c'est un environnement toxique pour la plupart des bactéries (Corby-Harris *et al.*, 2014). Pour sa part, *Bifidobacterium asteroides* stimule la production de prostaglandines et d'hormone juvénile, deux molécules connues pour influencer le développement de l'abeille (Kešnerová *et al.*, 2017). La présence de la bactérie *S. alvi* dans l'intestin favorise les activités métaboliques qui craignent la présence de l'oxygène par la préservation de l'anoxie du milieu (Zheng *et al.*, 2017). Bien que chaque espèce ait son importance en tant qu'individu, on ne peut pas uniquement réduire le microbiote à la somme de ses composantes : il faut le considérer comme un tout et observer les interactions qui existent (Hamdi *et al.*, 2011).

# *Partie expérimentale*



# *Chapitre III : Matériel et méthodes*

Notre travail consiste à mettre en évidence la diversité microbienne à l'intérieur du corps de l'abeille, pour notre approche on a eu recours à des études microbiologiques et histologiques dans le but d'isoler et caractériser le microbiote de l'*Apis mellifera* de la région de Bouira.

Pour cela, notre étude a été réalisée au niveau de laboratoire de Microbiologie de la faculté des Science de la Nature de la Vie et des Science de la Terre de l'université Akli Mouhand Oulhadj, Bouira, et de laboratoire d'Histologie de la faculté de Médecine de l'université d'Abderrahmane Mira, Bejaïa.

## II.5. Zone d'échantillonnage

La zone d'étude se situe dans la wilaya de Bouira à 545m d'altitude. Elle est localisée dans la région nord-centre du pays. Elle est limitée au nord par les Wilaya de Boumerdes et Tizi-Ouzou sud et sud-ouest par les Wilaya M'Sila et Médéa, l'est et sud-est par les wilayas de Bejaïa et Bordj Bou Arreridj. L'Ouest par les Wilaya de Blida et Médéa. Caractérisée par un relief fortement accidenté, au bas du piémont Sud-Ouest du Djurdjura dont le sommet le plus élevé est lala-Khadija (2308m) (DSP Bouira, 2018).

### II.5.1. Données climatiques

#### II.5.1.1. Température

La température est un facteur écologique important qui détermine de grandes régions climatiques terrestre. Le facteur thermique agit directement sur la vitesse de réaction des individus, sur leurs abondances et sur leurs croissances (Dajoz, 1971, Faurie *et al.*, 1980) et conditionne la répartition des végétaux et des animaux dans les écosystèmes. Le climat de la région de Bouira présente un hiver rigoureux et un été chaud (Tableau 3).

**Tableau 3:** Températures moyennes mensuelles de la région de Bouira (2014-2016) (Station métrologique de Bouira, 2019).

	Mois (°C)												
	J	F	M	A	M	J	J	O	S	O	N	D	
<b>2014</b>	9,8	11,2	10,6	16,3	18,9	23,4	26,8	27,5	25,1	20	14,7	8,5	
<b>2015</b>	7,7	7,5	12	16,7	21	23,8	29,3	28,2	22,6	18,4	12,4	9,8	
<b>2016</b>	10,6	10,7	10,5	15,9	18,6	23,8	27,6	26,5	22,7	20,6	13,2	10,1	
<b>Moy</b>	9,37	9,80	11,03	16,3	19,50	23,67	27,9	27,4	23,47	19,67	13,43	9,47	17,58

### II.5.1.2. Précipitation

Les précipitations constituent un facteur écologique d'importance fondamentale pour le fonctionnement et la répartition des écosystèmes terrestres (Tableau 4).

**Tableau 4:** Précipitations moyennes mensuelles (mm) de la station météorologique de Bouira (Période : 2014-2016) (Station métrologique de Bouira, 2019).

	Mois (ml)												Total
	J	F	M	A	M	J	J	O	S	O	N	D	
2014	543	444	1272	11	184	318	02	24	183	294	23	147.8	498.3
2015	1001	1265	389	15	135	115	0	12	494	401	31.8	0	414.5
2016	468	502	1441	341	72	14	69	0	467	232	39.9	54.9	520.2

### II.5.1.3. La biodiversité de la région

La localisation de Bouira lui confie une grande variété de paysages et d'espèces certaines endémiques de la région du Djurdjura, d'autres endémiques de l'Afrique du Nord. Ces espèces jouent un rôle primordial dans la diversité et le maintien des fonctionnalités des écosystèmes (Mousslim et Nouel–Kheiter, 2017). Notre rucher est situé à moins de 3km de la forêt récréative d'Erriche Bouira qui est riche en plantes mellifères, parmi les espèces végétales trouvées dans la zone : *Borago officinalis*, *Daucus carota*, *Hyoseris radiata*, *Matricaria chamomilla*, *Lamium*.

### II.5.2. Emplacement du rucher

Le choix de l'emplacement d'un rucher est crucial car il conditionne l'alimentation des abeilles dans son abondance et sa diversité, ainsi que la facilité logistique des pratiques apicoles (Dussy et Faugère, 2019), pour cela il faut choisir un milieu ombragé, loin de la circulation, présence d'une source d'eau, près de la flore mellifère (rayon de 3Km).

Les ruchers sont déposés sur un terrain plat d'accès facile. Les ruches sont posées sur des supports surélevés de 30 cm du sol pour éviter l'humidité. Elles sont placées de façon désordonnée pour éviter la dérive. Ces ruches sont orientées vers le soleil levant (sud-est), ce qui favorise l'activité matinale des abeilles.

Pour ce travail nous avons choisi une station dans la commune de Bouira à 545 m d'altitude (Figure 18). La collecte des abeilles a été faite en printemps, le 30 avril 2021 à 8h du matin dans des conditions météorologiques moyennes (température : 24 °C ; vent : 5 km/h ; Humidité : 17%) et un ciel dégager.



**Figure 18:** Localisation de la station d'échantillonnage (Dsp-Bouira, 2018).

## II.6. Matériel

### II.6.1. Matériel de recueil des échantillons sur le terrain

Afin d'effectuer un prélèvement d'échantillon convenablement, des précautions particulières doivent être apportées selon la raison pour laquelle l'échantillonnage est demandé.

Pour Réaliser notre prélèvement nous avons utilisé le matériel suivant :

- **Combinaison apicole :** La combinaison assure une protection optimale contre les piqûres et apporte une liberté de mouvement.
- **Enfumeur :** Pour la maîtrise des abeilles et atténuer leurs agressivités.
- **La brosse :** Pour balayer les abeilles.
- **Lève-cadre :** Permet de soulever couvre-cadre et détacher les cadres soudés aux parois par la propolis et la cire.
- **Boîtes :** Pour la conservation et le transport des échantillons.

## **II.6.2. Matériel biologique**

Notre travail repose sur l'étude de l'abeille domestique *Apis mellifera* appartenant à l'ordre des hyménoptères, un insecte eusocial qui est élevé par l'homme. L'élevage est pratiqué principalement dans le but de récolter du miel, mais la pollinisation des cultures par les abeilles est une activité qui prend de l'importance. Les abeilles ont été prélevées à partir de colonies fortes et faibles. Une colonie forte (minimum 7 cadres de couvain) élèvera beaucoup plus de mâles qu'une colonie faible (moins de 4 cadres de couvain) (Gilles, 2007).

## **II.7. Méthodes d'étude**

Durant notre travail nous allons effectuer plusieurs tests sur des échantillons d'abeilles réparties en deux champs d'étude, à savoir une étude microbiologique et une étude histologique. Pour l'approche microbiologique un isolement et une purification du microbiote sont réalisés, suivis par une caractérisation des isolats de ce dernier par une étude macroscopique et microscopique. Enfin une caractérisation biochimique est réalisée pour une éventuelle identification. L'approche histologique repose sur la réalisation des coupes histologiques et l'observation microscopique.

### **II.7.1. Echantillonnage et méthodes d'étude**

L'échantillonnage est réalisé dans la région de Bouira, sur des colonies d'abeilles de la sous-espèce *Apis mellifera intermissa*. Cent prélèvements sont recueillis durant le mois d'avril 2021. Les ruchers sont inspectés dans le but de déceler les symptômes typiques de la Nosébose ou autres maladies. La prise d'échantillons destinés à l'expérimentation se fait au niveau des cadres à couvain fermés et ouverts des ruches fortes et faibles. À l'aide d'une brosse et d'un geste rapide les abeilles sont directement collectées dans une boîte de conservation qui est aussitôt refermée.

Les échantillons sont ensuite acheminés au laboratoire et séparés en deux groupes. Le premier est destiné à l'étude microbiologique, est mis en réfrigérateur à 4°C jusqu'à l'utilisation. Le deuxième groupe est destiné pour un prélèvement de l'intestin de chaque abeille qui fera l'objet d'une éventuelle étude histologique.

## **II.7.1. Etude de la diversité du microbiote de l'abeille**

### **II.7.1.1. Essais microbiologiques**

La première étape avant l'étude microbiologique consiste à préparer les échantillons avant la mise en culture. Au préalable chaque abeille destinée à l'étude microbiologique est soumise à plusieurs lavages à l'eau physiologique stérile à 0,9%. A l'aide d'une pince l'abeille est ensuite prélevée et conduite dans un autre tube à Eppendorf contenant un bouillon d'enrichissement (Annexe 3) où elle est écrasée avec une tige métallique. Par la suite, le surnageant est récupéré pour élaborer un éventuel isolement. Toute la manipulation est réalisée dans des conditions stériles.

### **II.7.1.2. Isolement et purification du microbiote**

L'isolement est effectué sur plusieurs milieux sélectifs : Viande foie (VF), Hektoen (H), Chapman (C), Man Rogosa et Sharpe (MRS) (Annexe 1). Pour cela une dilution de 1/10 est préparée à partir des tubes à Eppendorf contenant la solution mère, puis 100ul de cette dilution est ensemencé par inondation sur les boîtes de pétri. Toutes les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24 heures.

Afin de purifier les souches, des repiquages successifs sont effectuées sur les milieux (C, H, VF et MRS). La purification des souches consiste à les ensemencer en stries sur des boîtes de pétri coulées avec le milieu Luria Bertani (LB). Les boîtes sont ainsi incubées à 37°C pendant 24 heures. L'opération est répétée jusqu'à l'obtention des colonies bien distinctes et homogènes où toutes les colonies sont identiques entre elles.

### **II.7.1.3. Caractérisation phénotypique des isolats du microbiote des abeilles**

#### **a. Essai morphologique**

##### **➤ Aspect macroscopique**

Cette étude est basée sur l'observation de la culture des isolats sur gélose LB-VF, LB-HK, LB-C, LB-MRS, et pour caractériser la taille, la forme et la couleur des colonies (Badis *et al.*, 2005).

