

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE M'HAMED BOUGARA-BOUMERDES



Faculté des Sciences

Thèse de Doctorat

Présentée par :

KHEDIDJI Hassiba

En vue de l'obtention du diplôme de **DOCTORAT LMD** :

Filière : Sciences Agronomiques

Spécialité : Protection des végétaux

Etude en conditions contrôlées de l'effet de la carence en pollen et du stress thermique sur quelques critères physiologiques et comportementaux des deux races d'abeilles locales *Apis mellifera intermissa* et *Apis mellifera sahariensis*

Devant le jury composé de :

M ^{me} ACHEUK	Fatma	Prof	UMBB	Présidente
M ^f MOHAMMEDI	Arezki	Prof	UMBB	Directeur
M ^{me} LADJALI- MOHAMMEDI	Kafia	Prof	USTHB	Co- Directrice
M ^{me} CHAHBAR	Nora	Prof	UMBB	Examinatrice
M ^{me} HEZIL	Djamila	MCA	UMBB	Examinatrice
M ^{me} ZENNOUCHE	Ourdia	MCA	UAMB	Examinatrice

Année universitaire 2023/2024

“It is not the most intellectual of the species that survives; it is not the strongest that survives; but the species that survives is the one that is able best to adapt and adjust to the changing environment in which it finds itself”

Leon C. Megginson, 1963

REMERCIEMENTS

Après un parcours académique parsemé de défis et de progressions enrichissantes et constructives, il est essentiel pour moi de consacrer un moment pour rédiger cette section de remerciements afin d'exprimer ma profonde reconnaissance envers toutes les personnes qui ont contribué à la réalisation de cette thèse.

Je tiens tout d'abord à exprimer mes sincères gratitude envers mon Directeur de thèse, Pr MOHAMMEDI Arezki, et ma Co-directrice de thèse, Pr LADJALI-MOHAMMEDI Kafia, pour leur encadrement exceptionnel tout au long de mon parcours de recherche. Leurs précieux conseils ainsi que leur passion pour l'excellence scientifique ont été des piliers essentiels pour la réalisation de cette thèse,

Mes vifs remerciements sont adressés également à Mme, ACHEUK Fatma Directrice du laboratoire VALCORE, pour avoir accepté de présider le jury de ma thèse.

Je remercie chaleureusement la Vice-Doyenne de la Faculté des Sciences de l'Université de Boumerdès, Mme CHAHBAR Nora, pour sa précieuse assistance administrative et sa disponibilité constante qui ont grandement simplifié toutes les procédures. De plus, je la remercie d'avoir également accepté d'examiner la thèse.

Je remercie aussi Mme ZENNOUCHE Ourdia et Mme HEZIL Djamila pour avoir généreusement accepté d'examiner et d'évaluer ce travail.

Ma reconnaissance va tout spécialement à Mme OULEBSIR-MOHAND KACI Hakima, pour ses conseils précieux, son encouragement et sa contribution scientifique.

Je remercie *la Fondation Partenariat pour la Recherche et l'Innovation dans la Région Méditerranéenne (PRIMA)* pour le financement de ma thèse.

Un grand merci à mes chers parents, dont les prières et les Douaas sincères ont éclairé mon chemin. Je remercie également mes chères sœurs Naima, Habiba et Anfal, ainsi que mes chers frères Ismail, Fateh et Yakoub pour leur soutien inébranlable tout au long de mon parcours.

Je souhaite exprimer ma profonde gratitude envers Mr LEFKI Mohand Améziane, Directeur de la société Plasti-horticole méditerranéenne (SOPHOM), ainsi que Mr LEFKI Kamel, cogérant de la SOPHOM, pour leur soutien exceptionnel tout au long de mes

années de préparation de doctorat. Leur compréhension de ma situation en tant qu'étudiante et leur engagement à alléger ma charge de travail ont été d'une valeur inestimable pour mon parcours. Leur générosité s'est également manifestée par la mise à disposition des moyens nécessaires à la réalisation de ma thèse.

Je remercie infiniment Mme BELHOCINE Souad pour son soutien et ses encouragements tout au long de mon travail. Son attention à mes besoins et sa gentillesse en me procurant ce petit plaisir ont grandement contribué à apaiser mon stress. Malgré mes demandes constantes et mes questions, elle m'a toujours accueillie avec un sourire et une patience infinie.

Ma profonde gratitude va à Mr REZIGAT Rabah pour ses conseils, corrections et partage d'idées qui ont considérablement amélioré la qualité de mon travail. Sa générosité, sa disponibilité constante et son esprit collaboratif ont été d'une aide inestimable. Je remercie aussi Mr LEFKI Karim pour sa motivation continue accompagné de ses encouragements et de taquineries bienveillantes sur mon travail. Aujourd'hui, je suis ravie de lui annoncer que le jour attendu est enfin arrivé.

Et puisque je ne peux pas citer individuellement toutes les personnes qui m'ont apporté leur aide, je tiens à adresser mes remerciements à chaque personne qui a contribué de près ou de loin à mon parcours de doctorat. Chaque geste de soutien, quelle que soit sa forme, a contribué de manière significative à mon parcours..

ARTICLES ET COMMUNICATIONS

Article publié dans la revue *Insects* (MDPI).

Khedidji, H., Abderrahmani, K., Oulebsir-Mohandkaci, H., Ladjali-Mohammedi, K., Mohammedi, A. (2022). Effects of pollen deprivation in groups of tellian (*Apis mellifera intermissa*) and saharan (*Apis mellifera sahariensis*) honey bees under controlled conditions. *Insects*, 13(8), 727. <https://doi.org/10.3390/insects13080727>

Article en soumission pour publication dans « *Journal of Apicultural Research* ».

Khedidji, H., Chellali, M., Cherrered, N., Ghaffar I., Ladjali-Mohammedi, K., & Mohammedi, A. (2023). Effect of heat stress on *Apis mellifera intermissa* and *Apis mellifera sahariensis* in laboratory controlled conditions: a physiological approach. *Journal of Apicultural Research* .

Communications orales & affichées lors de congrès nationaux et internationaux

Khedidji, H., & Mohammedi, A. (2020). L'importance de l'abeille saharienne dans la production agricole dans la région sud du pays. Communication orale présentée au séminaire international sur la Durabilité de l'agriculture saharienne et l'utilisation de l'eau, El Oued, Algérie, 2-3 Mars 2020.

Khedidji, H., & Mohammedi, A. (2023). Effet de la carence en pollen sur la physiologie de deux sous-espèces d'abeilles endémiques en Algérie (*Apis mellifera intermissa* et *Apis mellifera sahariensis*). Communication orale présentée au séminaire international sur les Bioressources et le Développement Durable (BDD), Bouira, Algérie, 3-4 mai 2023.

Khedidji, H., Chellali, M., Ghaffar, I., & Mohammedi, A. (2022). Capacity of Saharan and Tellian bees to support protein deficiencies in times of scarcity. Online presentation at the Workshop "New IPM Tools for the Control of Honeybee Pests: Valorization of Endemic Mediterranean Honeybee Subspecies," Egypt, November 23, 2022.

Khedidji, H., & Mohammedi, A. (2023). Les potentialités de l'abeille saharienne. Communication orale présentée lors du séminaire national sur "L'abeille saharienne

(*Apis mellifera sahariensis*) : un patrimoine génétique national à sauvegarder et à valoriser". Boumerdes, Algérie, 19 mars 2023.

Khedidji, H., & Mohammedi, A. (2023). The Saharan Bee (*Apis mellifera sahariensis*): Challenges of Global Warming and Prospects for Agricultural Production. Online presentation at the 2nd National Seminar on the Assessment, Conservation, and Possibilities of Valorization of Biological Resources in Algeria (SNECPVRBA'23), Mila, Algeria, April 12-13, 2023.

Khedidji, H., Chellali, M., & Mohammedi, A. (2023). Physiological changes induced by a nutritional (hypoprotein diet) in honeybee. Online presentation at the 4th International Conference on Food, Agriculture, and Animal Sciences, Sivas, Turkey, April 27-28, 2023.

Khedidji, H., Dadoun, N., & Mohammedi, A. (2023). Honeybee facing global warming: Effect of heat stress during the pupal stage in the two subspecies of honeybee *Apis mellifera intermissa* and *Apis mellifera sahariensis*. Poster presented at the 1st National Symposium on Agroecology, Biodiversity, and Climate Change (Cnabic 1), Mascara, Algeria, May 3-4, 2023.

Khedidji, H., & Mohammedi, A. (2023). Les potentialités de l'abeille saharienne. Communication orale présentée lors du séminaire national à l'occasion de la journée mondiale de l'abeille à l'ITELV. Alger, Algérie. 21 Mai 2023.

Khedidji, H., & Mohammedi, A. (2023). Valorization of the Saharan honeybee (*Apis mellifera sahariensis*). Oral presentation at the PLANT-B Closing Workshop, Athens, Greece, September 6-8, 2023.

ABREVIATIONS

A. m.	<i>Apis mellifera</i>
ADNmt	Acide désoxyribonucléique- mitochondrial
Anova	Analysis Of Variance And Variability
AS	Abeille saharienne (<i>Apis mellifera sahariensis</i>)
ASP-	<i>Apis mellifera sahariensis</i> privée de pollen
ASP+	<i>Apis mellifera sahariensis</i> nourrie de pollen
ASS	Abeille saharienne stressée
AST	Abeille saharienne témoin
AT	Abeille tellienne (<i>Apis mellifera intermissa</i>)
ATP-	<i>Apis mellifera intermissa</i> privée de pollen
ATP+	<i>Apis mellifera intermissa</i> nourrie de pollen
ATS	Abeille tellienne stressée
ATT	Abeille tellienne témoin
BBC	Coomassie Brilliant Blue
BSA	Bovine Serum Albumin
Dnaj	Acide désoxyribonucléique-Joining protein
EHS	Institute for Environment and Human Security
FPF	Flupyradifurone
GHP	Glandes hypopharyngiennes
HR%	Humidité relative
HSD	Honest Significant Difference
HSP	Heat Shock Protein
Kg	Kilogramme
LH	Lipides d'hémolymphe
NF-Y	Nuclear Factor Y
NIC	Nombre initial de cellules
NTE	Nombre total d'abeilles émergentes
PH	Protéines dans l'hémolymphe
SD	Standard Deviation
SH	Sucres d'hémolymphe
TE	Taux d'émergence
UNU	United Nations University
X²	Symbole de Test Chi ²

SOMMAIRE

REMERCIEMENTS

ARTICLES ET COMMUNICATIONS

ABREVIATIONS

SOMMAIRE

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

INTRODUCTION GENERALE..... 1

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Revue bibliographique sur l'abeille domestique (<i>Apis mellifera L.</i>)	4
1. Historique et origine de l'abeille domestique <i>Apis mellifera L.</i>	4
2. Phylogénie de l'abeille domestique.....	5
2.1 La sous-espèce <i>Apis mellifera intermissa</i>	6
2.2 La sous-espèce <i>Apis mellifera sahariensis</i>	7
3. Biologie de l'abeille domestique	8
3.1 Cycle de vie	8
3.2 Structure et organisation de la colonie	9
3.2.1 Polyéthisme de castes	9
3.2.2 Polyéthisme d'âge chez l'abeille domestique.....	10
3.3 Morphologie et physiologie de l'abeille mellifère.....	11
3.3.1 Le rôle central de l'hémolymphe dans la physiologie des abeilles	12
3.3.2 Les glandes hypopharyngiennes	13
3.3.3 Développement ovarien chez les ouvrières.....	15
II. Nutrition de l'abeille domestique (<i>Apis mellifera L.</i>)	17
1. L'alimentation de l'abeille domestique	18
1.1 Le pollen	18
1.2 Composition du pollen.....	20
1.2.1 Les protéines.....	20
1.2.2 Les glucides.....	22
1.2.3 Les lipides.....	22
1.2.4 Les micronutriments	22
1.3 Miel et nectar	23

1.4	L'eau	24
2.	Les besoins nutritionnels de l'abeille domestique	24
3.	Impact de la carence nutritionnelle sur l'abeille domestique	25
4.	L'abeille domestique face à la carence nutritionnelle	26
III.	Le réchauffement climatique et les abeilles	28
1.	L'impact de la chaleur sur l'abeille domestique	28
1.1	Impact direct sur l'abeille.....	28
1.2	Impact indirect : la baisse des ressources mellifères	29
2.	Les mécanismes utilisés par l'abeille pour lutter contre la chaleur	29
2.1	Mécanismes physiologiques	30
2.2	Mécanismes comportementaux.....	30

PARTIE EXPERIMENTALE

<i>AVANT PROPOS</i>	32
I. Effets de la carence en pollen sur la physiologie des ouvrières d'<i>A. m. sahariensis</i> et <i>A. m. intermissa</i>	33
1. Introduction	33
2. Matériel et méthodes	34
2.1 Préparation des caquettes	34
2.2 Conception expérimentale.....	36
2.3 Conduite de l'essai.....	36
2.4 Poids moyen des abeilles émergentes	36
2.5 Prélèvement de l'hémolymphe.....	37
2.6 Analyse biochimique de l'hémolymphe	37
2.6.1 Dosage des protéines.....	37
2.6.2 Dosage des sucres	38
2.6.3 Dosage des lipides.....	38
2.7 Evaluation du degré de développement des glandes hypopharyngiennes.....	39
2.8 Evaluations du degré de développement ovarien	40
2.9 Analyses statistiques.....	41
3. Résultats	41
3.1 Poids moyen des abeilles émergentes	41
3.2 Consommation journalière de pollen, sirop et l'eau.....	42
3.3 Composition biochimique d'hémolymphe.....	42

3.3.1	Protéines	42
3.3.2	Sucres.....	43
3.3.3	Lipides	44
3.4	Développement des glandes hypopharyngiennes (GHP)	45
3.5	Développement ovarien	46
3.6	Survie	47
4.	Discussion	48
II.	Effets de la chaleur sur la physiologie d'<i>A. m. sahariensis</i> et <i>A. m. intermissa</i> durant le stade nymphal et adulte.....	53
1.	Introduction	53
2.	Matériel et méthodes.....	55
2.1	Stress thermique durant le stade nymphal.....	55
2.1.1	Conception expérimentale.....	55
2.1.2	Conduite de l'essai.....	55
2.1.3	Evaluation du taux d'émergence	56
2.2	Stress thermique durant le stade adulte	56
2.2.1	Conception expérimentale.....	56
2.3	Analyses statistiques.....	57
3.	Résultats.....	58
3.1	Stress thermique pendant le stade nymphal.....	58
3.1.1	Taux d'émergence	58
3.1.2	Poids des abeilles à la naissance	59
3.1.3	La teneur en protéines de l'hémolymphe	60
3.1.4	Développement des glandes hypopharyngiennes (GHP).....	61
3.2	Stress thermique chez les ouvrières adultes.....	62
3.2.1	Consommation journalière d'eau, de sirop et de pollen.....	62
3.2.2	Protéines.....	64
3.2.2.1	Développement des glandes hypopharyngiennes (GHP).....	65
3.2.3	Développement ovarien	66
3.2.4	Survie	67

4. Discussion.....	68
III. Effets du stress combiné de la carence en pollen et de la chaleur sur la physiologie des ouvrières d'<i>A. m. sahariensis</i> et <i>A. m. intermissa</i>	74
1. Introduction	74
2. Matériel et méthodes.....	74
2.1 Dispositif expérimental.....	75
2.2 Conduit de l'essai.....	75
2.3 Analyses statistiques.....	76
3. Résultats.....	76
3.1 Consommation journalière de pollen, sirop et eau	76
3.2 Composition biochimique de l'hémolymphe.....	77
3.2.1 Protéines.....	77
3.2.2 Lipides.....	78
3.2.3 Sucres.....	79
3.3 Développement des glandes hypopharyngiennes (GHP)	80
3.4 Développement ovarien.....	81
3.5 Survie	82
4. Discussion.....	83
<i>CONCLUSION ET PERSPECTIVES</i>.....	87
<i>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</i>.....	88
<i>ANNEXES</i>	
<i>RESUME</i>	

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Trois hypothèses qui ont été proposées pour l'origine d' <i>A. mellifera</i> . (1) Une origine en Afrique a été proposée par Wilson (1971) et une expansion hors de l'Afrique via une route à la fois orientale et occidentale Whitfield <i>et al.</i> , (2006). (2) Une expansion à partir du Moyen-Orient, impliquant la colonisation de l'Europe par deux voies, l'une orientale et l'autre occidentale, Ruttner (1978). (3) Une expansion à partir du Moyen-Orient, qui n'impliquait pas la route de colonisation occidentale vers l'Europe (Garnery <i>et al.</i> , 1992b; Han <i>et al.</i> , 2012).....	5
Figure 2. Phylogénie des 10 espèces de genre <i>Apis</i> , réparties en trois groupes (Han <i>et al.</i> , 2012).	6
Figure 3. <i>Apis mellifera intermissa</i> , b : <i>Apis mellifera sahariensis</i> (photos originales)	7
Figure 4. Phases de développement du couvain pour les trois castes d'abeille A : Couvain d'ouvrière ; B : Couvain de faux-bourdon ; C : Couvain de reine (Tofilski, 2012).	8
Figure 5. Morphologie de l'abeille (Hennebelle, 2010).....	12
Figure 6. Schéma de la structure des glandes hypopharyngiennes (Fayet, 2017).	14
Figure 7. Schéma de l'appareil reproducteur de l'ouvrière (a), de l'ouvrière pondreuse (b) et de la reine vierge (c). (Dade, 1994).....	16
Figure 8. Les trois niveaux de la nutrition de la colonie d'abeilles. A : dépendance des adultes envers le stock de la colonie. B : Qualité des soins aux larves. C : Régulation du nombre de larves. D : Cannibalisme. E Impact de la nutrition des larves sur la génération d'adultes à venir. F : Impact des adultes sur la nutrition de la colonie (Brodschneider et Crailsheim, 2010).	17
Figure 9. A : Tellienne butinant le Pollen d' <i>Asphodelus L.</i> B : Pelotes de pollen sur 3 ^{ème} patte (Photos originales)	19
Figure 10. Cadre de pollen (Photo originale).....	19
Figure 11. Tellienne butinant le nectar d' <i>Asphodelus L.</i> (Photo originale).....	23
Figure 12. Moyens de refroidissement de la ruche. a : barbe à l'extérieur de la ruche ; b : ventilation ; c : butineuses d'eau	31
Figure 13. Mise en cagettes des abeilles et incubation à l'étuve	35
Figure 14. Schéma représentatif du dispositif expérimental. ASP+ : <i>A. m. sahariensis</i> nourrie au pollen, ASP-: <i>A. m. sahariensis</i> privée de pollen, ATP+ : <i>A. m. intermissa</i> nourrie au pollen, ATP- : <i>A. m. intermissa</i> privée de pollen.	36