➤ **Aspect microscopique**

L'observation microscopique au grossissement ( $G \times 40$  et  $G \times 100$ ) permet de classer les bactéries selon leur Gram, leur morphologie cellulaire et leur mode d'association ainsi que leurs mobilités (Mami, 2013).

• **Etat frais**

Cet examen permet de définir l'arrangement, la forme et surtout la mobilité des bactéries. Il consiste en l'observation d'une goutte de suspension bactérienne, préparée avec de l'eau physiologique et placée entre lame et lamelle. L'observation se fait sur microscope optique (Boussena, 2020).

• **Coloration de Gram**

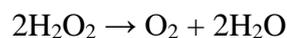
Ce type de coloration permet de séparer les bactéries en deux grandes catégories : les bactéries Gram (+) et les bactéries Gram (-), celles qui retiennent le violet de gentiane après lavage sont dites Gram (+) et celles qui sont décolorées et prennent ensuite la coloration d'un second colorant, sont dites Gram (-). Cette méthode de coloration repose sur une différence fondamentale entre la composition chimique des parois des bactéries à Gram positif et à Gram négatif (Moumene, 2015).

Un frotti a été réalisé sur une lame en verre à partir d'une culture jeune sur boîte. Après une coloration a été effectuée au violet cristallisé pendant 1 min avant d'être rincée et recouverte avec du lugol pendant 1 min, la préparation a ensuite été rincée à l'eau distillée. La lame ainsi rincée, a été soumise à une décoloration à l'éthanol puis rincée à l'eau distillée avant d'être colorée à la fushine pendant 1 min, rincée à nouveau à l'eau distillée puis séchée. Les lames sont examinées au microscope optique (objectif 100/ grossissement  $\times 100$ ) pour différencier leur morphologie, leur disposition et leur type de Gram (Makhloufi, 2011).

**II.7.1.4. Caractérisation biochimique**

**a. Test de la catalase**

Le test de la catalase permet de mettre en évidence la présence de l'enzyme catalase chez les bactéries. Cette enzyme sert à décomposer le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) en eau ( $H_2O$ ) et en oxygène ( $O_2$ ), selon la réaction suivante (Haynes, 1972) :



Dans le cadre de la présente étude, le protocole consiste à placer une goutte d'eau oxygénée sur une lame à laquelle elle est ajoutée un peu de culture en milieu solide (LB). La décomposition de l'eau oxygénée sous l'action de la catalase se traduit par un dégagement gazeux abondant sous la forme de bulles. L'absence de bulles constitue une réponse négative.

#### **b. Croissance sur différents milieux**

##### **❖ Milieu TSI (Triple Sugar Iron)**

Ce milieu est utilisé pour la caractérisation biochimique des entérobactéries en général et des salmonelles en particulier (Annexe 2), lors de l'analyse des produits alimentaires et lors du contrôle de la contamination. Son principe repose sur l'aptitude ou l'incapacité des entérobactéries à fermenter le glucose (avec ou sans dégagement de gaz), le lactose, le saccharose et à réduire les sulfates en sulfures qui en présence de fer donne un précipité noir de sulfure de fer (Bio-Rad, 2011e).

Pour notre étude, l'ensemencement se fait par des stries en remontant la pente, et le culot par une piqûre à l'aide d'une pipette pasteur. L'ensemble des tubes sont incubés à 37 °C pendant 24 heures.

##### **❖ Milieu KLIGLER – HAJNA**

Le milieu de Kligler – Hajna (Annexe 2) permet la détection de la fermentation du glucose et du lactose, et de la production d'hydrogène sulfuré et de gaz (ce milieu contribue à la mise en évidence des caractères d'identification des entérobactéries) (Bio-Rad, 2011b).

Un ensemencement à partir d'une culture pure et fraîche est réalisé par piqûre centrale dans le culot et la surface par stries serrées et parallèles. Les bouchons des tubes ne sont pas vissés à fond, il est essentiel que l'air puisse circuler librement. Les tubes ensemencés sont incubés pendant 24 heures à 37°C.

##### **❖ Milieu mannitol-mobilité**

Ce milieu est utilisé pour l'identification biochimique des entérobactéries et des coliformes (Annexe 2). Il dévoile la capacité de certaines entérobactéries à fermenter le mannitol (virage au jaune) et à réduire les nitrates en nitrite, et permet aussi la mise en évidence ou non de la mobilité bactérienne (Bio-Rad, 2011d).

A partir des boîtes pures des ensemencements sont réalisés par piqûre centrale jusqu'au fond du milieu. Ces tubes sont incubés à 37°C pendant 24 heures.

❖ **Milieu RM-VP (Bouillon Clark et Lubs)**

Le milieu de Clark & Lubs (Annexe 2) permet de différencier les entérobactéries avec les réactions au rouge de méthyle et de Voges-Proskauer. Le rouge de méthyle différencie le processus de fermentation, il est jaune au-dessus d'un pH de 6,3 et rouge en dessous de 4,2. La production d'acétylméthylcarbinol se révèle par l'apparition d'une coloration rouge en surface du milieu (Humeau, 2012).

Un ensemencement à partir d'une culture pure et fraîche est réalisé par piqûre centrale dans des tubes à appendorf qui contiennent le milieu. Les tubes ensemencés sont incubés pendant 24 heures à 37°C. Après l'incubation des gouttes de VP1 et VP2 sont administrées.

❖ **Milieu urée indole**

Le milieu urée indole permet la mise en évidence de l'uréase, du tryptophane désaminase et de la production d'indole (le milieu contribue à la mise en évidence des caractères d'identification des entérobactéries) (Bio-Rad, 2011f).

Les bactéries possédant une uréase transforment l'urée en carbonate d'ammonium entraînant une alcalinisation qui provoque une coloration rouge violacé du milieu en présence de rouge de phénol (indicateur de pH). La production d'indole est mise en évidence par l'addition de réactif de Kovacs qui agit avec l'indole en donnant une coloration rouge dans la partie supérieure du milieu en cas de réaction positive. La présence de tryptophane désaminase (TDA) est mise en évidence par addition de perchlorure de fer qui provoque une coloration brun rouge du milieu en cas de réaction positive (Bio-Rad, 2011f).

Chaque tube est ensemencé abondamment à partir d'une culture pure et fraîche, puis incubé 24 heures à 37°C.

❖ **Milieu Esculine**

Milieu utilisé lors de l'étude de l'hydrolyse de l'esculine par les entérobactéries lors du contrôle des produits alimentaires. Le principe du milieu repose sur l'aptitude de certaines bactéries à hydrolyser l'esculine en rompant la liaison glucosidique libérant du glucose et de l'esculétine (Annexe 2). Par sa fonction phénol, l'esculine donne avec des sels de fer une réaction colorée noire (Bio-Rad, 2011a).

Le milieu est ensemencé par piqûre centrale à l'aide d'une pipette Pasteur bouclée chargée de la culture bactérienne pure. Par la suite les tubes sont incubés à 37°C pendant 3 jours.

### **c. Les tests biochimiques du catabolisme des glucides**

#### **❖ Etude de la voie d'attaque des glucides (M.E.V.A.G / Hugh et Leifson)**

C'est un milieu utiliser pour l'Etude de la Voie d'Attaque des Glucides (Annexe 2), il permet de caractériser les bactéries fermentaires (entérobactéries) de celles oxydatives (*Pseudomonas*) ou indifférentes (*Brucella*).

Son principe repose sur l'aptitude ou l'incapacité des entérobactéries à fermenter le glucose, l'apparition d'un virage de l'indicateur de pH au jaune dans tout le tube cela signifie que le milieu est devenu acide il y a eu production d'acides lors de l'utilisation du glucose par les bactéries en présence et en absence d'O<sub>2</sub>, donc les bactéries sont fermentatives. Lorsque le virage de l'indicateur de pH au jaune dans la partie supérieure du tube, le milieu est devenu acide donc il y a eu utilisation du glucose par des bactéries en présence d'O<sub>2</sub> (Bio-Rad, 2011c).

Le milieu est coulé dans des Eppendorfs, puis quelque goutte de solution aqueuse de glucose stérile sont ajoutés pour obtenir une solution finale de 1%, ensuite l'ensemencement est réalisé par inoculation des Eppendorfs par des piqûres centrales à l'aide d'une pipette pasteur chargée de la culture bactérienne pure. Après cela les tubes sont incubés à 37°C pendant 24 heures (Bio-Rad, 2011c).

### **II.7.2. Etude histologique**

Les échantillons ont été euthanasiés en les mettant dans un congélateur pendant 4 minutes afin de faciliter leurs manipulations. A partir du dard des abeilles, les intestins des abeilles ont été délicatement prélevés avec une pince, ces derniers sont déposés rapidement dans un Eppendorf remplie de formaldéhyde à 10%. Les Eppendorfs sont ensuite conservé dans un réfrigérateur à 5 degrés.

#### **II.7.2.1. Réalisation des coupes histologiques**

Après la fixation au formaldéhyde les intestins ont été mis dans des cassettes histologiques.

Afin de réaliser des coupes histologiques nous avons suivi les étapes suivantes :

❖ **Déshydratation**

Afin d'éliminer l'eau contenue dans les tissus, une déshydratation dans des bains consécutifs d'alcool ont été effectués en respectant le protocole suivant (Taouint, 2014) :

- Le 1er bain d'éthanol à 70° pendant une heure
- 02 bains d'éthanol à 90° pendant une heure (chacun)
- 02 bains d'éthanol à 100° pendant une heure (chacun)
- 01 bain dans un mélange d'éthanol à 100°- butanol à part égale (50%- 50%) pendant une heure.
- 02 bains de butanol pur pendant une heure (chacun)

❖ **Eclaircissement**

Cette étape consiste à réaliser une désalcoolisation et un éclaircissement des pièces à l'aide du xylène, pour cela les pièces ont été placés dans trois bains de xylène : Le premier bain pendant 10 minutes et le deuxième et le troisième bain pendant 30 minutes (Taouint, 2014).

❖ **Inclusion**

Cette étape a pour but de permettre la réalisation de coupes fines et régulières. Le milieu d'inclusion le plus utilisé est la paraffine pour réaliser l'inclusion et que la paraffine pénètre bien dans les tissus, trois bains de paraffine fondue à 60° ont été réalisés, les deux premiers pendant 30 minutes et le dernier pendant une heure (Taouint, 2014).

❖ **Enrobage**

Le fond des moules métalliques, préalablement réchauffées, a été rempli avec de la paraffine chaude et maintenu sur la surface tempérée. La cassette contenant l'échantillon est sortie du bain de paraffine chaude et le tissu rapidement transféré vers le moule. Les moules ont été placées doucement sur la surface refroidie pour fixer les échantillons au centre (durcissement de la paraffine par le froid). Les parties supérieures des cassettes, avec l'identification des échantillons, ont été placées sur les moules et le niveau de paraffine

complété jusqu'à couvrir le fond grillé. Le moule a été ensuite placé sur une surface froide pour faire durcir la paraffine (Taouint, 2014).