Figure 15. Prélèvement d'hémolymphe.....	37
Figure 16. Extraction et mesure de la surface des acinis des glandes hypopharyngiennes.....	40
Figure 17. Dissection des ovaires.....	41
Figure 18. Concentration des protéines d'hémolymphe (moyenne de \pm SE). À 7, 14 et 21 jours. ASP+ : <i>A. m. sahariensis</i> nourrie en pollen, ASP-: <i>A. m. sahariensis</i> privée de pollen, ATP+ : <i>A. m. intermissa</i> nourrie en pollen, ATP- : <i>A. m. intermissa</i> privée de pollen. Il n'y a pas de différence significative entre les barres ayant la même lettre ($p > 0,05$).....	43
Figure 19. Concentration des sucres d'hémolymphe (moyenne de \pm SE). À 7, 14 et 21 jours. ASP+ : <i>A. m. sahariensis</i> nourrie en pollen, ASP-: <i>A. m. sahariensis</i> privée de pollen, ATP+ : <i>A. m. intermissa</i> nourrie en pollen, ATP- : <i>A. m. intermissa</i> privée de pollen. Il n'y a pas de différence significative entre les barres ayant la même lettre ($p > 0,05$).....	44
Figure 20. Concentration des lipides d'hémolymphe (moyenne de \pm SE). À 7, 14 et 21 jours. ASP+ : <i>A. m. sahariensis</i> nourrie en pollen, ASP-: <i>A. m. sahariensis</i> privée de pollen, ATP+ : <i>A. m. intermissa</i> nourrie en pollen, ATP- : <i>A. m. intermissa</i> privée de pollen. Il n'y a pas de différence significative entre les barres ayant la même lettre ($p > 0,05$).....	45
Figure 21. Surface des acinis des glandes hypopharyngiennes (moyenne \pm SE), à 7, 14 et 21 jours. ASP+ : <i>A. m. sahariensis</i> nourrie en pollen, ASP-: <i>A. m. sahariensis</i> privée de pollen, ATP+ : <i>A. m. intermissa</i> nourrie en pollen, ATP- : <i>A. m. intermissa</i> privée de pollen. Il n'y a pas de différence significative entre les barres ayant la même lettre ($p > 0,05$).....	46
Figure 22. Taux de développement des ovaires chez les deux sous-espèces d'abeilles (<i>Apis mellifera intermissa</i> et <i>Apis mellifera sahariensis</i>), nourries au pollen (témoin) et privées de pollen. L'astérisque indique la signification du test du chi carré (χ^2) à un niveau de signification de p -value < 0,05.....	47
Figure 23. Courbes de survie de Kaplan-Meier. ASP+ : <i>A. m. sahariensis</i> nourrie de pollen, ASP- : <i>A. m. sahariensis</i> privée de pollen, ATP+ : <i>A. m. intermissa</i> nourrie de pollen, ATP- : <i>A. m. intermissa</i> privée de pollen.....	48
Figure 24. Schéma représentatif du dispositif expérimental de l'essai 02. a : stress thermique durant le stade nymphal, b : stress thermique durant stade adulte.....	57
Figure 25. Taux d'émergence (moyenne \pm SE) des abeilles après 10 jours d'incubation à 34 °C, 38 °C, 39 °C et 40 °C. AS: <i>A. m. sahariensis</i> , AT: <i>A. m. intermissa</i> . Il n'y a pas de différence significative entre les barres ayant la même lettre ($p > 0,05$).....	59

- Figure 26.** Poids de dix abeilles (moyenne \pm SE) à l'émergence après exposition à (34°C, 38 °C, 39 °C et 40 °C) durant le stade nymphal. AS : *A. m. sahariensis*, AT : *A. m. intermissa*. Il n'y a pas de différence significative entre les barres ayant la même lettre ($p > 0,05$). 60
- Figure 27.** Concentration en protéines d'hémolymphe (moyenne \pm SE) à l'émergence après exposition à 34 °C, 38 °C, 39 °C et 40 °C durant le stade nymphal. AS : *A. m. sahariensis*, AT : *A. m. intermissa*. Il n'y a pas de différence significative entre les barres ayant la même lettre ($p > 0,05$). 61
- Figure 28.** Surface des acinis des hypopharyngiennes (moyenne \pm SE) à l'émergence après exposition à 34 °C, 38 °C, 39 °C et 40 °C, durant le stade nymphal. AS : *A. m. sahariensis*, AT : *A. m. intermissa*. Il n'y a pas de différence significative entre les barres ayant la même lettre ($p > 0,05$). 62
- Figure 29.** Concentration de protéines d'hémolymphe (moyenne \pm SE) à 7, 14 et 21 jours, des ouvrières élevées à 34 °C, 38 °C, 39 °C et 40 °C). AS : *A. m. sahariensis*, AT : *A. m. intermissa*. Il n'y a pas de différence significative entre les barres ayant la même lettre ($p > 0,05$). 64
- Figure 30.** Surface des acinis des glandes hypopharyngiennes (moyenne \pm SE) à 7, 14 et 21 jours, des ouvrières élevées à 34 °C, 38 °C, 39 °C et 40 °C. AS : *A. m. sahariensis*, AT : *A. m. intermissa*. Il n'y a pas de différence significative entre les barres ayant la même lettre ($p > 0,05$). 66
- Figure 31.** Taux de développement ovarien chez les ouvrières d'*A. m. sahariensis* et *A. m. intermissa*, élevées à 34 °C, 38°C, 39 °C et 40 °C. L'astérisque indique la signification du test du Chi2 (χ^2) à un niveau de signification de p -value $< 0,05$ 67
- Figure 32.** Courbes de survie de Kaplan-Meier des ouvrières d'*A. m. sahariensis* et *A. m. intermissa*, élevées à 34 °C, 38 °C, 39 °C et 40 °C. 68
- Figure 33.** Schéma représentatif du dispositif expérimental de l'essai 03. AST : *A. m. sahariensis* témoin; ASS : *A. m. sahariensis* stressée; ATT : *A. m. intermissa* témoin; ATS : *A. m. intermissa* stressée. 75
- Figure 34.** Concentration des protéines d'hémolymphe (moyenne de \pm SE). À 7, 14 et 21 jours. AST : *A. m. sahariensis* (Témoin), ASS: *A. m. sahariensis* (Stressée), ATT : *A. m. intermissa* (Témoin), ATS : *A. m. intermissa* (Stressée). Il n'y a pas de différence significative entre les barres ayant la même lettre ($p > 0,05$). 78
- Figure 35. Concentration des lipides d'hémolymphe (moyenne de \pm SE). À 7, 14 et 21 jours. AST: *A. m. sahariensis* (Témoin), ASS: *A. m. sahariensis* (Stressée), ATT: *A. m. intermissa* (Témoin),

ATS: *A. m. intermissa* (Stressée). Il n'y a pas de différence significative entre les barres ayant la même lettre ($p > 0,05$)..... 79

Figure 36. Concentration des sucres d'hémolymphe (moyenne de \pm SE). À 7, 14 et 21 jours. AST : *A. m. sahariensis* (Témoin), ASS: *A. m. sahariensis* (Stressée), ATT : *A. m. intermissa* (Témoin), ATS : *A. m. intermissa* (Stressée). Il n'y a pas de différence significative entre les barres ayant la même lettre ($p > 0,05$)..... 80

Figure 37. Surface (moyenne \pm SE) des acini des glandes hypopharangiennes des deux sous-espèces d'abeilles à 7, 14 et 21 jours. AST : *A. m. sahariensis* (Témoin), ASS: *A. m. sahariensis* (Stressée), ATT : *A. m. intermissa* (Témoin), ATS : *A. m. intermissa* (Stressée). Les barres avec la même lettre ne sont pas significativement différentes ($p > 0,05$)..... 81

Figure 38. Taux de développement ovarien chez les deux sous-espèces d'abeilles (*Apis mellifera intermissa* et *Apis mellifera sahariensis*), stressé et témoin. L'astérisque (*) indique la signification du test du χ^2 à un seuil de signification de $p\text{-value} < 0,05$ 82

Figure 39. Survie cumulée en pourcentage des deux sous-espèces. AST : *A. m. sahariensis* (Témoin), ASS: *A. m. sahariensis* (Stressée), ATT : *A. m. intermissa* (Témoin), ATS : *A. m. intermissa* (Stressée)..... 83

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Liste des 10 acides aminés essentiels pour l'abeille avec les quantités minimales requises pour l'abeille (% de protéine).....	21
Tableau 2. Quantité moyenne de pollen, de sirop et d'eau consommée par abeille et par jour. Chez <i>A. m. sahariensis</i> et <i>A. m. intermissa</i> nourries ou privées de pollen.	42
Tableau 3. Estimation de Kaplan–Meier à (IC à 95%) de survie moyenne d' <i>A. m. sahariensis</i> et <i>A. m. intermissa</i> selon le régime alimentaire (avec ou sans pollen), Les lettres indiquent les résultats du test de Gehan-Wilcoxon, Les valeurs avec la même lettre ne sont pas significativement différentes ($p < 0,05$).	48
Tableau 4. Consommation moyenne de (pollen, sirop et eau) donnée pour (abeille/jour). Chez les ouvrières <i>A. m. sahariensis</i> et <i>A. m. intermissa</i> élevées à 34 °C, 40 °C, 39 °C et 40 °C.....	63
Tableau 5. Résultats matrice de corrélation de <i>Person</i> de consommation (eau, sirop et pollen) à un seuil de signification de 5%.	63
Tableau 6. Estimation de Kaplan–Meier à (IC à 95%) de survie moyenne des ouvrières d' <i>A. m. sahariensis</i> et <i>A. m. intermissa</i> élevées à 34 °C, 38 °C, 39 °C et 40 °C. Les lettres indiquent les résultats du test de Gehan-Wilcoxon, Les valeurs avec la même lettre ne sont pas significativement différentes ($p < 0,05$).	68
Tableau 7. Consommation moyenne de pollen, de sirop et d'eau par abeille/jour. Chez <i>A. m. sahariensis</i> et <i>A. m. intermissa</i> stressée et non stressée	77
Tableau 8. Estimation de Kaplan–Meier à (IC à 95%) de survie moyenne d' <i>A. m. sahariensis</i> et <i>A. m. intermissa</i> en absence de stress (témoin) et en présence de stress. Les lettres indiquent les résultats du test de Gehan-Wilcoxon, Les valeurs avec la même lettre ne sont pas significativement différentes ($p > 0,05$).	83

INTRODUCTION

GENERALE

INTRODUCTION GENERALE

L'abeille domestique, en tant qu'insecte pollinisateur essentiel pour de nombreuses plantes à fleurs, joue un rôle crucial dans la préservation de la diversité biologique en agriculture et assure l'approvisionnement en une variété d'aliments essentiels (Potts *et al.*, 2010). Contribuant ainsi à hauteur d'environ un tiers de la production alimentaire mondiale grâce à la pollinisation qu'elle effectue (Kremen *et al.*, 2007). Outre son impact positif en tant que pollinisateur, l'abeille domestique agit en tant que bioindicateur, révélant l'état d'empoisonnement de l'environnement par le biais de ses processus d'élaboration du miel. Les milliers de voyages de butinage effectués chaque jour par les abeilles permettent la détection pratique des résidus de pesticides et de métaux lourds, offrant ainsi un moyen efficace d'évaluer non seulement les risques de contamination du miel, mais aussi le degré de pollution environnementale (Skorbiłowicz, 2018; Davodpour, 2019). En plus de miel, l'abeille domestique produit également de la gelée royale, de la propolis et de la cire, qui sont utilisés dans diverses applications nutritionnelles et thérapeutiques.

Bien que les risques liés à la disparition des abeilles soient connus, on assiste à l'heure actuelle à un déclin important des colonies d'abeilles partout dans le monde (Oberreiter et Brodschneider, 2020; Medina-Flores *et al.*, 2023). En effet, les abeilles sont soumises à une multitude de stress d'origine anthropique et environnementale qui agissent séparément ou en synergie. Il est possible d'identifier trois principaux facteurs contribuant au déclin des populations d'abeilles : les maladies, la pénurie alimentaire et les produits phytosanitaires. Néanmoins, il convient de noter également qu'il y a d'autres facteurs qui influent de manière directe ou indirecte, tels que le réchauffement climatique, par exemple.

D'après les projections du Groupe d'experts intergouvernemental sur l'évolution du climat (GIEC), il est envisagé que la hausse de la température mondiale se situe entre 1,5 °C et 4,8 °C d'ici à la fin du XXI^{ème} siècle (GIEC, 2015). Cependant, les tendances climatiques récentes démontrent que ce réchauffement progresse à un rythme plus accéléré et atteint des niveaux plus significatifs que ceux qui étaient initialement anticipés en moyenne (Xu *et al.*, 2018a). Les dégâts liés au réchauffement climatique sont causés par des épisodes de chaleur extrême plutôt que par un réchauffement

climatique progressif (Butt *et al.*, 2015). En effet, les augmentations progressives de la température, telles que celles attendues dans les scénarios de réchauffement climatique, peuvent donner le temps aux organismes de s'acclimater (Mesihovic *et al.*, 2016). En revanche, les canicules peuvent déclencher un stress thermique direct et cela peut entraîner des dommages irréversibles à la croissance et au fonctionnement des organismes lorsque l'acclimatation aux nouvelles conditions est mauvaise (Li *et al.*, 2022; Kim *et al.*, 2022).

Il est fort probable que dans un proche avenir, les abeilles mellifères connaîtront des problèmes induits par le réchauffement climatique. Elles subiraient soit un stress thermique mettant à rude épreuve leur organisme soit un stress nutritionnel causé par une pénurie alimentaire. L'éventualité que ces deux facteurs de stress agissent concomitamment sur les colonies d'abeilles est très forte, car leur origine est la même : le réchauffement climatique.

L'abeille domestique *Apis mellifera L.*, comprenant plus de vingt-huit sous-espèces, occupe une large zone géographique couvrant l'Asie centrale, le nord de l'Europe et l'Afrique subsaharienne (Han *et al.*, 2012). Chacune de ces sous-espèces est parfaitement adaptée à son environnement.

L'Algérie qui est un pays continent dispose d'étages bioclimatiques très divers ce qui explique la présence de deux sous-espèces d'abeilles mellifères (Ruttner, 1988). Ce sont des sous-espèces géographiques qui évoluent dans des environnements très différents. L'abeille Tellienne occupe toute la partie Nord du pays où le climat est relativement clément et les ressources mellifères disponibles quasiment toute l'année, tandis que l'abeille Saharienne occupe la région Sud-ouest de l'Algérie, une région désertique caractérisée par des contrastes de températures et une pluviométrie très faible. Ces deux sous-espèces seront probablement confrontées aux stress induits par la hausse des températures, car selon le (GIEC) l'Afrique du Nord fait partie des régions du monde où l'impact du réchauffement climatique sera très important.

Dans ce travail, nous avons anticipé sur les principaux problèmes que rencontreront nos deux sous-espèces locales dans le cas du réchauffement climatique. Cela constitue donc une opportunité pour apporter un éclairage sur le comportement des abeilles mellifères soumises expérimentalement à un stress thermique et/ou nutritionnel.

L'intérêt de ce travail réside dans le fait de comparer la réaction (comportementale et physiologique) de deux sous-espèces d'abeilles qui évoluent dans deux environnements différents.

Pour cela, nous avons simulé en conditions de laboratoire trois situations que pourraient rencontrer nos deux sous-espèces d'abeilles pendant le réchauffement climatique :

- 1) Une pénurie des ressources mellifères, qui se traduit par une privation des abeilles en pollen qui est leur principale source de protéines, de vitamines et d'éléments minéraux
- 2) une canicule prolongée, qui est effectuée en soumettant les abeilles adultes ainsi que les nymphes à un gradient de températures
- 3) les deux situations à la fois en soumettant les abeilles adultes à une privation de pollen jumelée avec une hyperthermie.

Face à ces facteurs de stress, nous avons étudié les principales caractéristiques physiologiques, à savoir : la survie, la composition biochimique de l'hémolymphe (protéines, en sucres et en lipides), le développement des glandes hypopharyngiennes et le développement ovarien ainsi que le taux d'émergence des nymphes.

Cette thèse est structurée en trois sections distinctes. La première section est une revue de la littérature concernant les aspects généraux des abeilles et comprend deux chapitres relatifs aux expériences réalisées. La deuxième section présente en détail les trois expériences que nous avons réalisées, en exposant la méthodologie employée, les résultats obtenus, ainsi que leurs interprétations et discussions. Enfin, la troisième section regroupe les conclusions tirées de la recherche ainsi que les éventuelles perspectives et les possibles orientations pour les futures recherches.

SYNTHESE
BIBLIOGRAPHIQUE

I. Revue bibliographique sur l'abeille domestique (*Apis mellifera* L.)

1. Historique et origine de l'abeille domestique *Apis mellifera* L.

L'abeille est l'un des organismes les plus anciens sur la planète. Les découvertes archéologiques ont solidement établi sa présence bien avant l'avènement de l'espèce humaine. Le plus ancien fossile d'abeille jamais découvert se trouve emprisonné dans un morceau d'ambre, et sa datation remonte à une période située entre 40 et 100 millions d'années (Gilles, 2010). Selon des études portant sur des vestiges fossilisés, les Homo sapiens, qui sont les seuls représentants actuels du genre Homo, auraient émergé il y a environ 100 000 à 200 000 ans. En revanche, l'apparition des premières abeilles est datée de la période du Crétacé, soit il y a environ 66 à 145 millions d'années (Grimaldi, 1999).

L'évolution des abeilles est étroitement liée à l'émergence et à la progression des plantes à fleurs (angiospermes), existent depuis environ 130 millions d'années. Ces plantes génèrent du nectar et du pollen, qui sont des éléments essentiels pour l'alimentation des abeilles.

Actuellement, l'abeille est répandue dans le monde entier, cependant la problématique de son origine a été soulevée depuis longtemps. Trois hypothèses ont été proposées pour l'origine d'*A. Mellifera* (**Figure 1.**) :

1. Une origine en Afrique a été proposée par (Wilson, 1971)
2. Une expansion à partir du Moyen-Orient, impliquant la colonisation de l'Europe par deux voies, l'une orientale et l'autre occidentale, a d'abord été suggérée par (Ruttner *et al.* 1978) sur la base d'analyses morphométriques.
3. Une expansion à partir du Moyen-Orient, qui n'impliquait pas la route de colonisation occidentale vers l'Europe, a été suggérée sur la base d'arbres construits à partir d'ADNmt (Garnery *et al.*, 1992a).

En 2006, après avoir analysé plus de 1000 SNP, Whitfield *et al.*, (2006) ont apporté leur soutien à l'hypothèse formulée par Wilson en 1971. Ils ont également confirmé que la

dispersion d'*Apis mellifera* avait débuté en Afrique et s'était ensuite étendue vers l'Europe et l'Asie en deux ou trois vagues distinctes à partir de son point d'origine. Les populations auraient migré vers l'Europe de l'Ouest en traversant le détroit de Gibraltar, comme l'avaient suggéré Garnery *et al.*, en 1992, et elles se seraient également dirigées vers l'Asie en traversant les terres du Moyen-Orient (**Figure 1.**).

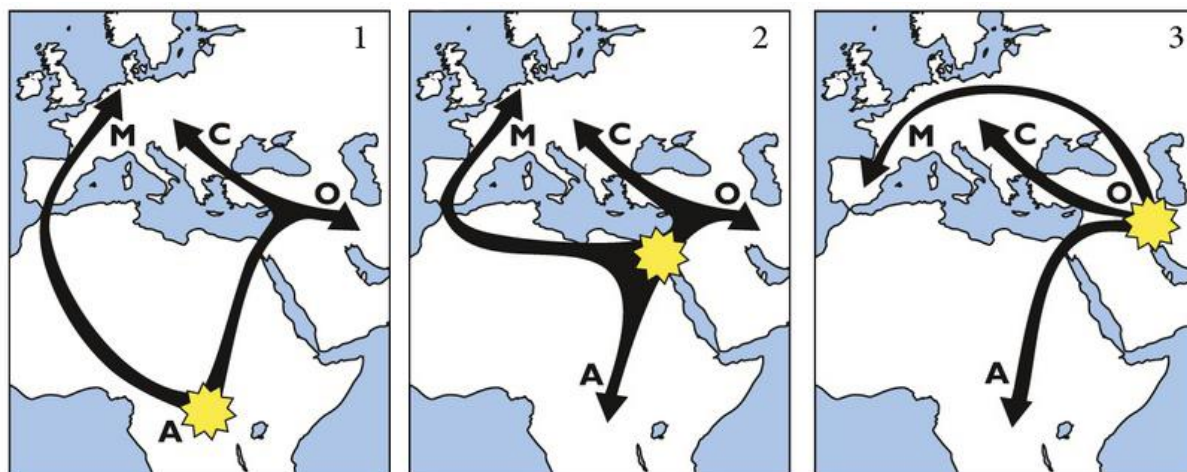


Figure 1. Trois hypothèses qui ont été proposées pour l'origine d'*A. mellifera*. (1) Une origine en Afrique a été proposée par Wilson (1971) et une expansion hors de l'Afrique via une route à la fois orientale et occidentale Whitfield *et al.*, (2006). (2) Une expansion à partir du Moyen-Orient, impliquant la colonisation de l'Europe par deux voies, l'une orientale et l'autre occidentale, Ruttner (1978). (3) Une expansion à partir du Moyen-Orient, qui n'impliquait pas la route de colonisation occidentale vers l'Europe (Garnery *et al.*, 1992b; Han *et al.*, 2012).