#### ❖ **Microtomie**

Un dégrossissement a été effectué à 10 $\mu$ m pour retirer l'excès. Les coupes ont été réalisées à l'aide d'un microtome de marque LEICA RM 2025, les blocs ont été placés sur une surface de glace pour faciliter la réalisation des coupes de 5 $\mu$ m.

Les rubans ont été étalés à la surface d'un bain marie afin de les déplier, les coupes jugées bonne sont placées sur des lames gravées au préalable avec un crayon en diamant. Une fois l'étalement est fait, sur une platine chauffante à 45°C pour que la coupe soit bien aplatie, les lames ont été placées dans un portoir et mis dans une étuve à 43°C pendant 4h minimum pour bien sécher (Taouint, 2014).

#### ❖ **Coloration et montage**

Les lames ont été placées dans un automate de coloration à 12 bocal afin de chasser la paraffine et réhydrater les tissus pour permettre la réalisation des colorations standard dites « Hemalun-Eosine ».

Les lames ont été mises dans trois bains de xylène pendant 10 minutes chacun afin de déparaffiner, puis une réhydratation a été réalisée afin de retirer le xylène des tissus et de le remplacer par de l'eau, les lames ont été placées par la suite dans trois bains d'éthanol 100% et un bain d'eau pendant 1 minute chacun.

En vue d'appliquer la coloration, les lames ont été placées dans les différents bains de colorant. Un bain de 30 seconds dans de l'Héματοxyline de Harris (coloration des noyaux), puis un rinçage est effectué à l'eau courante pendant 30 seconde (bleuissement), il sera suivi par un bain d'Eosine (coloration du cytoplasme) pendant 3 minutes, un dernier rinçage à l'eau courante est réalisé jusqu'à disparition de la couleur rouge sur les bords des lames.

Le montage est la dernière étape technique de la préparation des lames pour la lecture en microscopie. Les coupes avant d'être monté ont été d'abord déshydratées dans trois bains d'éthanol absolu pendant une minute chacun, puis éclaircies au xylène dans trois bains d'une minute chacun. Ainsi les coupes colorées sont montées entre lame et lamelle avec l'EUKITT®. Avant la lecture, les lames sont laissées sécher puis numérotées avec un marqueur selon la 1ère numérotation au crayon de diamant (Taouint, 2014).

# *Résultats et discussion*

### **III. Résultats et discussion**

#### **III.1. Résultats**

##### **III.1.1. Diversité bactérienne dans le corps de l'abeille**

Sur les cents (100) abeilles recueillit dans les différentes colonies fortes et faibles et avec des facteurs différents, uniquement 21 isolats ont présenté une croissance bactérienne sur les milieux utilisés (VF, C et H), dans la colonie forte (minimum 7 cadre de couvain) on a isolé 13 isolats, alors que dans la colonie faible (moins de 4 cadres de couvain) on a obtenu uniquement 8 isolats. Cependant aucune croissance bactérienne dans le milieu MRS.

Après une cascade d'essai, ces isolats ont exprimé une grande diversité bactérienne chez les individus recueillit des différentes colonies.

##### **III.1.1.1. Etude macroscopique**

L'étude macroscopique des isolats, inclut les différents caractères d'une colonie bactérienne tel que le diamètre, la couleur, la forme, la viscosité. Les résultats sont regroupés dans le (Tableau 5).

**Tableau 5:** Aspect macroscopique des isolats sur les différents milieux

<b>Aspect macroscopique</b>					
<b>Code des isolats</b>	<b>Taille</b>	<b>Couleur</b>	<b>Forme</b>	<b>Viscosité ou pas</b>	<b>Milieu de Croissance</b>
<b>Colonie Forte</b>					
<b>FFB</b>	1-2mm	Crème-jaunâtre	Ronde-bombée	+	LB-VF
<b>Fco</b>	2mm	Crème	Ronde-bombée	+	LB-VF
<b>Fcf</b>	2mm	Crème	Ronde-bombée	+	LB-VF
<b>FE</b>	2mm	Crème	Ronde-bombée	+	LB-VF
<b>Colonie Faible</b>					
<b>fco</b>	2mm	Crème-jaunâtre	Ronde-bombée	+	LB-VF
<b>fcf</b>	1-2mm	Crème-jaunâtre	Ronde-bombée	+	LB-VF
<b>Colonie Forte</b>					
<b>FFB</b>	< 1mm	Crème	Ronde-bombée	+	LB-Chapman
<b>Fco</b>	< 1mm	Crème	Ronde-bombée	+	LB-Chapman

<b>Fcf</b>	1-2mm	Crème	Ronde-bombée	+	LB-Chapman
<b>FE / S1</b>	1mm	Crème	Ronde-bombée	+	LB-Chapman
<b>FE / S2</b>	1-2mm	Crème	Ronde-bombée	+	LB-Chapman
Colonie Faible					
<b>fco / S1</b>	1-2mm	Crème	Ronde-bombée	+	LB-Chapman
<b>fco / S2</b>	1-2mm	Crème	Ronde-bombée	+	LB-Chapman
<b>fcf / S1</b>	1mm	Crème	Ronde-bombée	+	LB-Chapman
<b>fcf / S2</b>	< 1mm	Blanche	Ronde-bombée	+	LB-Chapman
Colonie Forte					
<b>FFB</b>	1mm	Crème	Ronde-bombée	+	LB-Hektoen
<b>Fco</b>	1mm	Crème	Ronde-bombée	+	LB-Hektoen
<b>Fcf</b>	1mm	Blanche	Ronde-bombée	+	LB-Hektoen
<b>FE</b>	1mm	Blanche	Ronde-bombée	+	LB-Hektoen
Colonie Faible					
<b>fco / S2</b>	1-2mm	Crème-jaunâtre	Ronde-bombée	+	LB-Hektoen
<b>fcf / S2</b>	1mm	Crème	Ronde-bombée	+	LB-Hektoen

### **III.1.1.2. Etude microscopique**

#### **a. Résultat de l'observation à l'état frais**

L'observation à l'état frais a dévoilé que sur les 21 isolats, 18 isolats sont immobiles avec des formes Cocci et 3 sont mobile avec des forma bacilles. Chacun de ces isolats sont regroupé soit en amas, en chaînette, monocoque ou en diplocoque (Tableau 6).

#### **b. Résultat de coloration de Gram**

Après avoir élaboré la coloration de Gram sur les 21 isolats, 18 isolats sont affilés au Gram positifs et 03 sont identifiés comme des Gram négatifs (Tableau 6).

**Tableau 6:** Aspect microscopique des isolats

**Aspect microscopique**

<b>Code des isolats</b>	<b>Milieu de Croissance</b>	<b>Forme des cellules</b>	<b>Gram</b>	<b>Regroupement</b>
Colonie Forte				
<b>FFB</b>	LB-VF	Cocci	+	En amas
<b>Fco</b>	LB-VF	Coccobacille	-	En chaînette
<b>Fcf</b>	LB-VF	Cocci	+	En chaînette
<b>FE</b>	LB-VF	Cocci	+	Monocoque
Colonie Faible				
<b>Fco</b>	LB-VF	Cocci	+	En chaînette
<b>Fcf</b>	LB-VF	Cocci	+	Diplocoque
Colonie Forte				
<b>FFB</b>	LB-Chapman	Cocci	+	Diplocoque
<b>Fco</b>	LB-Chapman	Cocci	+	Diplocoque
<b>Fcf</b>	LB-Chapman	Cocci	+	Diplocoque
<b>FE / S1</b>	LB-Chapman	Cocci	+	En chaînette
<b>FE / S2</b>	LB-Chapman	Cocci		En chaînette
Colonie Faible				
<b>fco / S1</b>	LB-Chapman	Cocci	+	Diplocoque
<b>fco / S2</b>	LB-Chapman	Cocci	+	En chaînette
<b>fcf / S1</b>	LB-Chapman	Cocci	+	En chaînette
<b>fcf / S2</b>	LB-Chapman	Cocci	+	En amas
Colonie Forte				
<b>FFB</b>	LB-Hektoen	Cocci	+	En chaînette
<b>Fco</b>	LB-Hektoen	Bacille	-	En palissade
<b>Fcf</b>	LB-Hektoen	Cocci	+	Diplocoque
<b>FE</b>	LB-Hektoen	Cocci	+	En chaînette
Colonie Faible				
<b>fco / S2</b>	LB-Hektoen	Cocci	+	En chaînette
<b>fcf / S2</b>	LB-Hektoen	Bacille	-	En palissade

Les isolats bactériens sur les différents milieux, ont été identifiés selon les recommandations de Bergey's Manual of Systemic Bacteriology 1986. L'observation microscopique (100X) sur le milieu VF de ces bactéries a révélé que la majorité des isolats sont de Gram positif sauf un isolat. Les examens microscopiques ont montré également des formes de cellules (Cocci / Coccobacille) avec des différents regroupements.

Pour le milieu Chapman, l'examen microscopique a indiqué qu'ils sont tous de Gram positif et de forme (Cocci), avec des différents regroupements.

L'observation microscopique du milieu Hektoen a révélé que la majorité des isolats, sont de Gram positif de forme (Cocci), sauf deux isolats qui ont une forme bacille et avec des différents regroupements (Tableau 6).

### **c. Métabolisme et galerie biochimique**

Les tests biochimiques élaborés nous ont permis d'avoir des informations sur le comportement des isolats du microbiote vis-à-vis différentes sources de carbones ainsi déduire le métabolisme suivi par ces isolats. D'après les résultats obtenus (Tableau 7) nous avons constaté qu'il y a une grande diversité dans le comportement des isolats du microbiote de l'abeille.

**Tableau 7: Résultats de la galerie biochimique**

**Galerie**

Code des isolats		Catalase	TSI			Hajna		Manitol mobilité		Urée indole		Milieu Esculine	Milieu M.E.V.A.G		Clark et Lubs	
			Glu	Lac	Sac	Glu	Lac	Mobilité	Dégradation	Production d'indole	Hydrolyse de l'urée		Hydrolyse	Fermentation	Oxydation	VP1
Colonie Forte																
<b>FFB</b>	LB-VF	+	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+
<b>Fco</b>		+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
<b>Fcf</b>		+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-
<b>FE</b>		+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
Colonie Faible																
<b>fco</b>		+	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+
<b>fcf</b>		+	+	-	-	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+
Colonie Forte																
<b>FFB</b>	LB-Chap	+	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	+	-	+
<b>Fco</b>		+	+	+	-	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+
<b>Fcf</b>		+	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+
<b>FE / S1</b>		+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+
<b>FE / S2</b>		+	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+
Colonie Faible																
<b>fco / S1</b>		+	+	+	-	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+
<b>fco / S2</b>		+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+
<b>fcf / S1</b>		+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+
<b>fcf / S2</b>		+	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-

## *RESULTATS ET DISCUSSION*

Colonie Forte			Glu	Lac	Sac	Glu	Lac	Mobilité	Dégradation	Production d'indole	Hydrolyse de l'urée	Hydrolisation	Fermentation	Oxydation	VP1	VP2
<b>FFB</b>	<b>LB-HK</b>	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+
<b>Fco</b>		-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+
<b>Fcf</b>		-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
<b>FE</b>		+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
Colonie Faible																
<b>fco / S2</b>		+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
<b>fcf / S2</b>		-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+

A partir des résultats des différents tests effectués, nous observons que l'isolat FFB-VF, fco-VF, fcf-VF, se caractérisent par une coloration Gram positive dont la forme est Cocci, avec de petites colonies (1 à 2mm), de couleur crème jaunâtre et bombée, ils sont immobiles avec une catalase positive et VP positive. Ces isolats ont une capacité à dégrader le mannitol et le glucose par deux voies métaboliques (oxydation et fermentation), ils hydrolysent l'esculine. Le test de l'urée indole montre que ces isolats ne produisent pas l'indole et n'hydrolysent pas l'urée (Tableau 7), ces isolats sont affiliés au genre de *Staphylococcus*.

Les isolats Fcf-VF, FE-VF se caractérisent par une coloration de Gram positive, catalase positive et VP négative pour Fcf-VF et positive pour FE-VF, ils ont la forme ronde-bombée de couleur crème et immobiles, cependant l'isolat Fco-VF a une forme coccobacille à Gram négatif et VP positive. Les trois isolats Fco-VF, Fcf-VF, FE-VF utilisent deux voies métaboliques (oxydation et fermentation), ils ne dégradent pas le glucose, le mannitol ni l'urée et n'hydrolysent pas l'esculine, et ils ne produisent pas l'indole (Tableau 7). Les isolats Fcf-VF et FE-VF sont affiliés au genre *Staphylococcus*, alors que l'isolat Fco-vf il appartient au genre *Entérobacter*.

A partir des résultats des différents tests effectués sur le milieu chapman, nous constatons que tous les isolats se caractérisent par une coloration Gram positive et catalase positive ainsi VP positive sauf le fcf/S2 qui a une VP négative. Ils ont la forme Cocci, avec des petites colonies (1 à 2mm) de couleur crème et blanche et une forme bombée et non mobile. Ces souches ont une capacité à dégrader le mannitol et le glucose par deux voies métaboliques (oxydation et fermentation) avec une production de gaz sur quelques isolats : Fco-C, Fcf-C, FE-C/S1, FE-C/S2, fco-C/S1, fco-C/S2. Le test de l'urée indole, indique que ces isolats ne produisent pas l'indole et n'hydrolyse pas l'urée (Tableau 7).

Les isolats FE-C /S1, FE-C /S2, fco-C /S1, fco-C /S2, fcf-C /S2 n'ont pas la capacité d'hydrolyser l'esculine ce qui est le contraire pour le reste. Ils sont tous attribués au genre *Staphylococcus*

Les résultats de l'étude macroscopique montrent que les isolats Fcf-H et fco-H, ont une forme Cocci, avec des petites colonies (1 à 2mm), la première est de couleur blanche et la deuxième de couleur crème-jaunâtre et ils sont immobiles. Ce sont des bactéries à gram positif, catalase négative et VP positive. Ces isolats ont une capacité à dégrader le mannitol et le glucose par deux voies métaboliques (oxydation et fermentation), Ils n'hydrolysent pas

l'esculine. Le test de l'urée indole, indique que ces isolats ne produisent pas l'indole et n'hydrolysent pas l'urée (Tableau 7). Ces isolats se sont affiliés au genre *Streptococcus*.

Les isolats FFb-H, FE-H, ont la forme Cocci en chaînette, avec de petites colonies (1 à 2mm). Ils se caractérisent par une coloration Gram positive non mobile, le premier à catalase négative et le deuxième catalase positive et VP positive pour les deux isolats. Ces isolats ont une capacité à dégrader le mannitol et le glucose par deux voies métaboliques (oxydation et fermentation), Le premier hydrolyse l'esculine contrairement au deuxième. Le test de l'urée indole, indique que ces isolats ne produisent pas l'indole et n'hydrolysent pas l'urée (Tableau 7). FFb-H affilié au genre *Streptococcus* et le FE-H du genre *Staphylococcus*.

Isolats Fco-H, fcf-H, ont la forme bacille, avec de petites colonies (1 à 2mm) de couleur crème et bombée à Gram négatif et VP positive, qui sont mobiles. Ces souches ont une capacité à dégrader le mannitol contrairement au glucose qui est seulement dégradé par l'isolat fcf-H par deux voies métaboliques (oxydation et fermentation), ils n'hydrolysent pas l'esculine. Le test de l'urée indole, indique que ces isolats ne produisent pas l'indole et n'hydrolysent pas l'urée (Tableau 7). Ces isolats sont affiliés au genre *Entérobacter*.

### **III.2. Discussion**

Microbiote intestinal, également connu sous le nom de flore intestinale, représente l'ensemble des micro-organismes vivants qui cohabitent dans l'intestin de son organisme hôte. Une interaction mutualiste symbiotique existe entre l'abeille (hôte) et les microorganismes constituant sa flore intestinale (Raymann et Moran, 2018).

L'hôte procure au microbiote un habitat stable et riche en éléments nutritifs. Le microbiote confère des bénéfices à son hôte, en jouant un rôle important dans le métabolisme (assimilation des nutriments, production de vitamines, etc.) et sur le plan immunitaire, en synthétisant des substances anti-microbiennes et en excluant des souches pathogènes par compétition (Moran et Raymann, 2018). Il a été démontré que le microbiote intestinal peut être considéré comme un organe à part entière, et que sa santé influence la santé de l'hôte (Guinane et Cotter, 2013).

Les abeilles forment d'énormes colonies qui contiennent des milliers d'ouvrières non reproductrices, des centaines de faux mâles et une seule reine reproductrice (Glenny *et al.*, 2017). Les ouvrières nouvellement émergées ont un microbiote intestinal central réduit ou peuvent en manquer totalement (Dong *et al.*, 2020). Leurs corps sont colonisés par des

communautés microbiennes par voie orale au moyen d'interactions sociales avec des abeilles nourrices quelques jours après leur émergence (Martinson *et al.*, 2012, Motta *et al.*, 2018). Au cours de la métamorphose en pupes, les bactéries intestinales sont excrétées par défécation avec l'épithélium intestinal, et la colonisation suivante commence en raison de la trophallaxie, du contact avec d'autres abeilles, ainsi que de la ruche (Bleau *et al.*, 2020). L'abondance des bactéries dans l'ensemble de l'intestin atteint son maximum 3 à 5 jours après l'émergence de l'adulte (Li *et al.*, 2017). Cependant, les changements taxonomiques ont lieu après 3 à 8 jours, ce qui suggère des souches pionnières ou de construction de niche.

Ce présent travail consiste à étudier la diversité microbienne à l'intérieur du corps de l'abeille, dont l'objectif majeur est la caractérisation et l'identification des bactéries présent dans le corps de l'abeille domestique *Apis mellifera*. Nous avons opté dans notre démarche pour une étude microbiologique par un isolement et purification des souches suivie d'une caractérisation macroscopique, microscopique et biochimique des isolats et une étude histologique de l'intestin de l'abeille.

Notre étude a dévoilé la présence de 3 souches bactériennes sur 21 isolats de la colonie forte et faible. A savoir *Streptococcus*, *Staphylococcus* et *Entérobactér*.

Comme Taysset *et al* (1969), ont identifié la présence de *Streptocoque* dans le contenu des butineuse saines qui est d'origine de plantes, plus spécialement des organes floraux de la phyllosphère.

Toutefois, l'étude comparative réalisée par Ribières *et al* (2019), sur le microbiote des colonies fortes à celui de colonies peu productives (faibles), a révélé que les colonies plus faibles présentaient une diversité bactérienne plus basse, et que la composition microbienne différait significativement. Ces mêmes auteurs ont observé une plus grande abondance de *Bartonella* sp. (*Rhizobiaceae*) et d'*Acetobacteriaceae* chez les colonies en santé, alors que *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* sp. et *Gilliamella* sp étaient plus abondantes dans l'intestin des colonies faibles.

Les études récentes s'intéressent de plus en plus au macrobiote intestinal des abeilles et son rôle. Une liste des microorganismes isolés à partir du tube digestif de l'abeille dévoile que quatre genres de bactéries sont toujours présents et constituent le « core microbiota », le microbiote de base de l'abeille : Ce sont les genres *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Snodgrassella* et *Gilliamella*. Les trois derniers sont exclusivement transmis par trophallaxie (Cassondra, 2020).

Dans le même contexte, Kwong et Moran (2016) ont montré que les entrailles des ouvrières adultes des abeilles mellifères (*Apis mellifera*) sont dominées par un ensemble distinctif de neuf espèces bactériennes (ou « phylotypes »), largement limitées à l'intestin postérieur.

Selon Dong *et al.* (2020), l'analyse de la succession du microbiote intestinal des ouvrières d'*A. mellifera* de la naissance à la sénescence, c'est-à-dire de 0 à 40 jours. Les genres *Gilliamella*, *Frischella* et *Snodgrassella* ont colonisé l'intestin des abeilles dès le 1<sup>er</sup> jour, alors que *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* et *Commensalibacter* l'ont colonisé vers le 3<sup>ème</sup> jour. En revanche, vers le 12<sup>ème</sup> jours, une réduction simultanée de *Gilliamella* a été observée avec apparition d'une colonisation importante par *L. kunkei* et *Bartonella sp.* Tandis que *Bacteroides sp.*, *Escherichia sp.*, *Shigella sp.* et *Porphyromonadaceae* ont diminué entre le 19<sup>ème</sup> et le 25<sup>ème</sup> jours. *Commensalibacter sp.* et *Bifidobacterium sp.* l'abondance était réduite à 25<sup>ème</sup> jours.

## **Conclusion**

*Apis mellifera* est un important pollinisateur qui influence fortement la diversité génomique de la communauté végétale, aidant à façonner les écosystèmes. De plus, les produits apicoles sont utilisés par les humains en médecine traditionnelle, complémentaire et intégrative. Maintenir les colonies d'abeilles en bonne santé tout au long de l'année est l'une des principales préoccupations de l'apiculture.