2. Phylogénie de l'abeille domestique

L'abeille fait partie de la classe des insectes et appartient à l'ordre des hyménoptères et genre *Apis*, ce genre regroupe aussi 10 espèces (Arias et Sheppard, 2005 ; Engel, 1999). Les analyses phylogénétiques basées sur l'ADN nucléaire et les marqueurs mitochondriaux (ADN mt) ont permis de répartir ces espèces sur trois groupes distincts : les abeilles nicheuses (*A. mellifera*, *A. cerana*, *A. koschevnikovi*, *A. nulensis*), abeilles géantes (*A. dorsata*, *A. laboriosa*, *A. binghami*, *A. nigrocincta*) et les abeilles naines (*A. florea*, *A. andreniformis*) (Arias et Sheppard, 2005 ; Raffiudin et Crozier, 2007).

L'espèce la plus répandue à travers le monde est *Apis mellifera*, ayant une distribution qui s'étend sur l'Europe, l'Afrique et le Moyen-Orient, tandis que les neuf autres espèces d'*Apis* se trouvent exclusivement en Asie. Actuellement, vingt-huit sous-espèces ou écotypes d'*Apis mellifera* sont recensés, et qui sont regroupés en quatre catégories, sur

des investigations morphométriques, génétiques, écologiques, physiologiques et comportementales (Ruttner, 1988; Engel 1999; Sheppard et Meixner, 2003). Le Groupe (A) pour les sous-espèces d'Afrique, le groupe (M) pour les sous-espèces d'Europe occidentale et septentrionale, le groupe (C) pour les sous-espèces d'Europe orientale et le groupe (O) comprend des espèces de Turquie et du Moyen-Orient (**Figure 2.**).

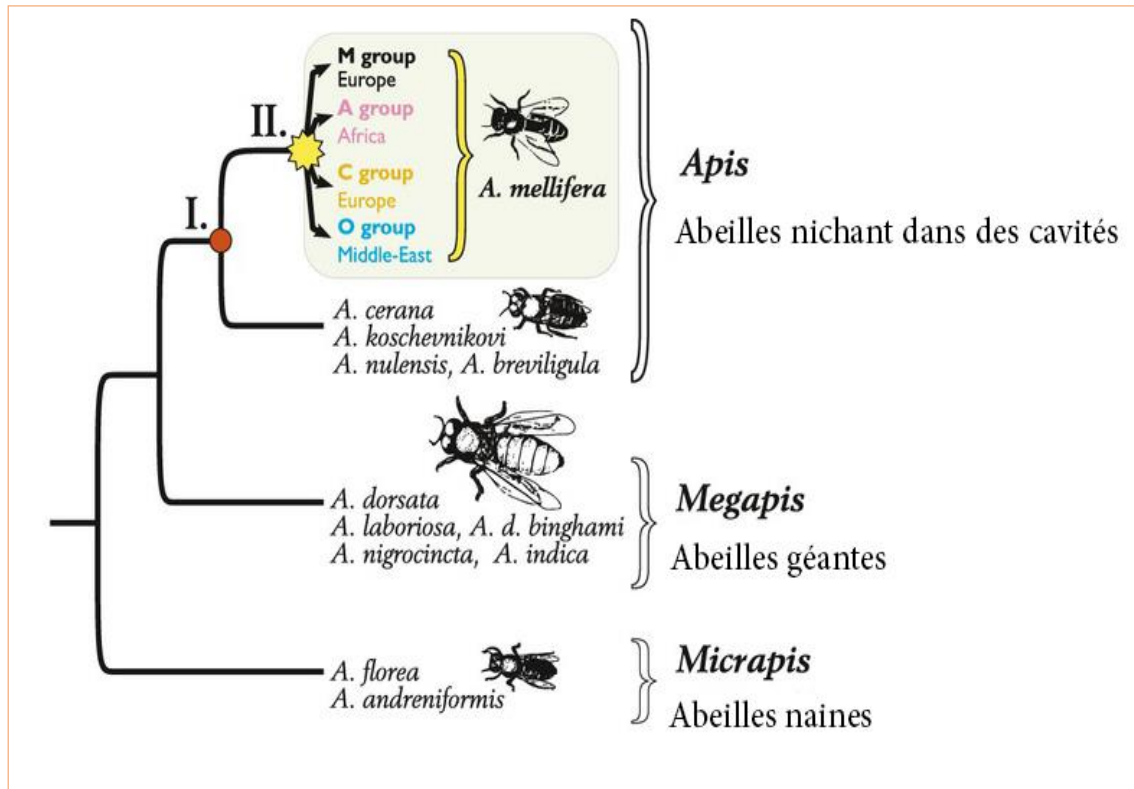


Figure 2. Phylogénie des 10 espèces de genre *Apis*, réparties en trois groupes (Han *et al.*, 2012).

2.1 La sous-espèce *Apis mellifera intermissa*

Cette sous-espèce correspond à l'abeille d'Afrique du Nord, étant répartie dans les zones telliennes de la Tunisie, de l'Algérie et du Maroc (Cornuet *et al.*, 1988; Grissa *et al.*, 1990), appelée communément « abeille tellienne » ou « abeille noire ». Elle est classée parmi les sous-espèces de la ligne A (Estoup *et al.*, 1995). C'est une sous-espèce d'abeilles mellifères de petite taille comparée à la sous-espèce saharienne. Son corps est de couleur noir foncé brillant (Shaibi *et al.*, 2009) (**Figure 3-b.**), elle est dominante dans les élevages apicoles, du fait qu'elle est une bonne productrice de miel, et récolteuse de pollen et de propolis (Adam, 1985; Ruttner, 1988). Cependant, elle présente l'inconvénient d'être agressive et essaimeuse (Gadbin *et al.*, 1979). Cette sous-espèce d'abeille a été explorée à travers de multiples études portant sur ses caractéristiques

morphométriques, comportementales, physiologiques et génétiques (Boecking et Ritter, 1993; Kefuss, 1995; Chahbar, 2013; Haddad *et al.*, 2015; Aglagane *et al.*, 2022;).

2.2 La sous-espèce *Apis mellifera sahariensis*

Cette sous-espèce a été décrite la première fois 1923 par Baldensperger, puis par HACCOUR en 1961. Ensuite, en 1968, Ruttner a considéré cette sous-espèce comme une forme de transition entre les sous-espèces *A. m. intermissa* et *A. m. adansonii*, mais dix ans plus tard, il l'a classée comme sous-espèce proprement dite. Comme son nom l'indique, cette abeille est associée au Sahara, elle est principalement confinée dans le sud du Maroc ainsi que dans l'ensemble de la région du Sud-ouest Algérien (**Figure 3-a.**), plus particulièrement dans les monts des Ksour jusqu'à Ain Sefra, Béchar, et Beni Ounif. Cette sous-espèce évolue dans des environnements climatiques extrêmes, où les températures varient de -8 °C à 50 °C (Ouali *et al.*, 2007; Chahbar, 2013). Ces colonies sont peu peuplées mais, elles peuvent survivre à l'état naturel hors des oasis dans des cavités rocheuses. *A. m. sahariensis* est de couleur jaune d'or, elle est plus grande qu'*A. m. intermissa*. Contrairement à l'abeille tellienne, l'abeille saharienne est douce et peu essaimeuse. Elle est préférée en apiculture dans les zones sahariennes parce qu'elle est douce, facile à manipuler, adaptée aux températures extrêmes et présentant une bonne capacité à gérer ses réserves alimentaires durant l'hivernage (Kabli et Mohammedi, 2018).

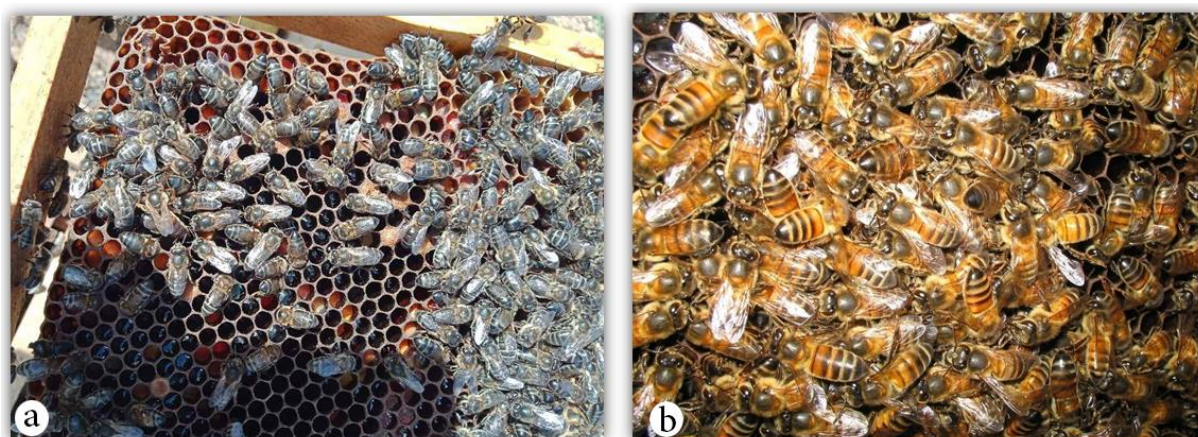


Figure 3. *Apis mellifera intermissa*, **b** : *Apis mellifera sahariensis* (photos originales)

3. Biologie de l'abeille domestique

3.1 Cycle de vie

Les abeilles suivent le modèle holométabole de développement, impliquant une métamorphose complète (Biri, 2010). Leur cycle de vie comprend trois phases distinctes : stade œuf, stade larvaire et stade nymphal (Jean-Prost *et al.*, 2005; Von Frisch, 2011), ces phases du développement diffèrent d'une caste à l'autre, ce phénomène se reflète dans les durées respectives des cycles de développement. La reine présente le cycle le plus court, s'étendant en moyenne sur seulement 16 jours. En contraste, les mâles, également connus sous le nom de faux bourdons, subissent un cycle considérablement plus étendu, couvrant approximativement 24 jours. Entre ces deux extrêmes, les ouvrières se situent avec un cycle intermédiaire, s'étendant autour 21 jours. Cette variation de durée entre les différentes castes reflète la complexité inhérente au processus de développement des abeilles, ainsi que la diversité de leurs fonctions au sein de la colonie (Jean-Prost *et al.*, 2005). La durée du développement est aussi variable selon les sous-espèces, les facteurs environnementaux (température et humidité), la nutrition des larves (Winston, 1987) et aussi les facteurs génétiques (**Figure 4**).

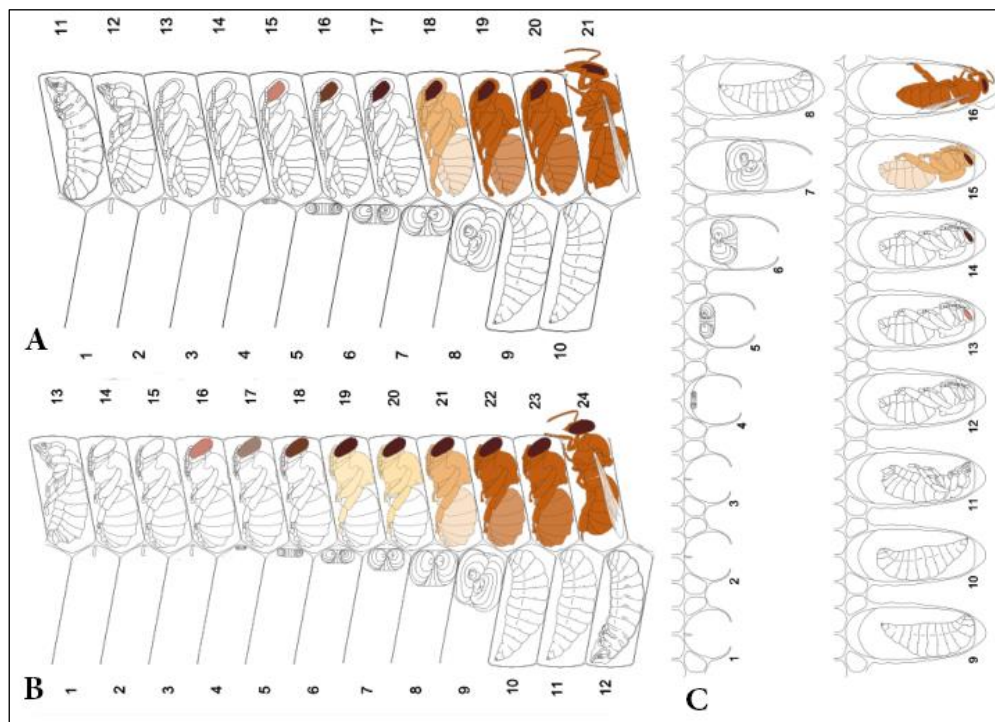


Figure 4. Phases de développement du couvain pour les trois castes d'abeille A : Couvain d'ouvrière ; B : Couvain de faux-bourdon ; C : Couvain de reine (Tofilski, 2012).

3.2 Structure et organisation de la colonie

Au sein de la colonie d'abeilles domestiques (*Apis mellifera L.*), la structure sociale est fondée sur une organisation en castes précisément déterminées. On distingue deux types d'individus : les individus sexués, regroupant les mâles et les reines qui assurent la reproduction, ainsi que les ouvrières, qui sont toutes des femelles stériles. Cette segmentation en castes joue un rôle central la division des tâches et des rôles au sein de la ruche.

3.2.1 Polyéthisme de castes

a) La reine

La reine est la plus grande des abeilles, elle est totalement investie dans la reproduction comme en témoigne son hypertrophie abdominale. Elle est diploïde, issue d'un œuf fécondé (Biri, 2010). C'est la mère de toute la colonie. Elle se distingue par sa taille considérable, son abdomen notablement développé et par sa longévité qui s'étend généralement de 3 à 5 ans (Page Jr et Peng, 2001). Pendant sa phase de larve, elle se nourrit exclusivement de grandes quantités de gelée royale pendant environ 4 à 6 jours, ce qui lui permet d'atteindre un poids oscillant entre 178 et 292 mg à l'âge adulte (Wendling, 2012). Elle émerge 16 jours après la mise en œuf, présentant une longueur moyenne de 16 mm et un diamètre de thorax atteignant 4,5 mm (Biri, 2010). Sept jours après son émergence, elle effectue son premier vol d'accouplement (ou vol nuptial) où elle s'accouple généralement une seule fois avec 6 à 30 mâles, ce qui lui permet d'accumuler une réserve considérable de spermatozoïdes dans sa spermathèque. La reine a la capacité de pondre jusqu'à 2000 œufs fécondés quotidiennement ; ils proviennent de différents pères, contribuant ainsi à accroître la diversité génétique au sein de la colonie (Oldroyd *et al.* 1995; Le Conte, 2004). Elle est dotée d'un dard lisse ainsi que d'une poche à venin, ce qui lui permet de piquer à plusieurs reprises pour éliminer les concurrentes. Ses principales fonctions résident dans la ponte des œufs et la régulation des activités de la colonie, Elle assure cette régulation grâce à la sécrétion des phéromones principalement par le biais de ses glandes mandibulaires, Ces phéromones stimulent la production de cire, l'inhibition de la construction d'alvéoles royales, et en entravant le développement ovarien des ouvrières (Le Conte, 2004).

b) Les mâles (Faux-bourdons)

Les mâles sont des individus haploïdes issus du développement d'un ovule non fécondé désigné sous le terme de parthénogenèse (Rabeling et Kronauer, 2013). Ils se distinguent par un abdomen imposant, ainsi que par l'absence de dard et d'organe spécialisé pour la collecte du nectar et du pollen. Ils sont environ plusieurs centaines par colonie (Hrassnigg et Crailsheim, 2005). Ils mesurent chacun approximativement 15 mm de longueur et pèsent environ 230 mg. Comparativement aux ouvrières, ils se distinguent par leur carrure plus robuste et leur pelage plus dense. Leurs yeux, plus imposants, se trouvent positionnés au sommet de leur tête. Les mâles naissent généralement au printemps, émergeant 24 jours après la mise en œuf. La tâche principale des faux-bourdons réside dans la fécondation de la reine. Cependant, ils peuvent aussi contribuer à la ventilation en cas d'hyperthermie de la colonie (Belzunces *et al.*, 1996). Leur longévité n'excède pas 60 jours, et elle est souvent plus courte en cas d'accouplement, ce dernier pouvant s'avérer fatal pour eux (Page Jr et Peng, 2001), car lors de l'accouplement, leur appareil génital est arraché. À l'approche de l'automne, lorsque la disponibilité de la nourriture diminue, les faux-bourdons sont soit éliminés, soit expulsés de la ruche.

c) Les ouvrières

Les ouvrières représentent la caste la plus peuplée : elles assurent le nettoyage, l'élevage de couvain, la construction d'alvéoles, la défense et le butinage (collecte de nectar et de pollen). Elles sont stériles, c'est-à-dire qu'elles ne peuvent pas pondre d'œufs. Elles prennent 21 jours pour émerger. Leur survie varie selon la saison. En été, elle s'étend de 30 à 40 jours, tandis qu'en hiver, elles peuvent vivre pendant plusieurs mois (Hrassnigg et Crailsheim, 2005).

3.2.2 Polyéthisme d'âge chez l'abeille domestique

Chez les insectes sociaux, la répartition des tâches au sein de la colonie ou du nid repose sur une variation morphologique des individus, connue sous le terme de polymorphisme. Généralement, les individus de grande taille sont les soldats et les autres de petite taille sont les ouvrières. Ce modèle est très répandu chez les termites et les fourmis (Oster et Wilson, 1978; Noirot, 1989). Cependant, au sein d'une colonie

d'abeilles, les ouvrières se ressemblent morphologiquement et ne présentent pas de distinctions mesurables, bien qu'elles exécutent diverses tâches tout au long de leur existence (Winston *et al.*, 1991). Une seule colonie comprend environ 30.000 à 50.000 individus, composés majoritairement d'ouvrières. Le nombre d'individus varie selon les saisons, les facteurs génétiques liés à la sous-espèce d'abeille et l'âge de la reine.

D'après Seeley (1982), le polyéthisme d'âge est considéré comme une configuration de répartition des tâches entre les ouvrières basée sur leur âge. Ainsi, la transition d'une activité à une autre engendre des modifications physiologiques et comportementales (Robinson, 1987; Ament *et al.*, 2010). On distingue, les nettoyeuses, les nourrices, les architectes, les ventileuses, les gardiennes et les butineuses. L'exécution des tâches au sein de la colonie est effectuée simultanément, permettant ainsi de répondre rapidement aux besoins communs. Les ouvrières travaillent en étroite coordination, chacune complétant les tâches des autres en même temps. Cette synchronisation assure une efficacité plus supérieure à ce qu'obtiendraient des individus non spécialisés effectuant ces tâches de manière désynchronisée. Cette forme de division de travail chez les ouvrières d'abeilles constitue un exemple fascinant de leur organisation sociale, contribuant ainsi à l'adaptabilité de la colonie (Basile, 2009).

3.3 Morphologie et physiologie de l'abeille mellifère

En termes de morphologie ; le corps de l'abeille est divisé en trois parties principales : la tête, le thorax et l'abdomen. La tête, de forme triangulaire, comporte des yeux composés offrant une vision panoramique, des ocelles pour la perception de la lumière, des antennes pour l'orientation et la communication, ainsi qu'un appareil buccal avec des mandibules et une trompe rétractile pour l'absorption de nectar, de miel et d'eau. Le thorax, constitué de trois segments soudés, abrite deux paires d'ailes permettant aux abeilles de voler à haute altitude et à grande vitesse, ainsi que trois paires de pattes dotées de ventouses et de crochets pour l'adhérence et la collecte de pollen en pelotes visibles à l'œil nu (Winston, 1991). L'abdomen, composé de sept anneaux flexibles, renferme le système digestif, le jabot, le système circulatoire et respiratoire. En fonction de son rôle (ouvrière, reine ou mâle), l'abdomen peut également contenir des glandes cirières, glande nasanov, des glandes à venin et un aiguillon pour les ouvrières, ainsi

qu'un appareil sexuel développé pour les reines et les faux-bourdons (Winston, 1987) (Figure 5.).