Notre approche expérimentale consiste à mettre en évidence la flore bactérienne du corps de l'abeille domestique *Apis mellifera*. Au terme de l'isolement et de l'identification, nous avons mis en évidence la présence de 3 genres bactériens à savoir : *Staphylococcus*, *Streptococcus* et *Entérobactér*.

Au cours de la dernière décennie, des étapes importantes ont été franchies, telles que l'identification de ses principaux composants microbiens, la découverte partielle de ses contributions fonctionnelles.

Le domaine de la recherche sur le microbiote devrait continuer de croître dans les années à venir, en découvrant les interactions moléculaires hôte-microbiote et en améliorant la manipulation efficace de l'environnement biologique dans différents environnements. En raison de la simplicité de l'intestinal d'*Apis mellifera*, il a été possible de répondre à des questions concrètes liées à son écologie et sa dynamique fonctionnelle.

Des recherches complémentaires doivent être effectuées, pour démontrer les éventuelles influences des conditions écologiques biotiques et abiotiques durant des différentes saisons, sur la composition du microbiote intestinal de l'abeille ainsi que sur son état sanitaire.

#### **IV. Références bibliographiques**

- ACHOU, M. 2007. Caractérisation morphométriques, biochimique et moléculaire des populations d'abeilles domestique de l'est Algerien. Effets physiopathologiques de son parasite majeur *Varroa destructor*. These Doctorat. D'Etat, Univesité. Baji Mokhtar, Annaba, Algérie.
- ADAM, F. 1953. A La Recherche Des Meilleures Lignées D'abeilles (Second Voyage). La Belgique Apicole.
- ADAMS, J., ROTHMAN, E. D., KERR, W. E. et PAULINO, Z. L. 1977. Estimation of the number of sex alleles and queen matings from diploid male frequencies in a population of *Apis mellifera*. *Genetics*, 86, 583-896.
- ADJLANE, N. 2010. Association of oxalic and lactic acid for *Varroa* control in Algeria. First World Conference on Organic Beekeeping,. 27-29.
- ADJLANE, N., BELKADI, K., MECHERI, N., RIDANE, H. et HADDAD, N. 2016. Etude de la sensibilité de la bactérie *Paenibacillus larvae*. agent causal de la loque américaine à l'antibiotique oxytétracycline Study of the susceptibility of bacteria *Paenibacillus larvae*. causative agent of American foulbrood at oxytetracycline antibiotic.
- ADJLANE, N., BENAZIZA, D. et HADDAD, N. 2015. Population dynamic of *Varroa destructor* in the local honey bee *Apis mellifera intermissa* in Algeria. *Bulletin of Pure & Applied Sciences-Zoology*, 34, 25-37.
- ADJLANE, N., CHAHBAR, N., MAIDI, A., DOUMANDJI, S. et HADDAD, N. 2013. Note scientifique sur les effets secondaires de l'acide oxalique sur l'abeille ouvrière (*Apis mellifera*): aspect biochimique (Scientific note on side effects of oxalic acid on the worker bee (*Apis mellifera*): biochemical aspect). *J. Mater. Environ. Sci*, 4, 420-423.
- ADJLANE, N., DOUMANDJI, S. et HADDAD, N. 2012. La prévalence de la nosémosse dans les colonies d'abeilles *Apis mellifera intermissa* dans la région médioseptentrionale de l'Algérie. *Leb. Sci. J*, 13, 65-73.
- ALBERONI, D., GAGGIÀ, F., BAFFONI, L. et DI GIOIA, D. 2016. Beneficial microorganisms for honey bees: problems and progresses. *Applied microbiology and biotechnology*, 100, 9469-9482.
- ALIPPI, A. 1999. Disinfecting with hot paraffin. *American Bee Journal*, 139, 657-657.
- ALIPPI, A. M. 1991. A comparison of laboratory techniques for the detection of significant bacteria of the honey bee, *Apis mellifera*, in Argentina. *Journal of Apicultural Research*, 30, 75-80.

- ALPHANDÉRY, R. 2002. La route du miel: le grand livre des abeilles et de l'apiculture, Nathan.
- AMIRAT, A. 2014. Contribution à l'analyse physicochimique et pollinique du miel de thymus algeriensis de la région de Tlemcen, Mémoire Master, science des aliments, Université Abou-Bekr Belkaid-Tlemcen.
- ANCHLING, F. 2008. Foins, confitures et récoltes Aout 2008 : il faut déjà penser à l'hiver Abeille de France. France.
- ANDERSON, D. L. 1988. Pathologist report. *New Zealand Beekeeper*, 199, 12-15.
- ANSES 2018. Méthode d'analyse en santé animale. 7, 17.
- AOUAR-SADLI, M., CHERIFI-HABBI, A., CHERIFI-HAROUIZ, Z., HEZIL, S. 2019. Evaluation of the efficacy of essential oils from aromatic plants in naturally infested honeybee (*Apis mellifera* L.) colonies by *Varroa destructor*. *Journal of Entomological Research*, 43, 117-124.
- AUFAUVRE, J. 2013. Impact de la microsporidie *Nosema ceranae* et d'insecticides neurotoxiques sur la santé de l'abeille domestique (*Apis mellifera*). Université Blaise Pascal (Clermont Ferrand 2).
- AYMÉ, A. 2014. Synthèse des connaissances sur l'apiculture réunionnaise et enjeux pour la filière.
- BADIS, A., LAOUABDIA-SELLAMI, N., GUETARNI, D., KIHAL, M. et OUZROUT, R. 2005. Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir de lait cru de chèvre de deux populations caprines locales "arabie et kabyle". *Sciences & Technologie. C, Biotechnologies*, 30-37.
- BAILEY, L. 1954. The control of *Nosema* disease. *Bee World*, 35, 111-113.
- BAILEY, L. 1963. The pathogenicity for honey-bee larvae of microorganisms associated with European foulbrood. *Journal of Insect Pathology*, 5, 198-205.
- BAILEY, L. 1968. Honey bee pathology. *Annual review of entomology*, 13, 191-212.
- BAILEY, L. 1981. Honey bee pathology. *Academic Press*, London - New York.
- BAILEY, L. 1985. *Melissococcus pluton* and European foul brood. *Bee World*, 66, 134-136.
- BAILEY, L., BALL, B. V. 1991. Honey Bee Pathology. *Academic Press*, 125.
- BAILEY, L., COLLINS, M. 1982. Reclassification of *Streptococcus pluton* (White) in a new genus *Melissococcus*, as *Melissococcus*. *Journal of Applied Bacteriology*, 53, 215-217.
- BAKIRI, E. 2018. Abeilles sauvages et abeilles domestiques: Impact sur la biodiversité et la productivité. Université des Frères Mentouri Constantine., 14.

- BAMFORD, S. et HEATH, L. 1989. The infection of *Apis mellifera* larvae by *Ascospaera apis*. *Journal of apicultural research*, 28, 30-35.
- BAROUR, C., TAHAR, A., BAYLAC, M. 2011. Forewing shape variation in Algerian honey bee populations of *Apis mellifera intermissa* (Buttel-Reepen, 1906)(Hymenoptera: Apidae): a landmark-based geometric morphometrics analysis. *African Entomology*, 19, 11-22.
- BEETSMA, J. 1979. The process of queen-worker differentiation in the honeybee. *Bee world*, 60, 24-39.
- BELAID, M. et DOUMANDJI, S. 2010. Effet du *Varroa destructor* sur la morphométrie alaire et sur les composants du système immunitaire de l'abeille. *Apis mellifera intermissa. Lebanese science journal*, 11, 84-90.
- BELLOY, L., IMDORF, A., FRIES, I., FORSGREN, E., BERTHOUD, H., KUHN, R. et CHARRIÈRE, J.-D. 2007. Spatial distribution of *Melissococcus plutonius* in adult honey bees collected from apiaries and colonies with and without symptoms of European foulbrood. *Apidologie*, 38, 136-140.
- BENDJEDID, H., ACHOU, M. 2014. Etude de la diversité morphométrique de deux populations d'abeilles domestiques (*Apis mellifera intermissa* et *Apis mellifera sahariensis*) du sud Algérien. *Synthèse: Revue des Sciences et de la Technologie*, 28, 84-95.
- BERKANI-GHALEM, Z., HAMI, H., BERKANI MOHAMED, L. 2013. Effet du Climat sur l'évolution des populations de *Varroa destructor* chez l'Abeille *Apis mellifera intermissa* L. dans les différents écosystèmes de l'Algérie. *Silva Lusitana*, 21, 219-234.
- BIO-RAD 2011a. Esculine / Gélose : 355-4314.
- BIO-RAD 2011b. Kligler-Hajna / Gélose : 355-5378.
- BIO-RAD 2011c. M.E.V.A.G./ Gélose : 355-5544.
- BIO-RAD 2011d. Mannitol-Mobilité-Nitrate / Gélose.
- BIO-RAD 2011e. TSI / Gélose : 356-4384.
- BIO-RAD 2011f. Urée-Indole / Bouillon : 356-3713.
- BIRI, M. 2010. Tout savoir sur les abeilles et l'apiculture, De Vecchi.
- BLEAU, N., BOUSLAMA, S., GIOVENAZZO, P., DEROME, N. 2020. Dynamics of the honeybee (*Apis mellifera*) gut microbiota throughout the overwintering period in Canada. *Microorganisms*, 8, 1146.
- BOUCHER, S. 2016. Maladies des abeilles, Editions France Agricole.
- BOURG, S. 2006. Abeille et insecticides phytosanitaires.

- BOUSSENA, S. 2020. Manuel des Travaux Pratiques de Bactériologie, Institut des Sciences Vétérinaires Département de Productions Animales, Université des frères mentouri.
- BRADBEAR, N. 2010. Le rôle des abeilles dans le développement rural. Manuel sur la récolte, la transformation des produits et services dérivés des abeilles.
- BRODSCHNEIDER, R., CRAILSHEIM, K. 2010. Nutrition and health in honey bees. *Apidologie*, 41, 278-294.
- BUTTEL-REEPEN, H. 1906. Apistica. Beitragezur Systematic, Biologie, sowie zur geschichtlichen und geographischen Verbreitung der Honigbiene (*Apis mellifica L.*), ihrer Variet Aten und der iibrigen Apis-Arten. Veroff. Zoology Museum Berlin.
- CASTEELS, P., AMPE, C., JACOBS, F., TEMPST, P. 1993. Functional and chemical characterization of Hymenoptaecin, an antibacterial polypeptide that is infection-inducible in the honeybee (*Apis mellifera*). *Journal of Biological Chemistry*, 268, 7044-7054.
- CASTEELS, P., ROMAGNOLO, J., CASTLE, M., CASTEELS-JOSSON, K., ERDJUMENT-BROMAGE, H., TEMPST, P. 1994. Biodiversity of apidaecin-type peptide antibiotics. Prospects of manipulating the antibacterial spectrum and combating acquired resistance. *Journal of Biological Chemistry*, 269, 26107-26115.
- CHARRIÈRE, J. P., DIETMANN, V., SCHAFER, M., DAINAT, B., NEUMANN, P. 2012. Guide de santé de l'abeille édité par le centre de recherche apicole.
- CHAUVIN, R. 1968. Traité de biologie de l'abeille.
- CHERIFI, A.-H., AOUAR-SADLI, M. 2014. Etude de la dynamique du parasite *Varroa destructor* de l'abeille domestique (*Apis mellifera*) et évaluation de l'efficacité de quelques huiles essentielles dans la lutte contre ce parasite. Mémoire de Magister, Université Mouloud Mameri, Tizi-Ouzou, Algeria.
- CLÉMENT, H. 2010. Une ruche au jardin, Ed. Rustica.
- CORBY-HARRIS, V., SNYDER, L. A., SCHWAN, M. R., MAES, P., MCFREDERICK, Q. S., ANDERSON, K. E. 2014. Origin and effect of Alpha 2.2 *Acetobacteraceae* in honey bee larvae and description of *Parasaccharibacter apium*. *Applied and Environmental Microbiology*, 80, 7460-7472.
- CRESPI, A. 1983. L'élevage rentable des abeilles manuel de l'apiculture moderne. Paris: de vecchi.
- DAJOZ, R. 1971. Précis d'écologie. Paris: Dunod.
- DE JONG, D., MORSE, R. A., EICKWORT, G. C. 1982. Mite pests of honey bees. *Annual Review of Entomology*, 27, 229-252.

- DE WILDE, J. D., BEETSMA, J. 1982. The physiology of caste development in social insects. *Advances in Insect physiology*, 16, 167-246.
- DELAPLANE, K. 1997. Strictly for the hobbyist: *Varroa*: how and when to treat. *American bee journal (USA)*.
- DELBAC, F. 2009. Nosémose des abeilles: recherche de nouveaux moyens de lutte et comparaison de la pathogénie des espèces *Nosema apis* et *Nosema ceranae* in J.-M. BARBANCON et M. L'HOSTIS. *Journée Scientifique apic.*, 96-100.
- DONG, Z.-X., LI, H.-Y., CHEN, Y.-F., WANG, F., DENG, X.-Y., LIN, L.-B., ZHANG, Q.-L., LI, J.-L., GUO, J. 2020. Colonization of the gut microbiota of honey bee (*Apis mellifera*) workers at different developmental stages. *Microbiological research*, 231, 126370.
- DSP-BOUIRA. 2018. Présentation de la wilaya [En ligne]. Disponible sur: <http://www.dspbouira.dz/index.php/fr/presentation-de-la-wilaya-3> [Consulté le 01/09/2021].
- EISCHEN, F., CARDOSO-TAMEZ, D., WILSON, W., DIETZ, A. 1989. Honey production of honey bee colonies infested with *Acarapis woodi* (Rennie). *Apidologie*, 20, 1-8.
- EISCHEN, F. A. 1987. Overwintering performance of honey bee colonies heavily infested with *Acarapis woodi* (Rennie). *Apidologie*, 18, 293-304.
- ELLIS, J. 2015. The internal anatomy of the honey bee. *American Bee Journal*, 971-974.
- EMERY, O., SCHMIDT, K., ENGEL, P. 2017. Immune system stimulation by the gut symbiont *Frischella perrara* in the honey bee (*Apis mellifera*). *Molecular ecology*, 26, 2576-2590.
- ENCYCLOPÉDIE DE LA LANGUE FRANÇAISE. 2013. Abeille – Anatomie – Les Systèmes Respiratoire et Circulatoire [En ligne]. Disponible sur: <http://www.encycopedie-universelle.net/abeille1/abeille-anatomie-appareil-respiratoire-circulatoire.html> [Consulté le 04/04/2021].
- ENGEL, P., BARTLETT, K. D., MORAN, N. A. 2015. The bacterium *Frischella perrara* causes scab formation in the gut of its honeybee host. *MBio*, 6, e00193-15.
- ENGEL, P., MORAN, N. A. 2013. The gut microbiota of insects—diversity in structure and function. *FEMS microbiology reviews*, 37, 699-735.
- ESNAULT, O. 2018. Diversité des agents pathogènes de l'abeille dans le Sud-Ouest de l'Océan Indien dans un contexte d'invasion récente de *Varroa destructor* et mortalités associées. Université de la Réunion.
- EVANS, J., ARMSTRONG, T.-N. 2005. Inhibition of the American foulbrood bacterium, *Paenibacillus larvae* larvae, by bacteria isolated from honey bees. *Journal of Apicultural Research*, 44, 168-171.

- EVANS, J. D., SCHWARZ, R. S. 2011. Bees brought to their knees: microbes affecting honey bee health. *Trends in microbiology*, 19, 614-620.
- FAUCON, J. 1992. Précis de pathologie apicole: connaître et traiter les maladies des abeilles. *CNEVA/FNOSAD*, 512.
- FAURIE, C., FERRA, C. et MEDORI, P. 1980. Ecologie. Paris: Baillière JB.
- FERNANDEZ, N., COINEAU, Y. 2007. Maladies, parasites et autres ennemis de l'abeille mellifère, Atlantica.
- FORSGREN, E., LUNDHAGEN, A. C., IMDORF, A., FRIES, I. 2005. Distribution of *Melissococcus plutonius* in honeybee colonies with and without symptoms of European foulbrood. *Microbial ecology*, 50, 369-374.
- FRAZIER, M., CARON, D. M., VANENGELSDORP, D. 2011. A field guide to honey bees and their maladies, Pennsylvania State University.
- FREE, J. B. 1977. The social organization of honeybees, Edward Arnold Ed. London, 124 p.
- GEGEAR, R. J., OTTERSTATTER, M. C., THOMSON, J. D. 2005. Does parasitic infection impair the ability of bumblebees to learn flower-handling techniques?. *Animal behaviour*, 70, 209-215.
- GLENNY, W., CAVIGLI, I., DAUGHENBAUGH, K. F., RADFORD, R., KEGLEY, S. E., FLENNIKEN, M. L. 2017. Honey bee (*Apis mellifera*) colony health and pathogen composition in migratory beekeeping operations involved in California almond pollination. *PloS one*, 12, e0182814.
- GUINANE, C. M., COTTER, P. D. 2013. Role of the gut microbiota in health and chronic gastrointestinal disease: understanding a hidden metabolic organ. *Therapeutic advances in gastroenterology*, 6, 295-308.
- GUSTIN, Y. 2008. L'apiculture Illustrée. Rustica/FLER ed. Paris.
- HACCOUR, S. 1961. Recherche sur l'abeille saharienne au Maroc: Communication à la Société des Sciences Naturelles et Physiques du Maroc. *Extrait de la Belgique Apicole*, 25, 1961.
- HAFSAOUI, K., TAHRAOUI, A. E., HAKIM. 2019. Contribution à l'étude du déclin de la population des abeilles en Algérie. Mémoire Master, Université Djilali Bounaama de Khemis-Miliana.
- HAMDI, C., BALLOI, A., ESSANAA, J., CROTTI, E., GONELLA, E., RADDADI, N., RICCI, I., BOUDABOUS, A., BORIN, S., MANINO, A. 2011. Gut microbiome dysbiosis and honeybee health. *Journal of Applied Entomology*, 135, 524-533.
- HAYDAK, M. H. 1970. Honey bee nutrition. *Annual review of entomology*, 15, 143-156.