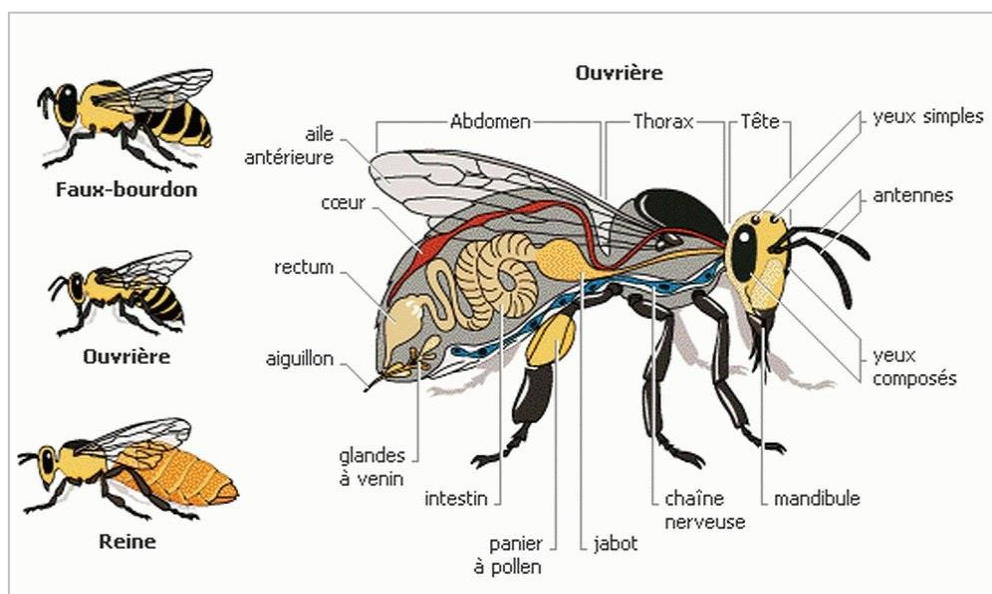


Figure 5. Morphologie de l'abeille (Hennebelle, 2010)

En ce qui concerne la physiologie de l'abeille, celle-ci est étroitement liée avec son anatomie interne. Elle implique les nombreux systèmes biologiques de l'abeille. Parmi ces systèmes, on peut citer le système glandulaire, les systèmes circulatoires, respiratoires et nerveux, le système digestif et excréteur, ainsi que le système reproducteur. Chacun de ces systèmes a son propre rôle et sa contribution spécifique à la vie de l'abeille. Toutefois, dans le contexte de cette thèse, nous nous concentrons sur des paramètres spécifiques qui sont d'une grande importance pour notre recherche expérimentale. Plus précisément, notre analyse se portera sur l'hémolymphe, les glandes hypopharyngiennes et les ovaires des ouvrières. Ces paramètres ont été choisis en raison de leur pertinence inhérente dans le fonctionnement de la colonie d'abeilles et de leur étroite relation avec les activités des individus au sein de cette communauté. Pour cela, nous ne nous détaillons pas l'anatomie interne complète de l'abeille, car celle-ci est vaste et complexe. Au lieu de cela, nous nous concentrerons uniquement sur les paramètres en question.

3.3.1 Le rôle central de l'hémolymphe dans la physiologie des abeilles

Comme les autres insectes arthropodes, l'abeille domestique possède un système circulatoire ouvert contenant de l'hémolymphe qui entoure ses tissus (Chan *et al.*,

2006). Semblable au sang des vertébrés (Muta et Iwanaga, 1996). L'hémolymphe est de couleur transparente ou légèrement jaunâtre et représente environ 25 à 30% du poids corporel des abeilles mellifères au moment de leur éclosion, diminuant à mesure que leur âge augmente (Leonhard et Crailsheim 1999; Blatt, 2001).

L'hémolymphe, assure un rôle multifonctionnel dans les nombreux processus physiologiques de l'abeille (Douglas et Siva-Jothy, 2013). En tant que fluide circulatoire, elle agit comme un réservoir d'eau et des éléments vitaux tels que les glucides, les protéines, les acides aminés et permet ainsi les échanges intercellulaires, notamment les échanges biochimiques, le transport d'hormones, et l'élimination de déchets métaboliques (Levy *et al.*, 2004; Ritter 2014; Radcliffe, 2021).

La composition de l'hémolymphe varie en termes de ses différents composants, notamment des protéines, des lipides, des acides aminés et des sucres, avec des concentrations variables de ces molécules. En particulier, les acides aminés sont présents à une concentration élevée (Kanost, 2009), atteignant jusqu'à 200 mmol/L, et contribuent à l'osmolarité de l'hémolymphe. En outre, on y trouve des protéines plasmatiques ainsi que des protéines de transport du fer en circulation, constituant environ 1 à 5% de l'hémolymphe. Les concentrations de sodium et de chlore sont généralement faibles, tandis que celles de potassium et de magnésium sont élevées (Kanost, 2009). L'hémolymphe contient diverses cellules, notamment celles impliquées dans les réponses immunitaires, divers types d'hémocytes ont été identifiés jusqu'à présent chez l'abeille domestique, notamment les plasmocytes, granulocytes, oenocytoïdes et coagulocytes (Richardson *et al.*, 2018; Gábor *et al.*, 2020).

L'hémolymphe n'est pas statique ; elle subit des modifications en fonction du stade de développement, du sexe, de la saison et de la présence de facteurs de stress (Lee et Park, 2004). Ces modifications se traduisent par des variations dans le spectre protéique ainsi que dans l'activité enzymatique de ce fluide. En conséquence, l'hémolymphe reflète l'état physiologique du corps, ce qui en fait un indicateur adapté pour surveiller les abeilles.

3.3.2 Les glandes hypopharyngiennes

Les glandes hypopharyngiennes sont des structures glandulaires spéciales responsables de la production de la gelée royale, une substance blanchâtre, épaisse et riche en

nutriments (Serra Bonvehi, 1991), qui constituent la principale source de nourriture des larves d'abeilles pendant leurs premiers jours de vie et de la reine tout au long de sa vie. Les glandes hypopharyngiennes ont une forme de grappe de raisin située dans la tête des ouvrières, en avant du cerveau et entre leurs yeux (Hrassnigg et Crailsheim, 1998)

La structure des glandes hypopharyngiennes comprend un long canal fuselé principal sur lequel s'ouvrent environ 800 alvéoles en forme de lobe, connues sous le nom d'acini ou acinus (Richter *et al.*, 2016). Chaque acinus se compose d'environ 8 à 12 cellules sécrétrices, lesquelles commencent à se développer dès le troisième jour de vie des ouvrières. Ces acinis délivrent leurs sécrétions dans un conduit collecteur qui s'étend jusqu'aux pièces buccales (Halberstadt, 1970; Cruz-Landim et Costa, 1998; Kheyri *et al.*, 2012) (**Figure 6.**)

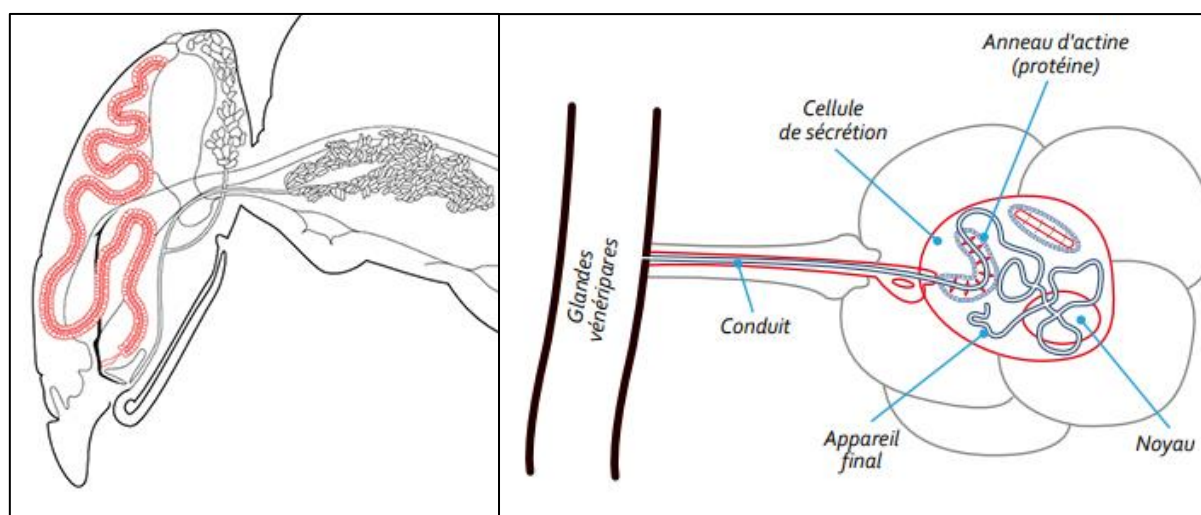


Figure 6. Schéma de la structure des glandes hypopharyngiennes (Fayet, 2017).

Le développement glandes hypopharyngiennes varie considérablement en fonction de l'âge de l'abeille (Deseyn et Billen, 2005). Initialement inactives chez les ouvrières nouvellement émergées, ces glandes commencent à se développer à partir du troisième jour de leur vie. À l'âge de six jours, elles commencent à produire une sécrétion, et à neuf jours, elles sécrètent les enzymes essentielles à la production de la gelée royale, une substance cruciale pour la colonie et la reine (**Figure 9.**). Les glandes hypopharyngiennes sont responsables de la production et de la sécrétion de la partie protéinique de la gelée royale, résultant de la digestion partielle du pollen et du miel. En outre, elles produisent diverses enzymes, notamment la glucosidase, l'alpha-glucosidase,

la galactosidase, l'estérase, la lipase et la leucine arylamidase, qui sont essentielles pour la transformation du nectar en miel (Božič et Woodring, 1997; Ohashi *et al.* 1999).

Les phéromones émises par le couvain stimulent leur développement (Brouwers, 1982), tandis qu'un régime riche en pollen de qualité est nécessaire. Cependant, en cas de déficit d'activité au sein de la colonie, les abeilles deviennent butineuses, ce qui entraîne la régression des glandes hypopharyngiennes chez les individus concernés. Les acinis diminuent en volume, et des changements dégénératifs se produisent dans le réticulum endoplasmique granulaire. Pendant cette phase, les lysosomes sont nombreux, ce qui entraîne l'arrêt de la sécrétion, la désintégration et la mort des organites de la cellule glandulaire. Il est à noter que les abeilles d'hiver semblent stocker les produits de sécrétion, les utilisant lorsque l'activité du couvain reprend au printemps.

3.3.3 Développement ovarien chez les ouvrières

Les ouvrières ont la capacité de pondre des œufs, mais ceux-ci seraient exclusivement des œufs mâles (Winston, 1987). L'appareil reproducteur de l'ouvrière se caractérise par la présence de deux ovaires atrophiés juxtaposés, prolongés par deux oviductes latéraux de morphologie filamenteuse et teinte blanchâtre qui débouchent dans le vagin, et d'une spermathèque rudimentaire et non fonctionnelle (Medori et Colin, 1982). Le nombre d'ovarioles est limité, allant de 1 à 20 (Von Rhein, 1933; Wegener *et al.*, 2009). En revanche, les reines possèdent un nombre beaucoup plus élevé d'ovarioles, atteignant de 100 à 220 (Snodgrass, 1956; Dade, 1962; Jackson *et al.*, 2011) (**Figure 7.**)

La reproduction des ouvrières est étroitement régulée par les phéromones royales (Hoover *et al.*, 2003) et les phéromones émises par le couvain en développement (Mohammedi *et al.*, 1996; Winston et Slessor, 1998). Ces phéromones agissent pour inhiber le développement des ovaires des ouvrières, maintenant ainsi leur capacité de reproduction sous contrôle. Tant que la reine est présente et le couvain se développe normalement, les ovaires des ouvrières demeurent atrophiés et inactifs. Cependant, si la reine venait à disparaître, cela entraînerait une baisse des phéromones royales et du couvain, levant ainsi l'inhibition ovarienne. Dans de telles circonstances, certaines ouvrières pourraient alors développer leurs ovaires et commencer à pondre des œufs.

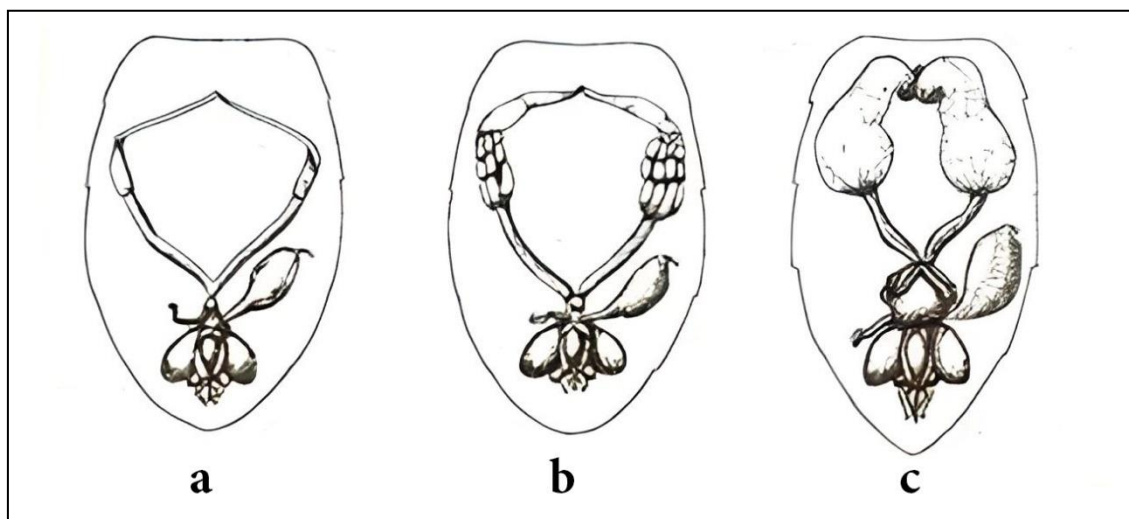


Figure 7. Schéma de l'appareil reproducteur de l'ouvrière (a), de l'ouvrière pondreuse (b) et de la reine vierge (c). (Dade, 1994).

II. Nutrition de l'abeille domestique (*Apis mellifera* L.)

Comme la plupart des êtres vivants, les abeilles ont besoin de ressources nutritionnelles pour qu'elles puissent se développer correctement. Les plantes mellifères fournissent le nectar et le pollen aux abeilles, qui couvrent la totalité de leurs besoins. La disponibilité des ressources mellifères dans l'environnement en quantité et qualité conditionne la croissance des colonies (Donkersley *et al.*, 2014). La nutrition des abeilles comporte trois niveaux : Le premier concerne les larves, qui reçoivent leur alimentation des nourrices. Le deuxième englobe les individus adultes et le troisième s'applique à l'ensemble de la colonie (Brodschneider et Crailsheim, 2010) (**Figure 8**).

Le sujet de la nutrition des abeilles a fait l'objet d'une exploration approfondie à travers de nombreuses études, couvrant divers contextes. Ces travaux de recherche ont largement contribué à l'identification des besoins nutritionnels des abeilles, ainsi qu'à la formulation de suppléments alimentaires. Ce chapitre résume la nutrition des abeilles mellifères, mettant en évidence les effets des carences nutritionnelles et les réponses comportementales et physiologiques induites chez ces insectes.

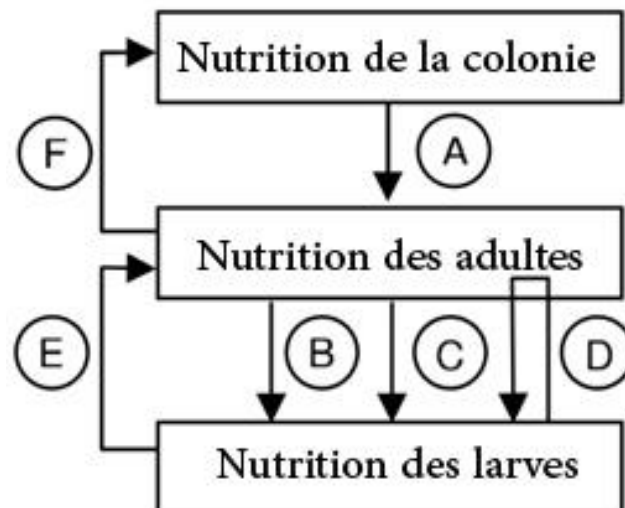


Figure 8. Les trois niveaux de la nutrition de la colonie d'abeilles. **A** : dépendance des adultes envers le stock de la colonie. **B** : Qualité des soins aux larves. **C** : Régulation du nombre de larves. **D** : Cannibalisme. **E** Impact de la nutrition des larves sur la génération d'adultes à venir. **F** : Impact des adultes sur la nutrition de la colonie (Brodschneider et Crailsheim, 2010).

1. L'alimentation de l'abeille domestique

1.1 Le pollen

Le pollen représente le gamète mâle des plantes à fleurs, qui assure la reproduction des angiospermes (Erler et Moritz, 2016). Il se présente sous la forme de minuscules grains, logés dans les anthères situées à l'extrémité des étamines (Hafidh *et al.*, 2016). Selon la nature de l'espèce d'où il provient, il peut avoir plusieurs aspects et couleurs. Chaque espèce de plante à fleurs a des grains de pollen avec des caractères constants (taille, forme, structure, composition chimique) (Wodehouse, 1926; Speranza *et al.*, 1997). Certains pollens sont disséminés par le vent et d'autres dépendent des pollinisateurs, qui les récoltent en butinant et les transférant d'une plante à une autre.

La communauté des pollinisateurs regroupe plusieurs espèces, l'abeille domestique et sauvage, les bourdons, les papillons, les mouches et autres insectes, oiseaux (colibris) et même des mammifères (chauve-souris nectarivores). Cependant, l'abeille domestique est la plus dominante et la plus connue. La collecte du pollen est assurée par les ouvrières plus âgées, qui le récoltent et le transportent sous forme de pelotes jusqu'à la ruche.

Passant d'une fleur à une autre, la butineuse transporte les grains de pollen, qui se collent sur les poils de son corps, et une fois qu'elle en a récolté suffisamment, elle se brosse les poils pour ramener les grains de pollen à ses pattes arrière. Ensuite, elle rajoute une petite quantité de miel provenant de son jabot ou de nectar récolté auprès des fleurs qu'elle visite, en plus des sécrétions issues de ses glandes salivaires, pour former une patte cohésive et inhiber la germination du pollen (Campos *et al.*, 2010). Elle confectionne de minuscules boulettes appelées pelotes, qui les attache dans la corbeille de ses troisièmes paires de pattes (**Figure 9.**)



Figure 9. A : Tellienne butinant le Pollen d'*Asphodelus* L. B : Pelotes de pollen sur 3^{ème} patte
(Photos originales)

Une fois la récolte suffisante, la butineuse retourne à la ruche et place sa récolte dans les alvéoles consacrées au stockage de pollen (Free, 1963). Une partie de la récolte est utilisée directement par la colonie et l'autre partie est tassée à l'intérieur des alvéoles. Les cellules remplies seront ensuite recouvertes d'une fine couche de miel protecteur ; ensuite, ce pollen subira une fermentation lactique qui donnera naissance au « pain d'abeilles », destiné à être consommé ultérieurement par la colonie (Winston, 1987). Durant le butinage, l'abeille collecte le pollen de plusieurs espèces végétales, ce qui est l'origine des strates de couleurs variées qu'on observe dans les alvéoles (Seeley, 1985) (**Figure 10.**)



Figure 10. Cadre de pollen (Photo originale)

1.2 Composition du pollen

La végétation renferme plus d'un millier d'espèces mellifères, qui présentent une grande variabilité. On compte des espèces fruitières, ornementales, potagères et même certaines espèces réputées moins mellifères. La saison de floraison de ces plantes est différente et dépend essentiellement de l'espèce elle-même et des conditions climatiques, s'étendant du début de printemps jusqu'à la fin d'été, par exemple l'abricotier (Février-Mars), Pommier et Poirier (Mars-Mai), les agrumes (Mai -Juillet), framboisier et murier (Juin- Septembre). Il y a même des espèces qui fleurissent en hiver, c'est le cas de l'eucalyptus et de l'amandier (Fournier, 1991). Par conséquent, les abeilles ont l'occasion de récolter le pollen de différentes espèces sur une longue période. Ce pollen est donc un ensemble riche et complet de substances (protéines, glucides, lipides, vitamines, flore bactérienne, levures, oligo-éléments) qui assurent le bon développement de la colonie.

1.2.1 Les protéines

L'apport protéique est indispensable pour tous les êtres vivants. Pour les abeilles, le pollen constitue leur unique source de protéines (Crailsheim, 1990), la teneur en protéines est estimée en moyenne de 35%, dont environ 50% d'acides aminés libres (Erler et Moritz, 2016). La quantité de protéines dans le pollen présente une grande variation, s'étendant de 5% à 40% (Thibault, 2017). Cette différence est due à l'origine botanique du pollen ainsi qu'à sa digestibilité (Roulston et Cane, 2000; Aylanc *et al.*, 2023). En revanche, la teneur élevée en protéines ne correspond pas nécessairement à une bonne valeur nutritive, mais plutôt à sa concentration en acides aminés essentiels (Cook *et al.*, 2003; Nicolson *et al.*, 2018). Approximativement la moitié des acides aminés nécessaires à l'abeille sont synthétisés par son propre organisme, tandis que l'autre moitié est fournie par son régime alimentaire, en particulier par le pollen. En 1953, De Groot a identifié les acides aminés essentiels et il a déterminé les proportions requises par les abeilles dans leur alimentation (**Tableau 1.**).

Les protéines représentent plus de 60% du poids sec des abeilles (Hrassnigg et Crailsheim, 2005), c'est pourquoi la teneur en protéines est le premier facteur à prendre en compte pour évaluer la qualité nutritionnelle du pollen. Plusieurs travaux ont

confirmé que les pollens avec une bonne valeur nutritionnelle, notamment les protéines, assurent la survie et le développement des abeilles (Schmidt *et al.*, 1987; Di Pasquale *et al.*, 2013), surtout avec les problèmes actuels qui causent de plus en plus la mortalité des abeilles, voire l'effondrement complet de la colonie.

Le besoin en protéines des abeilles est variable, il est lié à l'âge, l'état sanitaire et physiologique. Les jeunes ouvrières ont plus besoin de protéines que celles âgées. En effet, l'une des tâches principales accomplies par les ouvrières durant leurs premiers jours après l'émergence est le nourrissage du couvain (Knecht et Kaatz, 1990), ce qui nécessite un apport adéquat en protéines pour pouvoir développer d'abord ses glandes hypopharyngiennes, ainsi que pour la synthèse la gelée royale. Les glandes hypopharyngiennes sont plus développées chez les abeilles nourries avec les pollens riches en protéines (DeGrandi-Hoffman *et al.*, 2021). Quant aux autres fonctions physiologiques, les protéines ne sont pas moins importantes, elles sont impliquées dans les processus de défense immunitaire (Di Pasquale *et al.*, 2013), améliorent la reproduction, favorisant le développement ovarien et augmentent la fertilité des faux boudons (Pernal et Currie, 2000; Hoover *et al.*, 2006) et augmentent l'efficacité des enzymes digestives (Ricigliano *et al.*, 2017).

Tableau 1. Liste des 10 acides aminés essentiels pour l'abeille avec les quantités minimales requises pour l'abeille (% de protéine) (De Groote, 1953).

Acides aminés essentiels	Quantité requise pour l'abeille (% de protéine)
Arginine	3.0
Histidine	3.0
Lysine	3.0
Tryptophane	1.0
Phénylalanine	2.5
Méthionine	1.5
Thréonine	3.0
Leucine	4.5
Isoleucine	4.0
Valine	4.0

1.2.2 Les glucides

Le pollen contient des glucides, mais sa quantité et ainsi que son apport énergétique sont inestimables par rapport aux glucides apportés par le nectar. Généralement, les glucides de pollen proviennent des sécrétions salivaires ou du nectar, qui sont rajoutés par les butineuses lors de la formation des pelotes de pollen. Il s'agit des sucres simples, notamment le fructose, le glucose et le sucrose (Winston, 1987). Il est à noter également que le pollen de certaines espèces peut contenir des sucres toxiques, tels que l'arabinose, le galactose, le lactose, le mannose, le melobiose, le raffinose, le stachyose et le xylose. Pour les détoxifier, les abeilles rajoutent du nectar lors de la récolte pour les diluer ou de l'eau pour les hydrolyser (Barker, 1977).

1.2.3 Les lipides

Le pollen contient des lipides avec une quantité faible de 0,8% à 18,9% (Roulston et Cane, 2000). Généralement, ce sont des phytostérols et des acides gras, qui sont accumulés dans les cellules végétales, constituant le manteau pollinique. Les plus répandus sont l'acide α -linoléique 3 et 6, l'acide palmitique (AGS) et l'acide linoléique (ω 6). Les lipides ont un rôle important dans la formation des réserves énergétiques corporelles (Bryś *et al.*, 2021), qui permettent aux abeilles de survivre durant l'hivernage et lutter contre les infections microbiennes (Human et Nicolson, 2006). Les stérols représentent l'ingrédient majeur dans la synthèse des hormones responsables du développement larvaire et de la mue (Svoboda *et al.*, 1980; Vaudo *et al.*, 2015).

1.2.4 Les micronutriments

Les micronutriments regroupent les vitamines, les sels minéraux et les oligo-éléments. A l'inverse des protéines et sucres, les micronutriments sont admis en petite quantité (Haydak, 1970). Ils jouent un rôle dans diverses voies hormonales et métaboliques, et sont impliqués dans de multiples réactions enzymatiques. Les abeilles sont capables de synthétiser la vitamine C (Brodschneider et Crailsheim, 2010). Les autres vitamines liposolubles A, D, E et K sont apportées par le pollen. Bien que ces éléments ne soient pas nécessaires, leur apport dans les suppléments alimentaires peut soutenir mieux la production de couvain (Herbert Jr et Shimanuki, 1978).

1.3 Miel et nectar

Pour bien maintenir sa survie ainsi que d'autres activités vitales, les abeilles ont des besoins énergétiques en évolution rapide (Mayack *et al.*, 2019), qui dépendent essentiellement du miel et du nectar (Brodschneider et Crailsheim, 2010). Le miel est bien connu en tant que produit d'origine animale. Cependant, il est originaire des plantes nectarifères, et ce sont les abeilles qui effectuent la conversion du nectar en miel (Sanz *et al.*, 2005). En butinant les fleurs, les butineuses sucent le nectar grâce à leurs pièces buccales qui sont bien adaptées (**Figure 11.**)

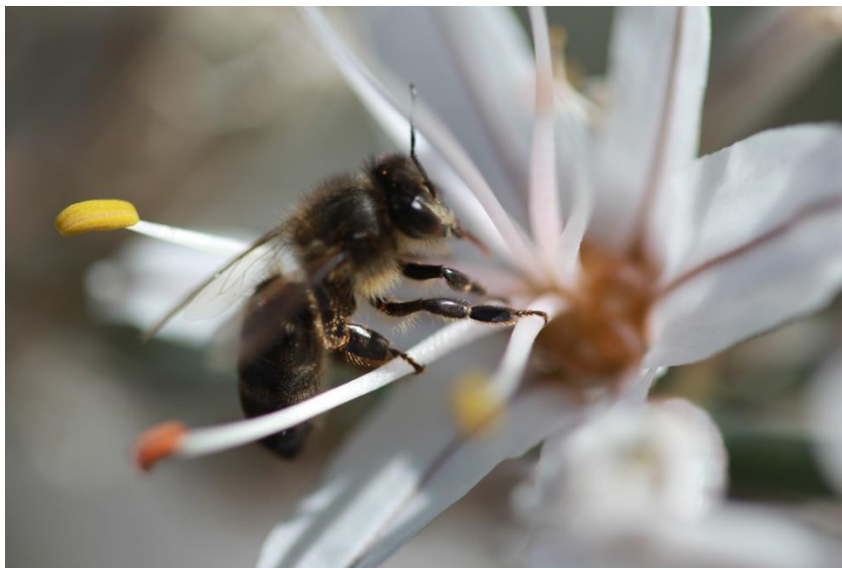


Figure 11. Tellienne butinant le nectar d'*Asphodelus* L. (Photo originale)

Le nectar est ensuite accumulé dans le jabot et c'est à ce niveau-là que l'action des enzymes commence, notamment l'enzyme « invertase » qui décompose les sucres contenant dans le nectar en glucose et fructose (Pate *et al.*, 1985). Au retour de la ruche, les butineuses transfèrent le nectar aux autres ouvrières par trophallaxie. A leur tour, ces ouvrières continuent le travail. D'abord, elles déposent ce nectar dans les alvéoles en lui rajoutant d'autres enzymes digestives, ensuite par ventilation, elles réduisent la fraction d'eau jusqu'à 20% (Brodschneider et Crailsheim, 2010), cela entraîne une élévation de la teneur en sucre à 80%, composée de 38% de fructose, 31% de glucose, 1-2% de saccharose, 7% de maltose et 1,5% d'autres sucres complexes. Généralement, les abeilles utilisent le nectar durant la période printanière et gardent les réserves du miel pour une consommation ultérieure durant la période d'hivernage, c'est pour cette raison qu'il est essentiel de prendre soin de ne pas épuiser les réserves des abeilles pendant la

collecte du miel. La récolte du nectar n'est pas aléatoire. Les abeilles sont dotées d'une grande capacité pour identifier les fleurs qui fournissent le meilleur nectar (Von Frisch, 2011; Hendriksma *et al.*, 2014). Selon l'espèce, la teneur en glucides du nectar peut varier de 4% à 60%. Les abeilles préfèrent les nectars dont la concentration est de 30 à 50% (Waller, 1972).

1.4 L'eau

L'eau constitue un élément essentiel pour la survie de tous les organismes vivants. (Nicolson, 2009). Au sein de la colonie, l'eau est employée pour réguler la température de la ruche, notamment pendant les périodes de sécheresse, pour maintenir une température de 34 °C à 36 °C et une humidité relative autour de 70%. Au niveau individuel, l'eau rentre dans toutes les fonctions physiologiques de l'abeille, elle assure la bonne digestion des aliments, facilite le transport des nutriments dans l'ensemble du corps, permet l'élimination des déchets et elle permet également la détoxification de certains sucres contenant dans le pollen (Barker, 1977).

2. Les besoins nutritionnels de l'abeille domestique

Un approvisionnement d'alimentation en quantité et en qualité est un élément clé pour le développement et la santé des abeilles mellifères (Brodschneider *et al.*, 2021). La quantité de pollen et de miel consommée varie selon le génotype de l'espèce (Free 1980; Kulinčević et Rothenbuhler, 1989). Une colonie forte de 200 000 abeilles a besoin d'au moins 25 kg de pollen par an pour couvrir tous les besoins nutritionnels des larves, reines, faux bourdons et des ouvrières (Bryś *et al.*, 2021). Ces dernières, même entre elles, recuisent des quantités de nutriments très variables selon l'activité qu'elles occupent. Les besoins en pollen des larves sont estimés au total de 125 à 187,5 mg de pollen et une petite quantité de glucide, environ 60 mg de sucres (Hrassnigg et Crailsheim, 2005). L'élevage de couvain est assuré par les abeilles nourrices. Elles ont de ce fait un besoin encore plus élevé en pollen pour qu'elles puissent synthétiser la gelée royale. En moyenne, une abeille requiert une quantité journalière de pollen oscillant entre 3,4 et 4,3 mg (Louveaux, 1954; Crailsheim *et al.*, 1992).

Quant aux besoins énergétiques, une abeille adulte a besoin en moyenne de 4 mg de sucres par jour (Barker et Lehner, 1974). Les butineuses ont le besoin le plus élevé.

Contrairement aux autres ouvrières, elles consomment principalement du nectar et du miel afin de faire face aux besoins métaboliques liés à leur capacité de vol. En revanche, les estimations des besoins en alimentation restent en dessous des besoins réels de la colonie, car elles ne tiennent pas en considération les dépenses énergétiques nécessaires pour la construction de la cire et pour la thermorégulation, surtout durant l'hiver.

3. Impact de la carence nutritionnelle sur l'abeille domestique

La carence nutritionnelle, notamment en pollen, est reconnue comme l'un des éléments contribuant au déclin des abeilles dans le monde, du fait qu'elle agit en synergie avec d'autres facteurs tels que les maladies et les pesticides (vanEngelsdorp *et al.*, 2008). Une carence nutritionnelle peut survenir quand les ressources mellifères ne sont pas disponibles en quantité suffisante, ce cas peut se produire de temps en temps sous l'effet des perturbations climatiques, où les abeilles se trouvent confrontées à des saisons pauvres. Dans le deuxième cas où la saison est bien, la carence peut également survenir, quand les ressources mellifères ne contiennent pas suffisamment de nutriments et ne couvrent pas les besoins des abeilles, tels que le pollen monofloral et le pollen non digestible (Donkersley *et al.*, 2017).

Les effets de la carence nutritionnelle peuvent se manifester à la fois à court et à long terme. Affectant à la fois le comportement et la physiologie des abeilles. La survie des abeilles est fortement liée à la nutrition et toute mauvaise qualité des aliments peut potentiellement diminuer la longévité des abeilles (Gregorc *et al.*, 2019).

En 2010, Alaux *et al* ont testé l'effet de différents régimes alimentaires sur l'immunité des abeilles. Ils ont démontré que les régimes pauvres affaiblissent le fonctionnement du système immunitaire. Dans une étude analogue menée par Di Pasqual *et al.* en 2013, des découvertes significatives ont émergé concernant la régulation de l'activité du phénol oxydase. Cette classe d'enzymes oxydoréductases joue un rôle essentiel dans la synthèse de la mélanine et de ses dérivés, ainsi que dans les mécanismes de non-auto-reconnaissance et d'encapsulation observés chez les invertébrés, les résultats de l'étude ont révélé que la qualité des aliments ingérés exerce un contrôle sur cette activité enzymatique. En outre, en 2017, une étude menée par Requier *et al.*, a fourni des preuves solides indiquant que les colonies souffrant de carences nutritionnelles connaissent une augmentation notable de la charge d'acariens *Varroa*. De manière complémentaire, cette

même recherche a permis de démystifier le concept du « carry-over », qui se traduit par un retard dans le développement des abeilles. Plus précisément, le « carry-over » reflète un phénomène dans lequel un insuffisant approvisionnement en pollen durant le printemps exerce un impact néfaste sur la trajectoire évolutive de la colonie dans la saison suivante. Ce processus débilitant affaiblit les colonies et épuise leurs réserves, entravant leur capacité à répondre aux besoins nutritionnels essentiels des larves au démarrage, ce qui engendre par la suite une mortalité précoce.

De plus, les ouvrières élevées au sein de colonies carencées en pollen ont une longévité réduite par rapport à celles élevées avec un accès adéquat au pollen (Scofield et Mattila, 2015). Cette observation souligne l'ampleur des implications d'une telle carence, étant donné que l'élevage du couvain est très coûteux en nutriments et en énergie. Le lien entre la nutrition et le développement est encore plus complexe, car une famine chez les ouvrières nourrices conduit à l'inhibition du développement des glandes hypopharyngiennes, qui secrètent la gelée royale (Crailsheim et Stolberg, 1989), cette substance est essentielle pour le développement optimal des larves et pour la santé de la colonie dans son ensemble. La carence nutritionnelle ne se limite pas aux stades de développement précoces, elle exerce également un impact sur la reproduction. En période de pénurie alimentaire, les ouvrières ajustent leurs priorités et réduisent, voire interrompent, l'élevage des larves mâles et même les mâles adultes, ce qui se traduit plus tard par une diminution de la fertilité des mâles et une réduction de la quantité de sperme dans la spermathèque de la reine. Dans les cas les plus extrêmes, cela peut conduire à un arrêt de la ponte par la reine, ce qui met en danger le renouvellement de la population de la colonie.

4. L'abeille domestique face à la carence nutritionnelle

Pour faire face à la pénurie alimentaire, les abeilles déploient en fonction du degré de la carence des stratégies comportementales et physiologiques. En premier lieu, elles accroissent l'effectif d'ouvrières butineuses en accélérant la transition des nourrices vers le rôle de butineuses (Schulz *et al.*, 1998). De plus, lorsque le seuil minimum des réserves alimentaires requis pour l'ensemble de la colonie n'est pas atteint, la colonie réduit sa taille, les reines pondent moins d'œufs et les ouvrières se concentrent sur les larves en voie d'émergence qui nécessitent moins d'entretien et moins de protéines.

Dans le cas extrême de carence, la reine arrête complètement la ponte et un phénomène de cannibalisme se déclenche, où les ouvrières mangent les œufs et les jeunes larves non operculées (Newton et Michl, 1974; Blaschon *et al.*, 1999).

En cas de pénurie de nectar ou d'épuisement de stock en miel, les colonies deviennent agressives pour protéger leur ruche, ce qui peut réduire leur effectif (Riffkin *et al.*, 2005).

III. Le réchauffement climatique et les abeilles

Le réchauffement climatique est le résultat d'accumulation de gaz à effet de serre dans l'atmosphère, causée principalement par les activités humaines. On le constate sous multiples aspects, des glaciers en retraite, l'acidification des océans, des précipitations fluctuées dans le temps et l'espace et d'autres diverses formes (Stocker et Qin, 2013). Qui demeurent complexes et parfois interconnectées. Au sommet de tous ces aspects, l'élévation des températures s'impose comme l'aspect majeur, engendrant une multitude de répercussions sur notre environnement et sur les êtres vivants qui y évoluent et représentant le premier défi pour tous les êtres vivants (Mora *et al.*, 2017; Xu *et al.*, 2018a). Dans cette section, nous nous concentrons sur l'aspect le plus critique de ce phénomène : la hausse des températures et le stress thermique qui en résulte.

1. L'impact de la chaleur sur l'abeille domestique

La température joue un rôle fondamental en tant que facteur abiotique qui contrôle plusieurs fonctions vitales et chaque perturbation de ce facteur, aussi minime soit-elle, génère des effets sur les organismes vivants. À grande échelle et sur le long terme, les températures élevées déstabilisent les écosystèmes naturels, provoquant ainsi des répercussions importantes sur toutes les espèces (Bourque, 2000; Erwin, 2009). Nous résumons ci-dessous les principaux impacts directs et indirects observés et confirmés par les travaux de recherche.

1.1 Impact direct sur l'abeille.

À l'échelle globale, l'augmentation de la température peut redéfinir de nouveaux territoires d'extension des abeilles (Le Conte et Navajas, 2008). Les conditions climatiques, notamment la température, sont le facteur déterminant pour tous les êtres vivants. De nombreuses espèces se sont déplacées géographiquement pour échapper à la chaleur et trouver les conditions les plus favorables à leur développement (Chen *et al.*, 2011). À l'intérieur des colonies d'abeilles mellifères, la température du couvain est contrôlée avec une précision dans une fourchette de température comprise entre 33 et 36 °C (Himmer, 1932; Seeley, 1985). Au-delà de cette fourchette, le couvain est surchauffé, et les abeilles qui en émergent présentent une asymétrie des ailes

antérieures et leur taille et survie sont réduites aussi (Medina *et al.*, 2018; Sutton *et al.*, 2018). De plus, des études ont révélé aussi que l'exposition à la chaleur durant les stades larvaires, altère ultérieurement le cerveau des adultes, provoquant ainsi des déficiences neuronales qui se répercutent directement sur pouvoir d'apprentissage ainsi que mémoire à court (Groh *et al.*, 2004; Jones *et al.*, 2005). En outre, en cas de chaleur, les butineuses sortent tôt, bien avant l'âge de butinage, généralement 21 jours, et cela accélère les processus de mortalité (Blazyte-Cereskiene *et al.*, 2010; Medina *et al.*, 2018).

Les effets de la chaleur s'étendent également aux fonctions physiologiques liées à la reproduction, l'accouplement des reines se déroule habituellement à une température en dessous de 25 °C (Tibor *et al.*, 1987). Les températures élevées impactent négativement sur le vol des reines (Heidinger *et al.*, 2014) et celui des faux-bourçons qui recherchent des reines vierges (Neves *et al.*, 2011). Chez les reines fécondées, la chaleur réduit la quantité et la viabilité des spermatozoïdes stockés dans la spermathèque (Pettis *et al.*, 2016).