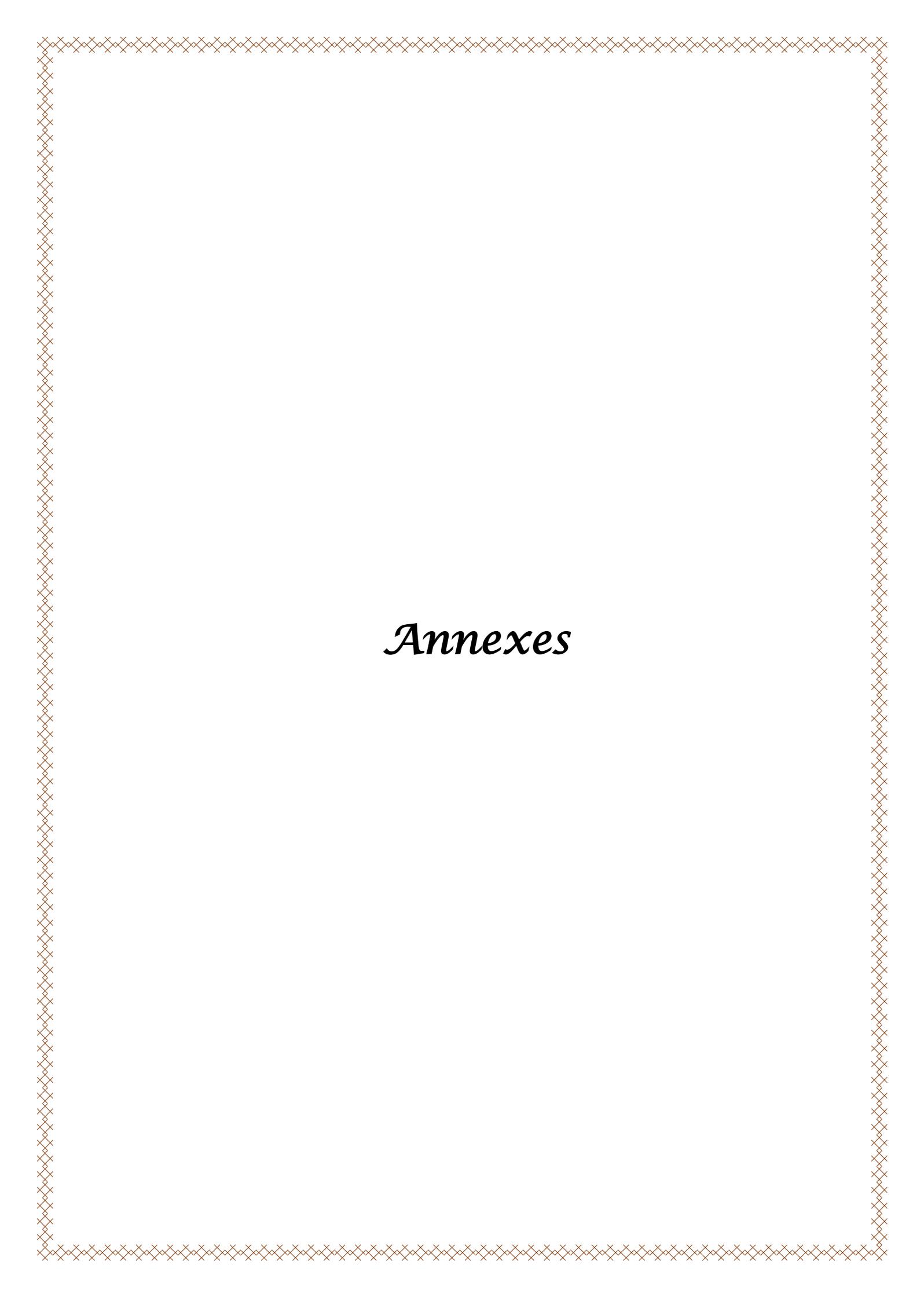
- HAYNES, W. 1972. Catalase test; an aid in the identification of *Bacillus larvae*. *Amer Bee J*, 112, 130-131.
- HEATH, L. 1982. Chalk brood pathogens: a review. *Bee World*, 63, 130-135.
- HEATH, L. 1985. Occurrence and distribution of chalk brood disease of honeybees. *Bee World*, 66, 9-15.
- HIGES, M., MARTÍN, R. et MEANA, A. 2006. *Nosema ceranae*, a new microsporidian parasite in honeybees in Europe. *Journal of invertebrate pathology*, 92, 93-95.
- HUMEAU. 2012. Fiche technique : Milieu de Clark & Lubs [En ligne]. Disponible sur: [https://www.humeau.com/media/blfa\\_files/TC\\_064-Clark--Lubs\\_FR\\_030315.pdf](https://www.humeau.com/media/blfa_files/TC_064-Clark--Lubs_FR_030315.pdf) [Consulté le 15/06/2021].
- IALO. 2017. Abeille qui est tu ? : abeille domestique, mouche a miel, abeille des ruches [En ligne]. Webperigord. [Consulté le 05/05/2021].
- IMDORF, A., BOGDANOV, S., KILCHENMANN, V. et BERGER, T. 2006. The acaricidal effects of essential oils from thyme, salvia and hyssop plants (from left to right) have been tested against *Varroa destructor*. *ALP Sci*, 495, 3-18.
- IVERT, M. 2016. Toxicité des Néonicotinoïde chez l'abeille domestique, Thèse de Docteur Vétérinaire. Université Claude-Berenger Lyon.
- KAPHEIM, K. M., RAO, V. D., YEOMAN, C. J., WILSON, B. A., WHITE, B. A., GOLDENFELD, N., ROBINSON, G. E. 2015. Caste-specific differences in hindgut microbial communities of honey bees (*Apis mellifera*). *PloS one*, 10, e0123911.
- KERBASTARD, M. N. 2020. Des abeilles, des humains et du miel. Université de Montpellier.
- KEŠNEROVÁ, L., MARS, R. A., ELLEGAARD, K. M., TROILO, M., SAUER, U., ENGEL, P. 2017. Disentangling metabolic functions of bacteria in the honey bee gut. *PLoS biology*, 15, e2003467.
- KIDOUD, B. 2017. Les principales maladies menaçantes la survie de l'abeille domestique (*Apis Mellifera*) en Algérie. Mémoire Master, Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen.
- KWONG, W. K. et MORAN, N. A. 2016. Gut microbial communities of social bees. *Nature Reviews Microbiology*, 14, 374-384.
- LE CONTE, Y. 2004. Mieux connaître l'abeille. La vie sociale de la colonie.
- LE CONTE, Y. 2011. Mieux connaître l'abeille. In : Clément, Paris, Rustica.
- LE CONTE, Y., ALBOUY, V. 2014. Nos abeilles en péril, Quae.
- LEMAITRE, B., MIGUEL-ALIAGA, I. 2013. The digestive tract of *Drosophila melanogaster*. *Annual review of genetics*, 47, 377-404.

- LI, J. H., EVANS, J. D., LI, W. F., ZHAO, Y. Z., DEGRANDI-HOFFMAN, G., HUANG, S. K., LI, Z. G., HAMILTON, M. et CHEN, Y. P. 2017. New evidence showing that the destruction of gut bacteria by antibiotic treatment could increase the honey bee's vulnerability to *Nosema* infection. *PloS one*, 12, e0187505.
- LINNÉ, C. V. 1758. *Caroli Linnaei... Systema naturae per regna tria naturae, secundum classes, ordines, genera, species, cum characteribus, differentiis, synonymis, locis.*
- LOUCIF-AYAD, W., ACHOU, M., LEGOUT, H., ALBURAKI, M., GARNERY, L. 2015. Genetic assessment of Algerian honeybee populations by microsatellite markers. *Apidologie*, 46, 392-402.
- LOUCIF-AYAD, W., ARIBI, N., SMAGGHE, G., SOLTANI, N. 2010. Comparative effectiveness of some acaricides used to control *Varroa destructor* (Mesostigmata: Varroidae) in Algeria. *African Entomology*, 18, 259-266.
- LOURI, B., BOUCHETTA, N. 2017. Etude des pratiques de l'élevage apicole et du péril menaçant la survie des abeilles dans la région centre nord de l'Algérie. Docteur Vétérinaire, Université Saad Dahlab- Blida.
- M'HENNI 2003. Abeille maghrébine (Tellienne) photographiée en Tunisie.
- MACKOWIAK, C. 2009. Le déclin de l'abeille domestique, *Apis mellifera* en France. UHP- Université Henri Poincaré.
- MAISONNASSE, A., LENOIR, J.-C., BESLAY, D., CRAUSER, D., LE CONTE, Y. 2010. E- $\beta$ -ocimene, a volatile brood pheromone involved in social regulation in the honey bee colony (*Apis mellifera*). *PLOS one*, 5, e13531.
- MAKHLOUFI, K. M. 2011. Caractérisation d'une bactériocine produite par une bactérie lactique *Leuconostoc pseudomesenteroides* isolée du boza. Université Pierre et Marie Curie-Paris VI.
- MAMI, A. 2013. Recherche des bactéries lactiques productrices de bactériocines à large spectre d'action vis à vis des germes impliqués dans les intoxications alimentaires. Université Mohamed Boudiaf des Sciences et de la Technologie-Mohamed Boudiaf.
- MARTINSON, V. G., DANFORTH, B. N., MINCKLEY, R. L., RUEPPELL, O., TINGEK, S., MORAN, N. A. 2011. A simple and distinctive microbiota associated with honey bees and bumble bees. *Molecular Ecology*, 20, 619-628.
- MARTINSON, V. G., MOY, J., MORAN, N. A. 2012. Establishment of characteristic gut bacteria during development of the honeybee worker. *Applied and environmental microbiology*, 78, 2830-2840.

- MORAN, N. A. 2015. Genomics of the honey bee microbiome. *Current opinion in insect science*, 10, 22-28.
- MORAN, N. A., HANSEN, A. K., POWELL, J. E. et SABREE, Z. L. 2012. Distinctive gut microbiota of honey bees assessed using deep sampling from individual worker bees. *PloS one*, 7, e36393.
- MOTTA, E. V., RAYMANN, K., MORAN, N. A. 2018. Glyphosate perturbs the gut microbiota of honey bees. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 115, 10305-10310.
- MOUMENE, M. 2015. Isolement et identification des bactéries lactiques et étude de l'effet antagoniste vis-à-vis des germes pathogènes.
- MOUSLIM, B., NOUEL-KHEITER, A. 2017. Le Parc national du Djurdjura une biodiversité à mieux faire connaître. *Le courrier de la nature*, 307, 36-40.
- NEISH, A. S. 2009. Microbes in gastrointestinal health and disease. *Gastroenterology*, 136, 65-80.
- OTIS, G. W., SCOTT-DUPREE, C. D. 1992. Effects of *Acarapis woodi* on overwintered colonies of honey bees (Hymenoptera: Apidae) in New York. *Journal of Economic Entomology*, 85, 40-46.
- PAILLOT, A. 1949. L'abeille: anatomie, maladies, ennemis, Editions de Trévoux.
- PEDERSON, K. 1976. Chalk brood: possible methods of control, and the effect of additional heat. *Birkteren*, 92, 18-22.
- PELLETIER, N. 2010. Le déclin des populations d'abeilles au québec: causes probables, impacts et recommandations. *St-Colomban*. Sherbrooke University.
- PHILIPPE, J.-M. 2007. Le guide de l'apiculture, Paris, Edisud.
- POHL, F. 2008. L'élevage Des Abeilles. Artémis ed.
- PROST, P., LE CONTE, Y. 2005. Apiculture: connaître l'abeille, conduire le rucher. *Lavoisier*, Paris, 382, 698.
- 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. Université de la Réunion.
- RAVAZZI, G. 2007. Abeilles et apiculture, De Vecchi.
- RAYMANN, K., MORAN, N. A. 2018. The role of the gut microbiome in health and disease of adult honey bee workers. *Current opinion in insect science*, 26, 97-104.

- RENNIE, J. 1921. Isle of Wight Disease in Hive Bees Acarine Disease: The Organism associated with the Disease *Tarsonemus woodi*, n. sp. *Earth and Environmental Science Transactions of the Royal Society of Edinburgh*, 52, 768-779.
- RIBIÈRE, C., HEGARTY, C., STEPHENSON, H., WHELAN, P., O'TOOLE, P. W. 2019. Gut and whole-body microbiota of the honey bee separate thriving and non-thriving hives. *Microbial ecology*, 78, 195-205.
- RIONDET, J. 2013. Le rucher durable: guide pratique de l'apiculteur d'aujourd'hui, Ed. Ulmer.
- ROMAN, P. 2009. Les abeilles et la fabrication du miel, Éd. de l'Astronome.
- ROSENKRANZ, P., AUMEIER, P., ZIEGELMANN, B. 2010. Biology and control of *Varroa destructor*. *Journal of invertebrate pathology*, 103, S96-S119.
- ROY, C., L'HOSTIS, M. 2017. La nosémosé des abeilles: chronique d'une disparition prochaine en France. *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France*.
- SCHWARZ, R. S., EVANS, J. D. 2013. Single and mixed-species trypanosome and microsporidia infections elicit distinct, ephemeral cellular and humoral immune responses in honey bees. *Developmental & Comparative Immunology*, 40, 300-310.
- SCHWARZ, R. S., MORAN, N. A., EVANS, J. D. 2016. Early gut colonizers shape parasite susceptibility and microbiota composition in honey bee workers. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113, 9345-9350.
- SEELEY, T. D. 2002. The effect of drone comb on a honey bee colony's production of honey. *Apidologie*, 33, 75-86.
- SPIILTOIR, C. F. 1955. Life cycle of *Ascospaera apis* (*Pericystis apis*). *American Journal of Botany*, 501-508.
- SPURGIN, A. 2008. Guide de l'abeille, Paris, Delachaux et Niestlé.
- SZAWARSKI, N., QUINTANA, S., LEVY, E., LUCÍA, M., ABRAHAMOVICH, A., PORRINI, M., BRASESCO, C., NEGRI, P., SARLO, G., EGUARAS, M. 2017. Is *Acarapis woodi* mite currently infesting *Apis mellifera* colonies in Argentina?. *Journal of Apicultural Research*, 56, 387-393.
- TAOUINT, S. 2014. Contribution à l'étude morphométrique et histologique de quelques parties du système reproducteur de la reine d'abeilles *Apis mellifera intermissa*.
- THORSTENSEN, K. 1976. Chalkbrood, a fungal disease of honeybees. *Birokteren*, 92, 14-17.
- THURBER, P. 1979. CHALK BROOD. *American Bee Journal*, 119, 605-606.
- TYSSET, G., ROUSSEAU, M. et DURAND, G. 1969. La présence des streptocoques du groupe D de Lancefield chez les abeilles butineuses saines (*Alpis mellifica* L.)