1.2 Impact indirect : la baisse des ressources mellifères

La température est « l'horloge » majeure qui contrôle et régit la séquence des événements phénologiques au sein des plantes. Outre l'initiation de la dormance, qui est déterminée par la nécessité de satisfaire une période de froid, la réponse spécifique d'une espèce à la température est traditionnellement considérée comme un trait distinctif. La phénologie, quant à elle, représente le premier indicateur directement perceptible des répercussions du réchauffement climatique sur le développement des végétaux. À titre d'exemple, les plantes qui se développent à des températures ambiantes de 23 °C et en condition de jours courts présentent une floraison plus précoce par rapport à celles qui se développent à 16 °C (Giorno *et al.*, 2012). La floraison est influencée par la température (Jdaidi et Hasnaoui, 2016), car la chaleur favorise l'avancée de la date de floraison, par contre, cela est moins favorable pour la fécondation et la pollinisation (Seguin, 2010).

2. Les mécanismes utilisés par l'abeille pour lutter contre la chaleur

Les mécanismes de tolérance à la chaleur sont des facteurs clés pour la survie des abeilles dans les conditions de stress aux hautes températures (Zhao *et al.*, 2021). Ces

mécanismes peuvent être envisagés tant individuellement pour chaque abeille qu'en tant qu'ensemble au sein de la colonie et impliquent des réactions physiologiques et comportementales (Johnson, 2002; Siegel *et al.*, 2005).

2.1 Mécanismes physiologiques

Les abeilles ont développé une série de stratégies physiologiques ingénieuses pour faire lutter contre le stress thermique. Le premier mécanisme, observé chez les butineuses, repose sur la réduction de leur activité de butinage, ce qui contribue à la baisse de la production de chaleur métabolique (Polatto *et al.*, 2014). Cette réponse permet aux abeilles de stabiliser leur température corporelle à des seuils acceptables en limitant la génération excessive de chaleur. En outre, les abeilles peuvent intensifier la dispersion de chaleur par évaporation (Greenop *et al.*, 2020). Cela aide à réguler la température corporelle en dissipant la chaleur accumulée. Le troisième mécanisme repose sur le transfert de chaleur du thorax vers l'abdomen et la tête, Ce processus permet une meilleure répartition de la chaleur dans le corps de l'abeille et aide à éviter toute surchauffe localisée. Au niveau moléculaire, la chaleur provoque l'activation de certains gènes liés aux protéines de choc thermique connues sous le terme «Heat shock proteins» (*Hsp*) et du facteur nucléaire Y (NF-Y), ces protéines améliorent le pouvoir antioxydant et assurent ainsi une défense renforcée contre le stress thermique (Severson *et al.*, 1990; Li *et al.*, 2020).

2.2 Mécanismes comportementaux

L'aspect le plus fascinant des abeilles est leur capacité à mettre en œuvre un large éventail de mécanismes comportementaux pour maintenir une température stable à l'intérieur de la ruche, indépendamment de la température de l'environnement extérieur. Ces mécanismes, souvent regroupés sous le terme de thermorégulation, sont plus courants chez les insectes sociaux, et ils garantissent un développement larvaire plus rapide que chez les insectes solitaires.

La colonie représente un microclimat, où la température est maintenue à une plage allant de 33 à 36 °C (Petz *et al.*, 2004; Ohashi *et al.*, 2009). Au-delà de 36 °C, la colonie est considérée comme colonie stressée par la chaleur. Pour faire face, les abeilles déploient des moyens comportementaux de refroidissement ; le comportement le plus

visible, c'est la formation d'une barbe à l'extérieur de la ruche. Les abeilles sortent en grand nombre de la ruche et elles se regroupent à l'extérieur depuis l'entrée jusqu'aux alentours de la ruche (**Figure 12-a.**).

D'autres stratégies se déroulent à l'intérieur de la ruche, où les abeilles adoptent des positions spécifiques et commencent à vibrer rapidement leurs ailes pour assurer une meilleure ventilation (Peters, Peleg et Mahadevan, 2019) et un autre groupe d'abeilles s'occupent de l'évaporation (Nicolson, 2009) (**Figure 12-b.**).

De plus, en cas de vague de chaleur prolongée, les abeilles augmentent l'effectif des butineuses d'eau (Bordier *et al.*, 2017a)(**Figure 12-c.**). Ces abeilles recueillent de l'eau et distribuent de petites gouttes d'eau à l'intérieur de la ruche et sur les parois des alvéoles contenant des œufs ou des larves pour éviter le dessèchement (Southwick et Heldmaier, 1987). Si la ventilation et l'évaporation sont insuffisantes pour baisser la température de la colonie, les jeunes ouvrières agissent comme un écran thermique en plaçant leur surface ventrale contre un rayon de couvain potentiellement surchauffé ou en orientant leur côté ventral directement contre une surface chauffée pour obtenir un écran thermique, absorbant passivement la chaleur établissant ainsi une barrière physique (Starks et Gilley 1999, Siegel *et al.*, 2005).



Figure 12. Moyens de refroidissement de la ruche. **a** : barbe à l'extérieur de la ruche ; **b** : ventilation ; **c** : butineuses d'eau

PARTIE

EXPERIMENTALE

Avant-propos

Afin d'éviter les redondances susceptibles d'alourdir le texte, nous soulignons dans cet avant-propos les démarches identiques réalisées à travers trois expériences.

Expérience 01 : Effets de la carence en pollen sur la physiologie des ouvrières d'*A. m. sahariensis* et *A. m. intermissa*.

Expérience 02 : Effets de la chaleur sur la physiologie d'*A. m. sahariensis* et *A. m. intermissa* durant le stade nymphal et adulte.

Expérience 03 : Effets du stress combiné de la carence en pollen et de la chaleur sur la physiologie des ouvrières d'*A. m. sahariensis* et *A. m. intermissa*.

Dans la première expérience, dont les différentes démarches seront décrites dans le détail, cela servira de référence pour les deux autres.

Les points communs aux trois expériences font référence aux points suivants :

- Les ruchers expérimentaux ayant servi à fournir les abeilles Telliennes et Sahariennes pour l'ensemble des expériences.
- Le matériel (cagette Pain) ayant servi à la réalisation des tests en conditions contrôlées.
- Les mesures physiologiques (développement des Glandes Hypopharyngiennes, des ovaires) et biochimiques (dosage des protéines, des sucres, des lipides) sont les mêmes.
- Les protocoles relatifs aux dissections, aux mesures du développement des glandes hypopharyngiennes et des ovaires, et aux différents dosages biochimiques.
- La taille de l'échantillonnage, sa fréquence ainsi que le nombre de répétitions.

I. Effets de la carence en pollen sur la physiologie des ouvrières d'*A. m. sahariensis* et *A. m. intermissa*

1. Introduction

L'habitat naturel de l'abeille (*Apis mellifera* L.) s'étend de l'Afrique du Sud à travers la savane, la forêt tropicale, le désert et le climat doux de la Méditerranée, atteignant la limite de son expansion en Europe du Nord et en Scandinavie méridionale (Han *et al.*, 2012). Plus de vingt-huit sous-espèces d'abeilles ont évolué dans une telle variété d'habitats, de conditions climatiques et de flore, avec leurs propres adaptations caractéristiques à chaque région (Ruttner 1988; Sheppard et Meixner, 2003). Deux sous-espèces endémiques d'abeilles mellifères, *Apis mellifera intermissa* (abeille tellienne) et *Apis mellifera sahariensis* (abeille saharienne), sont présentes en Algérie. *A. m. intermissa* habite la majorité des ruchers algériens, tandis qu'*A. m. sahariensis* est confinée à la région sud-ouest de l'Algérie (HACCOUR, 1961). *A. m. sahariensis* fait face à plusieurs menaces d'origine anthropique et naturelle, telles que la sécheresse de plus en plus fréquente dans la steppe et le Sahara. De plus, le réchauffement climatique pourrait aggraver la situation déjà précaire d'*A. m. sahariensis* (Mallek *et al.*, 2018).

Le Groupe d'experts intergouvernemental sur l'évolution du climat (GIEC) rapporte une augmentation approximative de la température dans la fourchette de 1,1 à 6,4 °C d'ici à la fin de ce siècle. Ce changement climatique peut avoir un effet négatif à la fois sur l'abeille elle-même et sur son environnement floral (Conte et Navajas, 2008). Un climat excessivement sec réduit la disponibilité du pollen, qui est la seule source de protéines pour les abeilles (Haydak, 1970). En réalité, le ratio et le niveau des principaux composants nutritionnels du pollen, y compris les protéines et leurs acides aminés constitutifs, les lipides (y compris les flavonoïdes et les phytostérols), les glucides, ainsi que les vitamines et les métabolites secondaires tels que les caroténoïdes, déterminant sa valeur nutritionnelle (Vaudo *et al.*, 2020). Un pollen riche en éléments nutritifs fournit des niveaux élevés de protéines dans l'hémolymphe (Frias *et al.*, 2016) et assure la survie et la croissance des colonies (Di Pasquale *et al.*, 2013). Les besoins en protéines varient en fonction de l'âge, de la santé et de l'état physiologique. Les nourrices doivent avoir un apport adéquat en protéines pour pouvoir développer leurs glandes

hypopharyngiennes (GHP) et synthétiser la gelée royale. Le pollen riche en protéines permet un bon développement des GHPs (DeGrandi-Hoffman *et al.*, 2021), améliore le système reproductif, favorise le développement ovarien et augmente la fertilité des mâles (Pernal et Currie 2000; Hoover *et al.*, 2006), renforce la défense immunitaire (Di Pasquale *et al.*, 2013) et augmente l'activité des enzymes digestifs (Ricigliano *et al.*, 2017). Par conséquent, les abeilles ouvrières qui souffrent de privation de pollen ont une durée de vie plus courte et commencent à butiner plus tôt (Kunert et Crailsheim 1988; Janmaat et Winston, 2000; Rueppell *et al.*, 2006; Mattila et Otis, 2006).

Cependant, étant donné qu'*A. m. sahariensis* évolue depuis des milliers d'années dans un environnement aride et hostile, dont l'amplitude thermique varie de -4 °C en hiver à plus de 40 °C en été, il est probable que cette sous-espèce d'abeille mellifère ait des caractéristiques comportementales et physiologiques développées très différentes de celles d'*A. m. intermissa*, qui évolue dans un environnement relativement plus clément (Louveaux *et al.*, 1966).

L'objectif de ce travail est de tester cette hypothèse en évaluant la réponse physiologique des deux sous-espèces d'abeilles lorsqu'elles sont complètement privées de source de pollen. Les paramètres physiologiques étudiés pour évaluer cette réponse sont la composition biochimique de l'hémolymphe, le développement des glandes hypopharyngiennes et celui des ovaires, ainsi que la durée de vie des abeilles.

2. Matériel et méthodes

Les abeilles ont été prélevées dans deux ruchers expérimentaux. Le premier, est celui de colonies d'*A. m. intermissa* qui est situé à Boumerdes, et le second est celui de colonies d'*A. m. sahariensis* qui est situé dans une oasis d'Ain Sefra. Les deux ruchers ont été suivis de la même manière et traités contre le varroa au moment opportun. Pour les besoins de l'expérience, nous avons déplacé dix colonies d'*A. m. sahariensis* et les avons placées dans le rucher expérimental de Boumerdes. Trois colonies saines de chaque sous-espèce ont été sélectionnées. Des cadres de couvain operculé proches de l'émergence ont été prélevés des colonies expérimentales, ensuite ont été préservés individuellement dans des cages en bois de dimensions (50 x 25 x 14 cm).

Ces cages contenant les cadres ont été mises dans une étuve à une température de 34 ± 1 °C et à une humidité relative de 70%. Au fur et à mesure que les abeilles naissaient, on procédait au remplissage des cagettes.

2.1 Préparation des cagettes

Une centaine d'abeilles naissantes ont été introduites dans des cagettes de type Pain (12 x 10 x 4 cm) (Pain, 1951) munies de deux parois transparentes perforées et amovibles. Chaque cagette était équipée de deux tubes de 4 ml servant de mangeoires pour fournir une solution d'eau et de sirop à base de saccharose (50% w/w). Un morceau de cire gaufrée pesant environ 2 g est suspendu au milieu de chaque cagette près de la solution de sucre et de l'eau pour que les abeilles puissent s'y agglutiner. Des boules de pollen de 10 g servant de source de protéines ont été fournies aux abeilles. Ces boules ont été préparées en mélangeant du pollen (polyfloral frais récolté l'année précédente et stocké au congélateur) avec du miel jusqu'à former une texture de pâte molle et cohésive. L'eau et le sirop ont été fournis *ad libitum* pour toutes les cagettes (**Figure 13.**) alors que pour le pollen, celui-ci a été donné sans restriction aux abeilles témoin seulement. Les abeilles traitées ont été privées de pollen pendant toute la durée de l'expérimentation.



Figure 13. Mise en cagettes des abeilles et incubation à l'étuve

2.2 Conception expérimentale

Le dispositif expérimental était composé de 04 lots de cagettes correspondant au schéma suivant (**Figure 14.**)

- **Lot 1** : *A. m. sahariensis* privée de pollen (ASP-)
- **Lot 2** : *A. m. sahariensis* nourri au pollen (témoin) (ASP+)
- **Lot 3** : *A. m. intermissa* privée de pollen (ATP-)
- **Lot 4** : *A. m. intermissa* nourrie au pollen (témoin) (ATP+)

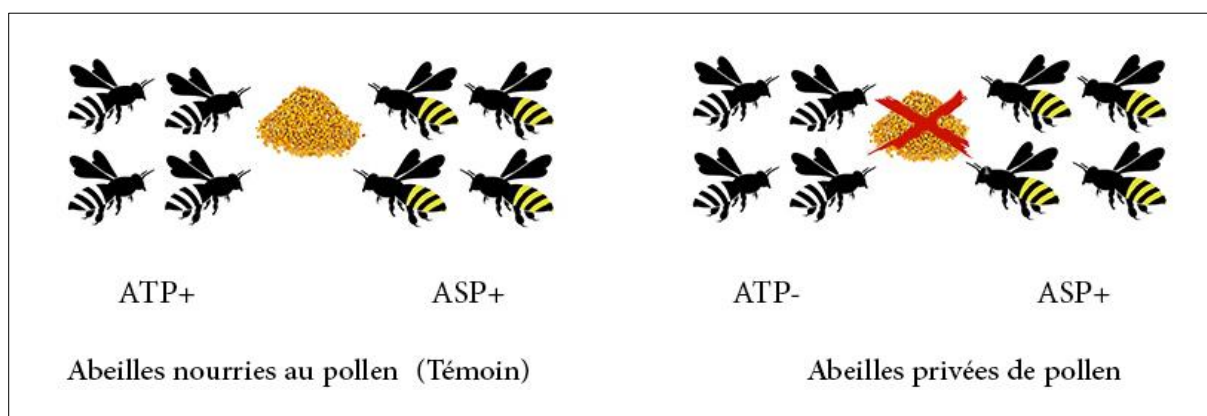


Figure 14. Schéma représentatif du dispositif expérimental. ASP+ : *A. m. sahariensis* nourrie au pollen, ASP- : *A. m. sahariensis* privée de pollen, ATP+ : *A. m. intermissa* nourrie au pollen, ATP- : *A. m. intermissa* privée de pollen.

2.3 Conduite de l'essai

Les cagettes ont été maintenues dans des conditions contrôlées dans une étuve à l'obscurité, à une température de 34 ± 1 °C et à une humidité relative de 70%. La notation de mortalité ainsi que la mesure et la compensation de la quantité de nourriture ont été effectués quotidiennement. De chaque cagette, dix abeilles vivantes sont prélevées à l'âge de 7,14 et 21 jours. Ces échantillons d'abeilles servent à extraire leur hémolymphe, à la dissection des glandes hypopharyngiennes et des ovaires.

2.4 Poids moyen des abeilles émergentes

Après l'émergence des ouvrières, une centaine d'abeilles de chaque sous-espèce a été prise au hasard pour être pesée. Le poids moyen de chaque abeille (exprimé en mg) a été calculé sur la base du nombre total d'individus pesés.

2.5 Prélèvement de l'hémolymphe

L'hémolymphe a été prélevé sur des abeilles vivantes, en introduisant doucement la pointe d'un microcapillaire au niveau du vaisseau dorsal, généralement dans le 3^{ème} tergite. Une fois prélevé, l'hémolymphe de ces ouvrières est conservé dans des tubes Eppendorphe et mis au congélateur à -20 °C (**Figure 15.**). Les abeilles ayant servi à l'extraction de l'hémolymphe sont conservées aussi au congélateur à -20 °C, pour la dissection des glandes hypopharyngiennes et des ovaires.

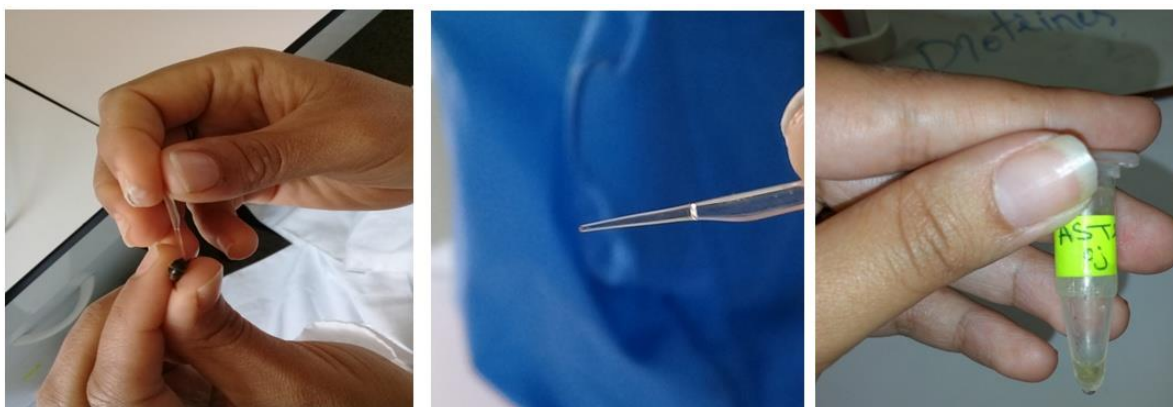


Figure 15. Prélèvement d'hémolymphe

2.6 Analyse biochimique de l'hémolymphe

2.6.1 Dosage des protéines

Le dosage des protéines a été réalisé selon la méthode de Bradford (1976). Cette méthode est basée sur une réaction entre des protéines et le réactif Coomassie Brilliant Blue G250 (BBC), qui est de couleur rouge à l'état libre et vire au bleu lorsqu'il est lié à des protéines. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la concentration des protéines. Le réactif de Bradford (BBC) a été préparé à partir de 50 mg de Coomassie Brilliant Blue, 25 ml d'éthanol à 95°, 50 ml d'acide orthophosphorique à 85% et 500 ml d'eau distillée. La gamme d'étalonnage a été préparée en partant d'une solution mère d'albumine sérique bovine (BSA) à 10 mg/ml, diluée à 1 mg/ml, et d'une solution mère de BSA à 0,1%. À partir de cette dernière, une série de six tubes de concentration croissante a été préparée et incubée pendant 10 minutes à température ambiante dans l'obscurité. La densité optique a été mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 595 nm ; une courbe d'étalonnage a été ensuite tracée. Les échantillons ont été décongelés dans l'eau fraîche, puis dans une série de tubes, un

volume de 5 µl d'hémolymphe est versé et complété à 100 µl par addition de 95 µl de l'eau distillée. Par la suite, un volume de 4 ml de réactif de Bradford (BBC) est ajouté dans les deux séries de tubes et mélangé, incubé pendant 10 min à 4 °C dans l'obscurité, puis passé au spectrophotomètre.

Les valeurs obtenues ont été reportées sur la courbe d'étalonnage déjà tracée pour déterminer la concentration en protéines.

2.6.2 Dosage des sucres

Le dosage des glucides a été réalisé selon la méthode de Duchateau et Florkin (1959) utilisant l'Anthrone comme réactif. Cette méthode est basée sur une réaction dans un milieu sulfurique concentré entre les glucides et le réactif (Anthrone), qui est de couleur jaune clair à l'état libre et vire au vert ou au bleu-vert lorsqu'il est lié à des glucides. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la concentration des glucides.

Le réactif a été préparé à 0.15 g d'Anthrone dans 75 ml d'acide sulfurique et 25 ml d'eau distillée, et la gamme d'étalonnage est effectuée à partir d'une solution mère de glucose (0,1 mg/ml). Le dosage se fait sur des prises aliquotes de 5 µl d'hémolymphe ou de gamme d'étalonnage auxquelles on ajoute 95 µl de l'eau distillée et 4 ml de réactif Anthrone. Les tubes sont fermés, agités et placés pendant 10 minutes dans un bain marie à 80 °C. L'absorbance est lue dans un spectrophotomètre à 620 nm ; les valeurs obtenues ont été reportées sur la courbe d'étalonnage déjà tracée.

2.6.3 Dosage des lipides

Le dosage des lipides a été réalisé selon la méthode de Goldsworthy et al. (1972) utilisant la vanilline comme réactif. Cette méthode est basée sur une réaction entre les lipides et le réactif sulfophosphanilline, qui est de couleur jaune clair à l'état libre et vire au bleu lorsqu'il est lié à des lipides. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la concentration des lipides. Le réactif sulfophosphanilline a été préparé à partir de 1,52 g de vanilline dissous dans 780 ml d'acide orthophosphorique à 85% et 220 ml d'eau distillée. Le réactif préparé doit se conserver dans un flacon sombre pour éviter toute détérioration au contact de la lumière. La gamme d'étalonnage a été préparée à partir d'une solution mère de 25 mg d'huile de table contenant plus de 99% de triglycérides dissoutes dans 10 ml du mélange (éther/chloroforme v/v).

Ensuite, six dilutions de volume identique (100 μ l) ont été préparées et qui contiennent des concentrations croissantes et connues.

Les échantillons d'hémolymphe ont été décongelés dans de l'eau fraîche avant de préparer une série de tubes contenant chacun 5 μ l d'hémolymphe. Ensuite, 1 ml d'acide sulfurique sont ajouté aux deux séries de tubes ; les tubes fermés ont été placés dans un bain marie à 100 °C durant 10 minutes. Une fois refroidis, un volume de 200 μ l de chaque tube est pris et 2,5 ml de réactif de sulfophosphaniline ont été additionnés, mélangés et incubés pendant 30 minutes à l'obscurité. L'absorbance est lue dans un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 530 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. La courbe d'étalonnage a ensuite été tracée. Ensuite, les valeurs d'absorbance des échantillons d'hémolymphe ont été reportées sur la courbe d'étalonnage pour déterminer la concentration en lipides.

2.7 Extraction et mesure des glandes hypopharyngiennes

Les glandes hypopharyngiennes ont été retirées avec une pince à travers une incision dans la partie antérieure de la tête et placées sur une lame de microscope dans une goutte de solution de chlorure de sodium (**Figure 16.**). Une photo des glandes a été prise au grossissement X400 à l'aide d'un microscope Leica DM 500 avec une caméra Leica DC-300 et le logiciel de gestion d'images Axio-vision. Pour l'étalonnage, une photographie d'une lame graduée de 1 mm a été prise au même grossissement utilisé pour observer les glandes hypopharyngiennes.

Le développement des glandes hypopharyngiennes a été évalué en calculant la surface des acini selon le protocole établi par DeGrandi-Hoffman et al. (2010). La surface de chaque acini a été calculée en multipliant la longueur par la largeur. Six acini par abeille ont été sélectionnés et seuls les acini avec des bordures claires ont été mesurés.

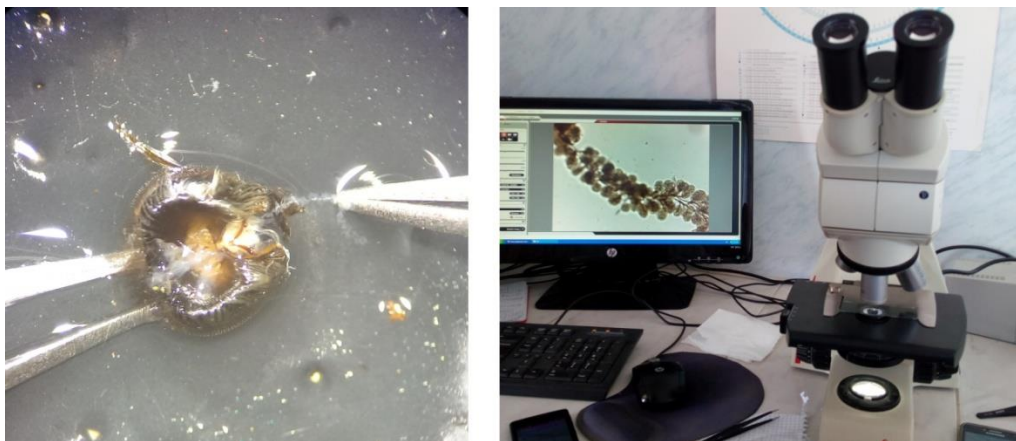


Figure 16. Extraction et mesure de la surface des acinis des glandes hypopharyngiennes.

2.8 Évaluations du degré de développement ovarien

Pour la dissection des ovaires, le dos de l'abeille a été fixé par 04 épingles sur une plaque de dissection en cire. Ensuite, une incision longitudinale au niveau de l'abdomen est effectuée à l'aide d'un ciseau de dissection, Puis les ovaires ont été examinés à l'aide d'une loupe binoculaire au grossissement X400 (**Figure 17**). Le degré de développement attribué est une mesure visuelle par un même opérateur en utilisant une échelle de classification de Hess (1942) modifiée par Velthuis (1970). Cette échelle comprend 05 stades de développement :

Stade 1 : ovaire non développé

Stade 2 : début de l'ovogénèse (cellules gonflant en haut de l'ovariol)

Stade 3 : développement léger

Stade 4 : développement modéré

Stade 5 : très développé (œufs entièrement allongés)

Les deux premiers stades (1 et 2) correspondent à des ovaires non développés et les trois derniers (3-5) correspondent à des ovaires développés. Le pourcentage de développement ovarien est ensuite calculé en considérant uniquement le nombre total des ovaires développés parmi tous ceux examinés.



Figure 17. Dissection des ovaires.

2.9 Analyses statistiques

L'analyse statistique des données a été réalisée avec le logiciel IBM SPSS Statistics 28.0.0.0. Les résultats sont exprimés sous forme de (moyenne \pm erreur standard). Nous avons réalisé l'ANOVA à un facteur (Sous-espèce) pour le poids des abeilles émergentes. Nous avons réalisé l'ANOVA à trois facteurs (Température, Sous-espèce et Age) avec le test post-hoc de Tukey HSD pour la composition biochimique de l'hémolymphe (protéines, sucres et lipides) et le développement des glandes hypopharyngiennes. Avant d'effectuer l'ANOVA, la normalité a été vérifiée à l'aide du test de Kolmogorov-Smirnov. La dépendance du développement ovarien à la sous-espèce et au régime a été analysée avec le test de Chi2 et le test exact de Fisher, lorsque l'effectif théorique est <5 . La survie a été analysée à l'aide de l'estimateur de survie Kaplan-Meier. Un test de Gehan-Wilcoxon a été effectué pour déterminer les différences entre les groupes de traitement.

3. Résultats

3.1 Poids moyen des abeilles émergentes

A l'émergence, *A. m. sahariensis* avait un poids moyen significativement plus élevé qu'*A. m. intermissa*, soit respectivement $133 \pm 0,06$ mg et $90 \pm 0,05$ mg ($F_{1,18} = 252,57$; $p < 0,001$).

3.2 Consommation journalière de pollen, sirop et l'eau

Les abeilles témoins des deux sous-espèces ont consommé pratiquement la même quantité de pollen. Toutefois, *A. m. sahariensis* a consommé plus de sirop et d'eau qu'*A. m. intermissa*. Chez les abeilles privées de pollen, nous avons enregistré une augmentation de la consommation du sirop et d'eau chez les deux sous-espèces. Cette consommation est plus importante chez *A. m. sahariensis* (**Tableau 2.**)

Tableau 2. Quantité moyenne de pollen, de sirop et d'eau consommée par abeille et par jour. Chez *A. m. sahariensis* et *A. m. intermissa* nourries ou privées de pollen.

Régime	Consommation (moyenne \pm SD)			
	Sous-espèces	Pollen (mg)	Sirop (μ l)	Eau (μ l)
Avec pollen	<i>A. m. sahariensis</i>	2,13 \pm 0,61	21,04 \pm 3,96	8,82 \pm 1,30
	<i>A. m. intermissa</i>	2,62 \pm 0,33	17,63 \pm 2,19	4,34 \pm 0,80
Sans pollen	<i>A. m. sahariensis</i>		39,05 \pm 2,71	9,53 \pm 1,15
	<i>A. m. intermissa</i>		32,18 \pm 2,45	5,47 \pm 2,14

3.3 Composition biochimique d'hémolymphe

3.3.1 Protéines

La quantité de protéines dans l'hémolymphe (PH) était influencée par le régime ($F_{1,96} = 23\ 005,41$; $p < 0,001$), la sous-espèce ($F_{1,96} = 597,62$; $p < 0,001$) et l'âge ($F_{2,96} = 2436,39$; $p < 0,001$). Les interactions statistiques régime x sous-espèces ($F_{1,96} = 137,57$; $p < 0,001$), sous-espèce x âge ($F_{2,96} = 97,16$; $p < 0,001$), régime x âge ($F_{2,96} = 1378,77$; $p < 0,001$) et sous-espèce x régime x âge ($F_{2,96} = 24,40$; $p < 0,001$) étaient également significatifs (**Figure 18.**)

A 7 jours, ATP+ avait une teneur en PH significativement plus élevée qu'ATP- ($p < 0,001$) et ASP+ ($p < 0,001$). ASP+ avait significativement plus de PH qu'ASP- ($p < 0,001$). En situation de carence pollinique, la teneur en PH était significativement plus élevée en ATP- qu'en ASP- ($p < 0,001$).

A 14 jours, la quantité de PH a diminué significativement dans tous les lots et a suivi la même tendance entre les différents lots. ATP+ avait significativement plus de PH qu'ATP- ($p < 0,001$) et ASP+ ($p < 0,001$). ASP+ avait significativement plus de PH qu'ASP-

($p < 0,001$). En situation de carence pollinique, la quantité de PH était significativement plus élevée en ATP- qu'en ASP- ($p < 0,001$).

A 21 jours, une légère diminution a été observée dans la quantité de PH par rapport aux abeilles de 14 jours, avec la même tendance entre les quatre groupes. ATP+ avait une quantité significativement plus élevée de PH qu'ATP- ($p < 0,001$).

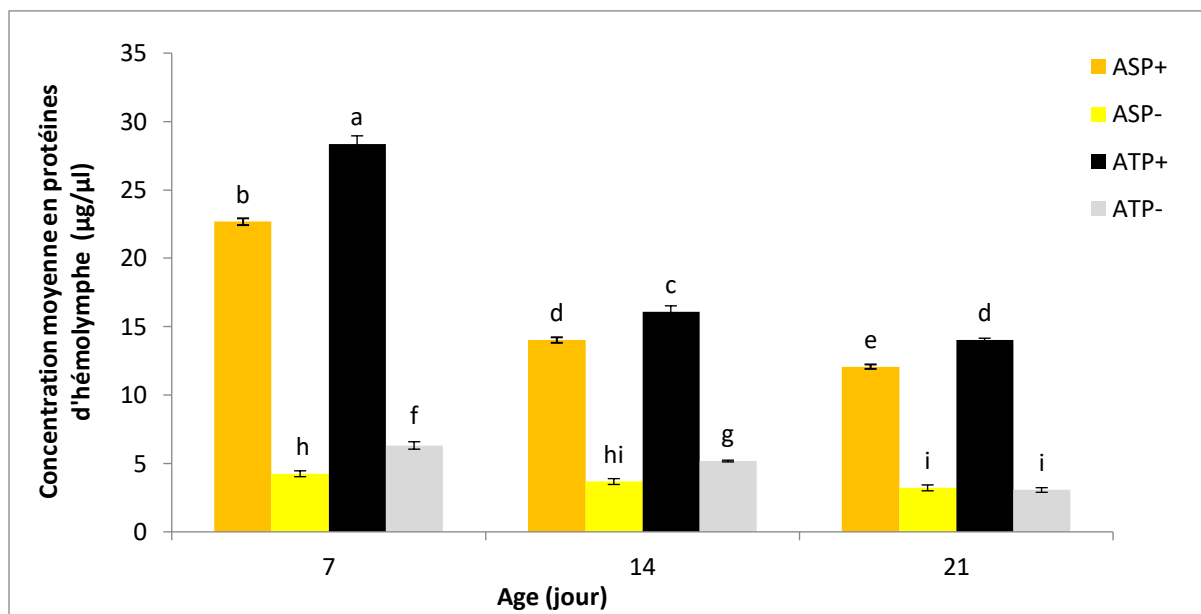


Figure 18. Concentration des protéines d'hémolymphe (moyenne de \pm SE). À 7, 14 et 21 jours. ASP+ : *A. m. sahariensis* nourrie en pollen, ASP-: *A. m. sahariensis* privée de pollen, ATP+ : *A. m. intermissa* nourrie en pollen, ATP- : *A. m. intermissa* privée de pollen. Il n'y a pas de différence significative entre les barres ayant la même lettre ($p > 0,05$).

3.3.2 Sucres

La teneur en sucres d'hémolymphe (SH) est influencée par la sous-espèce ($F_{1,96} = 307,669$; $p < 0,0001$), le régime ($F_{1,96} = 542,102$; $p < 0,0001$) et l'âge ($F_{1,96} = 250,839$; $p < 0,0001$). Ainsi que les interactions, sous-espèce x régime ($F_{1,96} = 814,360$; $p < 0,0001$), sous-espèce x âge ($F_{2,96} = 90,540$; $p < 0,0001$), régime x âge ($F_{2,96} = 97,924$; $p < 0,0001$) et sous-espèce x régime x âge ($F_{2,96} = 188,035$; $p < 0,0001$).

A 7 et 14 jours, ASP+ avait une teneur en SH significativement plus élevée qu'ATP+ ($p < 0,001$) et ASP- ($p < 0,001$) et ATP- avait significativement plus de SH qu'ATP+ ($p < 0,001$). Il n'y avait pas de différence entre ASP-et ATP- ($p > 0,05$).

A 21 jours, les valeurs de SH sont relativement stables par rapport 7 et 14 jours, les groupes ont même tendance, sauf ASP- qui marque une augmentation significative, et à ce niveau d'âge ASP- avait une teneur en SH significativement plus élevée qu'ASP+ ($p < 0,001$) et ATP- ($p < 0,001$) (**Figure 19.**)

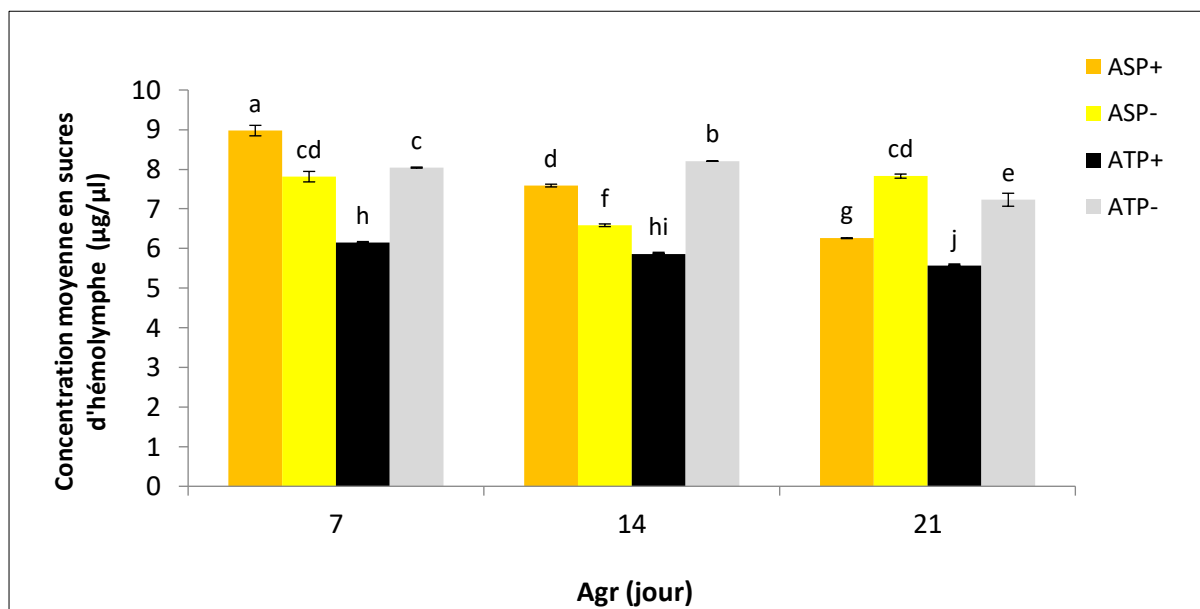


Figure 19. Concentration des sucres d'hémolymphe (moyenne de \pm SE). À 7, 14 et 21 jours. ASP+ : *A. m. sahariensis* nourrie en pollen, ASP-: *A. m. sahariensis* privée de pollen, ATP+ : *A. m. intermissa* nourrie en pollen, ATP- : *A. m. intermissa* privée de pollen. Il n'y a pas de différence significative entre les barres ayant la même lettre ($p > 0,05$).

3.3.3 Lipides

La teneur en lipides d'hémolymphe (LH) est influencée par la sous-espèce ($F_{1, 96} = 5108,52$; $p < 0,0001$), le régime ($F_{1, 96} = 321,55$; $p < 0,0001$) et l'âge ($F_{1, 96} = 30,31$; $p < 0,0001$). Ainsi que toutes les interactions, sous-espèce x régime ($F_{1, 96} = 290$; $p < 0,0001$), sous-espèce x âge ($F_{3, 96} = 38,75$; $p < 0,0001$), régime x âge ($F_{2, 96} = 2,27$; $p < 0,01$) et sous-espèce x régime x âge ($F_{2, 96} = 3,91$; $p < 0,02$).

Chez tous les lots incluant tous les niveaux d'âge, *A. m. sahariensis* a enregistré une teneur en LH significativement plus élevée qu'*A. m. intermissa*. Chez *A. m. intermissa*, y compris l'âge et le régime, toutes les abeilles ont enregistré une teneur en LH relativement stable. En revanche, chez *sahariensis*, ASP+ avait une teneur en LH significativement plus élevée qu'ASP- (**Figure 20.**)

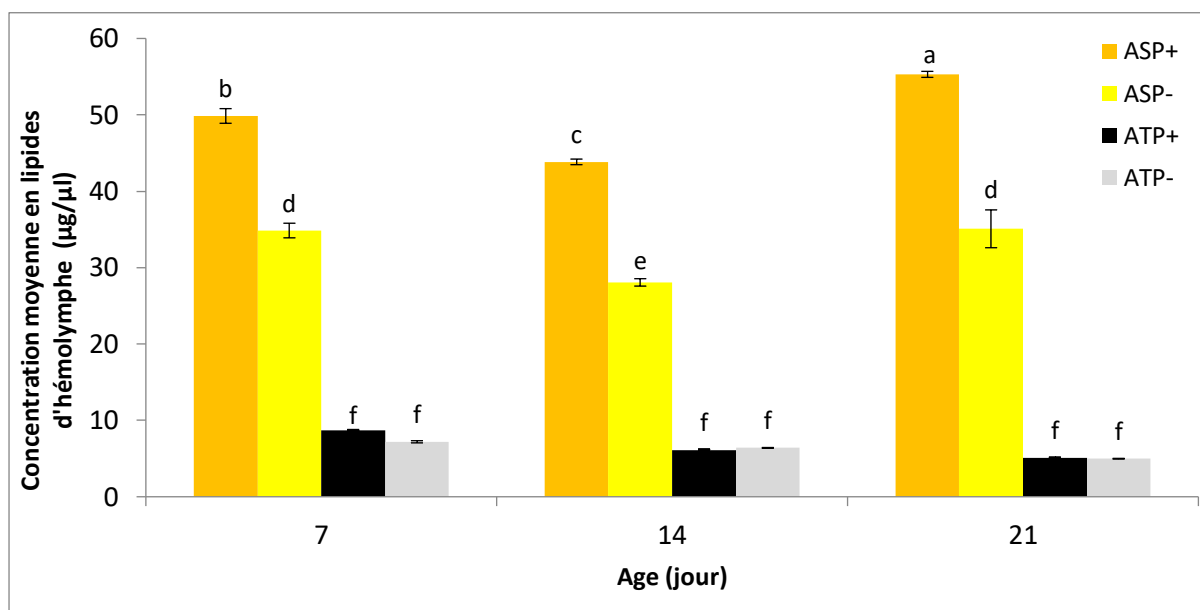


Figure 20. Concentration des lipides d'hémolymphe (moyenne de \pm SE). À 7, 14 et 21 jours. ASP+ : *A. m. sahariensis* nourrie en pollen, ASP-: *A. m. sahariensis* privée de pollen, ATP+ : *A. m. intermissa* nourrie en pollen, ATP- : *A. m. intermissa* privée de pollen. Il n'y a pas de différence significative entre les barres ayant la même lettre ($p > 0,05$).