- L'interprétation de leur présence en bactériologie alimentaire. *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France*.
- VAILLANT, J. 1989. Nourrissement au sirop de sucre acidifié. *La santé de l'abeille*, 110, 55-60.
- VÁSQUEZ, A., FORSGREN, E., FRIES, I., PAXTON, R. J., FLABERG, E., SZEKELY, L., OLOFSSON, T. C. 2012. Symbionts as major modulators of insect health: lactic acid bacteria and honeybees. *PloS one*, 7, e33188.
- VON FRISCH, K. 1977. Les insectes, maîtres de la terre?: trad. de l'allemand par Georges Cornilleau, Institut Nazareth et Louis-Braille.
- VON FRISCH, K. 2011. Vie et moeurs des abeilles, Albin Michel.
- WILSON, W. T. 1971. Resistance to American foulbrood in honey bees. XI: Fate of *Bacillus* larvae spores ingested by adults. *Journal of invertebrate Pathology*, 17, 247-255.
- WINSTON., MARK, L. 1993. La biologie de l'abeille. Nauwelaerts et Frison-Roche.
- WINSTON, M. L., PUNNETT, E. N. 1982. Factors determining temporal division of labor in honeybees. *Canadian Journal of Zoology.*, 60, 2947-2952.
- ZHENG, H., POWELL, J. E., STEELE, M. I., DIETRICH, C., MORAN, N. A. 2017. Honeybee gut microbiota promotes host weight gain via bacterial metabolism and hormonal signaling. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 114, 4775-4780.
- ZHENG, H., STEELE, M. I., LEONARD, S. P., MOTTA, E. V., MORAN, N. A. 2018. Honey bees as models for gut microbiota research. *Lab animal*, 47, 317-325.



# *Annexes*

## Annexes

### Annexe 1 : Milieux d'isolement

#### ➤ Milieu MRS (Man Rogosa et Sharp)

Pour un litre de milieu

• Polypeptone	10,0g
• Extrait de viande	10,0g
• Extrait autolytique de levure	5,0g
• Glucose	20,0g
• Tween 80	1,08g
• Phosphate dipotassique	2,0g
• Acétate de sodium	5,0g
• Citrate d'ammonium	2,0g
• Sulfate de magnésium	0,2g
• Sulfate de manganèse	0,05g
• Agar agar bactériologique	15,0g
• pH (25°C) final = $6,5 \pm 0,2$	

#### ➤ Milieu Hektoen

Pour un litre de milieu

• Protéose-Peptone	12,0g
• Extrait de levure	3,0g
• Désoxycholate de sodium	9,0g
• Lactose	12,0g
• Saccharose	12,0g
• Salicine	2,0g
• Bleu de bromothymol	0,065g
• Fuchsine acide	0,10g
• Thiosulfate de sodium	5,0g
• Citrate ferrique ammoniacal	1,5g
• Chlorure de sodium	5,0g
• Agar	15,0g
• pH (25°C) final = $7,5 \pm 0,2$	

➤ **Milieu VF (Viande-foie)**

Pour un litre de milieu

- Base viande-foie 30,0g
- Glucose 2,0g
- Agar 6,0g
- pH (25°C) final =  $7,6 \pm 0,2$

➤ **Milieu Chapman (Manitol Salt Agar)**

Pour un litre de milieu

- Peptone 10,0g
- Extrait de viande de bœuf 1,0g
- Chlorure de sodium 75,0g
- Mannitol 10,0g
- Rouge de phénol 0,025g
- Agar 15,0g
- pH (25°C) final =  $7,4 \pm 0,2$

**Annexe 2 : Milieux d'identification**➤ **Milieu Mannitol mobilité**

Pour un litre de milieu

- Hydrolysate tryptique de caséine 10,0g
- Nitrate de potassium 1,0g
- Mannitol 7,5g
- Rouge de phénol 0,04g
- Agar 3,5g
- pH (25°C) final =  $7,6 \pm 0,2$

➤ **Milieu TSI (Triple Sugar Iron)**

Pour un litre de milieu

- Extrait autolytique de levure 3,0g
- Extrait de viande 3,0g
- Peptone 20,0g

- Chlorure de sodium 5,0g
- Lactose 10,0g
- Saccharose 10,0g
- Glucose 1,0g
- Thiosulfate de sodium 0,3g
- Citrate de fer (III) 0,3g
- Rouge de phénol 0,024g
- Agar bactériologique 9,0g
- pH (25°C) final =  $7,4 \pm 0,2$

➤ **Milieu Clarks and Lubs**

Pour un litre de milieu

- Peptone 7,0g
- Glucose 5,0g
- Phosphate dipotassique 5,0g
- pH (25°C) final =  $7,0 \pm 0,2$

➤ **Milieu M.E.V.A.G Hugh et Leifson**

Pour un litre de milieu

- Macération de viande (500g/l) 50,0ml
- KCl 5,0g
- Agar 3,0g
- Rouge de phénol (solution aqueuse à 0,2%) 10,0ml
- pH (25°C) final =  $7,0 \pm 0,2$

**Milieu Kligler Hajna**

Pour un litre de milieu

- Peptone 20,0g
- Extrait de viande de bœuf 3,0g
- Extrait de levure 3,0g
- Chlorure de sodium 5,0g
- Sulfate ferreux 0,2g

- Thiosulfate de sodium 0,3g
- Lactose 10,0g
- Glucose 1,0g
- Rouge de phénol 0,025g
- Agar 11,0g
- pH (25°C) final =  $7,5 \pm 0,2$

➤ **Milieu esculine**

Pour un litre de milieu

- Peptone 10,0g
- Citrate de fer ammoniacal 1,0g
- Esculine 1,0g
- Agar 8,0g
- pH (25°C) final =  $7,4 \pm 0,2$

➤ **Bouillon urée-indole**

- L-Tryptophane 0,3g
- $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0,1g
- $\text{K}_2\text{HPO}_4$  0,1g
- NaCl 0,5g
- Urée 2,0g
- Alcool à 95° 1,0g
- Rouge de phénol à 1% 0,25g
- Eau distillée 100ml
- pH (25°C) final =  $6,8 \pm 0,2$

### Annexes 3 : Milieux d'enrichissements

➤ **Bouillon nutritif**

Pour un litre de milieu

- Extrait de viande 1,0g

- Extrait de levure 2,0g
- Peptone 5,0g
- Chlorure de sodium 5,0g
- pH (25°C) final =  $7,4 \pm 0,2$

➤ **Eau peptonée**

Pour un litre de milieu

- Peptone 10,0 g
- Chlorure de sodium 5,0 g
- pH (25°C) final =  $7,2 \pm 0,2$

➤ **Milieu LB**

Pour un litre de milieu

- Tryptone 10,0 g
- Extrait de levures 5,0 g
- NaCl 10 g
- pH (25°C) final =  $7,0 \pm 0,2$

## Résumé

Microbiote intestinal, également connu sous le nom de flore intestinale, représente l'ensemble des micro-organismes vivants qui cohabitent dans l'intestin de son organisme hôte, l'abeille dans notre cas. Une interaction mutualiste symbiotique existe entre l'abeille (hôte) et les microorganismes constituant sa flore intestinale. L'objectif de ce présent travail consiste à mettre en évidence la diversité microbienne à l'intérieur du corps d'*Apis mellifera* de la région de Bouira. Pour cela nous avons opté pour une étude microbiologique par un isolement et purification des souches suivie d'une caractérisation macroscopique, microscopique et biochimique des isolats et une étude histologique de l'intestin de l'abeille. Les analyses microbiologiques et biochimiques ont révélé la présence de 3 souches bactériennes sur 21 isolats de la colonie forte et faible A savoir *Streptococcus*, *Staphylococcus* et *Entérobacter*.

**Mots-clés :** *Apis mellifera intermissa*, *Nosema sp*, microbiote intestinale, étude histologique, pathologies d'abeilles.

## Abstract

Intestinal microbiota, also known as gut flora, represents all the living microorganisms that coexist in the intestine of its host, in our case it's bees intestines. A mutualistic symbiotic interaction exists between the bee (host) and the microorganisms constituting its intestinal flora. The objective of this work is based on the demonstration of the microbial diversity within the body of *Apis mellifera* collected from Bouira region. For this we opted in our research a microbiological study first following several steps : isolation and purification of our strains succeeded by a macroscopic, microscopic and biochemical characterization of the isolates, second of all, an histological study of the bees intestines. The microbiological and microbiological analyzes revealed the presence of three bacterial strains out of 21 isolates, from strong and weak colony, citing : *Streptococcus*, *Staphylococcus* and *Enterobacter*.

**Keywords :** *Apis mellifera intermissa*, *Nosema sp*, intestinal microbiota, histological study, bee diseases.

## ملخص

تمثل الجراثيم المعوية جميع الكائنات الحية الدقيقة التي تتعايش في أمعاء الكائن المضيف لها، النحلة في حالتنا. عالقة تبادلية تعايشية موجودة بين النحلة (الكائن المضيف) والكائنات الحية الدقيقة المكونة للجراثيم المعوية، الهدف من هذا العمل هو تسلط الضوء على التنوع الميكروبي داخل جسم *Apis mellifera* لولاية البويرة لهذا اخترنا دراسة ميكروبيولوجية عن طريق عزل وتنقية السلالات متبوعة بالدراسة المجهرية، الميكروسكوبية والكيميائية، أيضا قمنا بدراسة النسيج الخاص بالأمعاء المعوية لـ *Apis mellifera*. التحاليل الميكروبيولوجية والبيوكيميائية كشفت عن وجود ثلاث سلالات بكتيرية من أصل 21 عزلة وتمثل في *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Entérobacter*.

**الكلمات المفتاحية:** *Apis mellifera intermissa*, *Nosema sp*, الجراثيم المعوية, دراسة نسيجية, أمراض النحل.