3.4 Développement des glandes hypopharyngiennes (GHP)

Le développement des glandes hypopharyngiennes (GHP) a été influencé par le régime ($F_{1,348} = 43,69 ; p < 0,001$), la sous-espèce ($F_{1,348} = 508,45 ; p < 0,001$), et l'âge ($F_{2,348} = 278,43 ; p < 0,001$), l'interaction régime x sous-espèces ($F_{1,348} = 29,99 ; p < 0,001$), sous-espèce x âge ($F_{2,348} = 97,05 ; p < 0,001$) et les interactions sous-espèce x régime x âge ($F_{2,348} = 18,66 ; p < 0,001$). L'effet des interactions régime x âge n'était pas significatif ($F_{3,348} = 2,03 ; p < 0,132$).

A 7 jours, les GHP d'ASP+ sont significativement plus développées que celles d'ASP- ($p < 0,001$) et ATP+ ($p < 0,001$). Les GHP d'ASP- sont significativement plus développés que celles d'ATP- ($p < 0,001$). Cependant, chez *A. m. intermissa*, il n'y a pas de différence entre ATP+ et ATP- ($p > 0,05$).

A 14 jours, les GHP d'ASP+ sont significativement plus développés que celles de ATP+ ($p < 0,001$) et ASP- ($p < 0,033$), alors que les GHP d'ASP- sont significativement plus développés que celles d'ATP- ($p < 0,001$). Chez *A. m. intermissa*, il n'y avait pas de différence significative entre ATP+ et ATP- ($p > 0,05$).

A 21 jours, une atrophie GHP a été observée chez l'*A. m. sahariensis* (ASP+ et ASP-). A cet âge, il n'y a pas de différences significatives entre les groupes, sauf chez *A. m. intermissa* où les GHP d'ATP+ sont significativement plus développées que celles d'ATP- ($p = 0,045$) (**Figure 21.**).

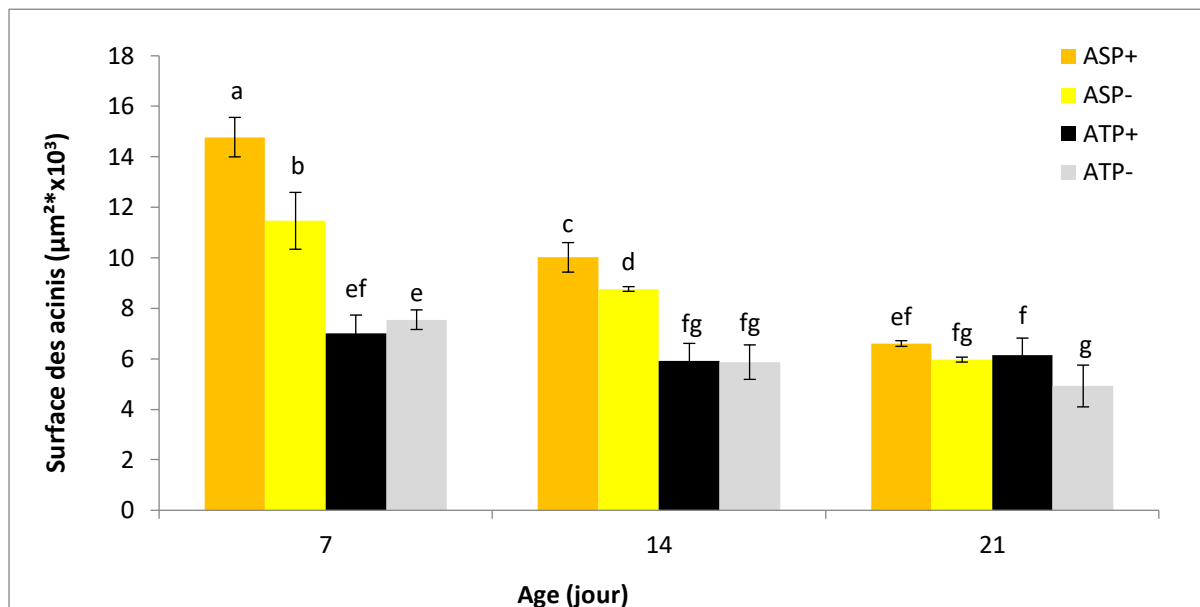


Figure 21. Surface des acinis des glandes hypopharyngiennes (moyenne \pm SE), à 7, 14 et 21 jours. ASP+ : *A. m. sahariensis* nourrie en pollen, ASP- : *A. m. sahariensis* privée de pollen, ATP+ : *A. m. intermissa* nourrie en pollen, ATP- : *A. m. intermissa* privée de pollen. Il n'y a pas de différence significative entre les barres ayant la même lettre ($p > 0,05$).

3.5 Développement ovarien

Le développement des ovaires est plus important chez *A. m. intermissa* que chez *sahariensis*. Il dépend également du régime, riche ou déficient en pollen. Le résultat du test $\chi^2_{(3)}$ indique donc une dépendance du développement ovarien au régime et à la sous-espèce ($\chi^2_{(3)} = 14,05$; $p < 0,05$). Le développement des ovaires est plus important chez *A. m. intermissa* que chez *sahariensis*. Il dépend aussi du régime alimentaire des abeilles, riche ou déficient en pollen. Le résultat du test $\chi^2_{(3)}$ indique donc une dépendance du développement ovarien au régime et à la sous-espèce ($\chi^2_{(3)} = 14,05$; $p < 0,05$). Un régime protéiné (avec pollen) a eu un effet significatif sur le développement des ovaires chez *A. m. intermissa*. Chez ATP+, il y a significativement plus d'ovaires développés que chez ATP- ($\chi^2_{(1)} = 4,804$; $p < 0,05$). La comparaison entre sous-espèces montre que les ATP+ ont des ovaires significativement plus développés que les ASP+ ($\chi^2_{(1)} = 4,804$; $p < 0,028$). En revanche, le régime alimentaire ne semble pas avoir

d'influence sur le développement ovarien chez la *sahariensis*, puisqu'il n'y a pas de différence significative dans le développement ovarien des ASP+ et ASP- ($\chi^2_{(1)} = 2,0235$; $p > 0,05$). Chez les abeilles privées de pollen des deux sous-espèces, il n'y a pas de différence significative dans le développement ovarien de ($\chi^2_{(1)} = 2,025$; $p > 0,05$) (**Figure 22.**).

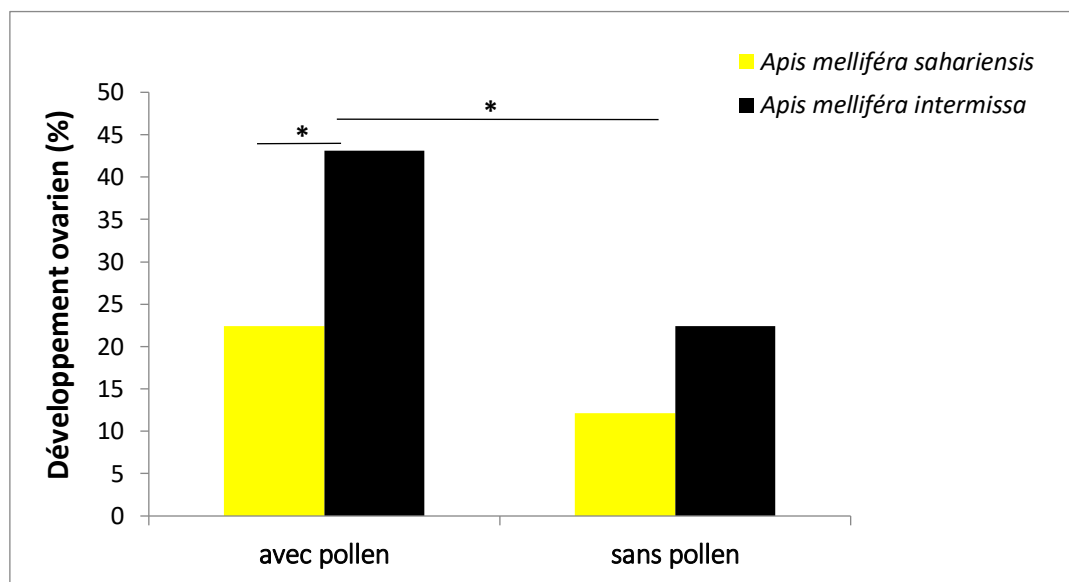


Figure 22. Taux de développement des ovaires chez les deux sous-espèces d'abeilles (*Apis mellifera intermissa* et *Apis mellifera sahariensis*), nourries au pollen (témoin) et privées de pollen. L'astérisque indique la signification du test du chi carré (χ^2) à un niveau de signification de p -value $< 0,05$.

3.6 Survie

L'analyse de survie a été menée sur une période de 58 jours, période qui correspond à la date du début de l'essai jusqu'à la mort de la dernière abeille. Les résultats de l'estimation de Kaplan-Meier ont révélé que la survie de l'*A. m. sahariensis* est supérieure qu'*A. m. intermissa*, même avec un régime sans pollen (**Figure 23, Tableau 3.**) Toutes les comparaisons par paires entre les groupes étaient significativement différentes.

ASP+/ATP+ (test de Wilcoxon, $\chi^2_{(1)} = 105,65$; $p < 0,001$)

ASP-/ATP- (test de Wilcoxon, $\chi^2_{(1)} = 119,61$; $p < 0,001$)

ASP+/ASP- (test de Wilcoxon, $\chi^2_{(1)} = 24,286$; $p < 0,001$)

ATP+/ATP- (test de Wilcoxon, $\chi^2_{(1)} = 6,803$; $p < 0,009$)

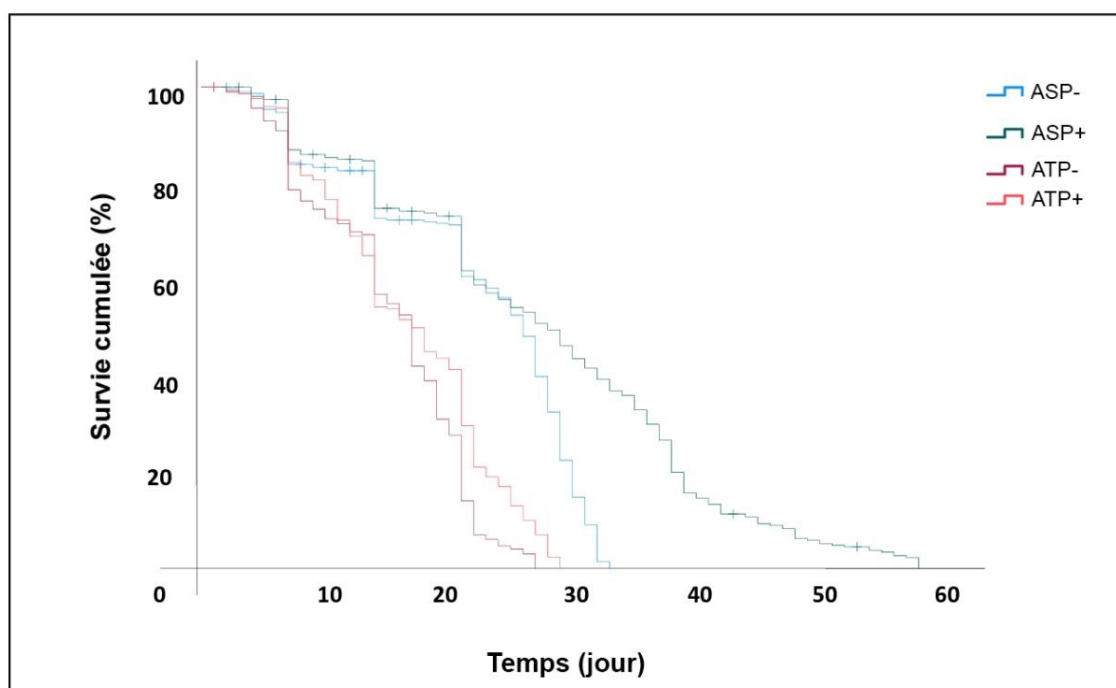


Figure 23. Courbes de survie de Kaplan-Meier. ASP+ : *A. m. sahariensis* nourrie de pollen, ASP- : *A. m. sahariensis* privée de pollen, ATP+ : *A. m. intermissa* nourrie de pollen, ATP- : *A. m. intermissa* privée de pollen.

Tableau 3. Estimation de Kaplan-Meier à (IC à 95%) de survie moyenne d' *A. m. sahariensis* et *A. m. intermissa* selon le régime alimentaire (avec ou sans pollen), Les lettres indiquent les résultats du test de Gehan-Wilcoxon, Les valeurs avec la même lettre ne sont pas significativement différentes ($p > 0,05$).

Régime	Survie (moyenne \pm SD)	
	<i>A. m. sahariensis</i>	<i>A. m. intermissa</i>
Avec pollen	27,50 \pm 0,78 a	16,76 \pm 0,41 c
Sans pollen	22,31 \pm 0,50 b	15,33 \pm 0,36 d

4. Discussion

Cette étude a montré que l'alimentation (avec ou sans pollen) et la sous-espèce ont une influence sur la composition biochimique de l'hémolymphe. Nous avons pu distinguer trois réponses chez les abeilles privées de pollen et même chez les abeilles témoins qui ont consommé la même quantité de pollen. Les protéines sont plus élevées chez *A. m. intermissa* que chez *A. m. sahariensis*. Alors que, les lipides sont plus élevés chez *A. m. sahariensis* qu'*A. m. intermissa*. Quant aux sucres, ils sont stables dans tous les lots. Toutes les abeilles avaient accès *ad libitum* au sirop, ce qui explique que la teneur en sucre de l'hémolymphe ne diffère pas entre tous les lots.

A. m. intermissa a plus de protéines hémolymphatiques que *sahariensis*, nous suggérons que *A. m. intermissa* convertit beaucoup mieux son régime protéique que la *sahariensis*. Une étude a montré que pour le même pollen, la sous-espèce égyptienne *A. m. lamarckii* a une teneur en protéines dans son hémolymphe plus élevée que les deux sous-espèces *A. m. carnica* et *A. m. ligustica* (Zakaria, 2007). Dans cette étude, les auteurs expliquent la différence de concentration de protéines dans l'hémolymphe par une sécrétion enzymatique plus importante dans l'intestin. Dans une étude ultérieure réalisée sur des pré-nymphes d'*Apis mellifera* (Poiani et da Cruz-Landim, 2012), les chercheurs ont démontré le rôle de l'enzyme phosphatase acide dans l'accumulation de protéines dans l'hémolymphe et la mobilisation des protéines stockées dans les trophocytes pour être utilisées lors de la métamorphose. Cette enzyme pourrait également jouer un rôle dans la mobilisation des protéines stocké dans les réserves corporelles, puisque même en situation de carence en pollen, *A. m. intermissa* avait plus de protéines hémolymphatiques qu'*A. m. sahariensis*. En effet, Les abeilles stockent non seulement des protéines dans leurs réserves corporelles, mais aussi une quantité importante de matières grasses, principalement sous forme de corps gras stockés durant la phase larvaire (Brodschneider et Crailsheim, 2010), ce qui suggère probablement que dans le cas d'un stress nutritionnel, une lipolyse du corps gras aura lieu qui conduit à une augmentation des lipides hémolymphatiques. Bien que, ce ne soit pas le cas chez *A. m. intermissa* puis que qu'elle avait des niveaux stables en lipides hémolymphatiques. La sous-espèce *A. m. sahariensis* avait des niveaux très élevés en lipides hémolymphatiques, et cela pourrait probablement indiquer qu'*A. m. sahariensis* accumule plus de réserves énergétiques durant la phase larvaire, cette hypothèse est renforcée par les résultats de poids des abeilles à la naissance, car nous avons trouvé que l'*A. m. sahariensis* pèse plus lourd qu'*A. m. intermissa*.

En outre, une autre étude a également montré la supériorité des abeilles africanisées dans la conversion des protéines du pollen en protéines de l'hémolymphe par rapport aux abeilles européennes (Cappelari *et al.*, 2009). Il est donc possible qu'*A. m. intermissa* sécrète plus d'enzyme phosphatase acide dans son intestin qu'*A. m. sahariensis*. Comme les deux sous-espèces ont évolué dans des environnements floraux différents, elles sont peut-être plus adaptées à la digestion de régimes polliniques spécifiques, et le régime utilisé dans notre étude pourrait ainsi être mieux adapté à *A. m. intermissa*.

Une fois stockés dans l'hémolymphe de l'abeille, les nutriments (protéines, glucides, lipides et vitamines) ainsi que les hormones sont distribués en fonction des différents besoins physiologiques (Vierstraete *et al.*, 2004; Chan *et al.*, 2006). Ces protéines jouent un rôle essentiel dans le fonctionnement des glandes hypopharyngiennes (Free 1961; Pernal et Currie, 2000; Schmickl et Crailsheim, 2004; DeGrandi-Hoffman *et al.*, 2010). Cette étude montre que, même privée de pollen, *A. m. sahariensis* a des glandes hypopharyngiennes plus développées qu'*A. m. intermissa* nourrie au pollen. Cette tendance est observée à 7 et 14 jours. Cette classe d'âge correspond à celle des nourrices (Knecht et Kaatz, 1990). Des expériences de terrain ont montré qu'*A. m. sahariensis* produit plus de gelée royale qu'*A. m. intermissa* (données non publiées). Ces résultats pourraient soutenir l'hypothèse selon laquelle *A. m. sahariensis* donne la priorité au développement de ses glandes hypopharyngiennes afin de nourrir le couvain de manière optimale. Cette priorité se ferait même au détriment des réserves corporelles de la nourrice déficiente en pollen.

Selon Hoover *et al.* (2006), les abeilles nourries avec un régime riche en protéines ont des ovaires plus développés. Nos résultats sont cohérents avec cette observation, car nous avons constaté que les abeilles nourries au pollen ont la plus grande proportion d'ovaires développés que celles nourries uniquement au sirop de sucre. Cependant, le développement ovarien est un processus complexe qui dépend de nombreux facteurs, dont l'alimentation, l'âge, les hormones, la saison et le stress. Bien que les protéines soient importantes pour le développement ovarien, elles ne sont pas le seul facteur décisif. Pirk *et al.* (2010) ont démontré également le rôle des hydrates de carbone dans le développement ovarien. Les auteurs ont constaté qu'un régime avec un rapport protéines/hydrates de carbone de 1:3 entraîne un meilleur développement ovarien. Dans notre étude, nous avons constaté que même sans source de protéines, *A. m. intermissa* avait la plus grande proportion d'ovaires développés. Il semble donc que le développement ovarien ne dépende pas seulement du régime alimentaire, mais aussi de la sous-espèce. Lorsque la reine et le couvain sont expérimentalement retirés, *A. m. intermissa* développe ses ovaires plus rapidement (5,6 jours) que les sous-espèces africaines *scutellata* (9,5 jours) ou européenne *carnica* (30 jours) (Ruttner et Hesse, 1981). De même, *A. m. intermissa* pond plus d'œufs que *scutellata* ou *carnica*. L'aspect

racial est ainsi important dans le développement des ovaires des ouvrières (Hepburn et Radloff, 1998).

Dans notre expérience en conditions contrôlées, les abeilles des deux sous-espèces ont consommé la même quantité de pollen. L'importance de cet apport en protéines dans le développement des glandes hypopharyngiennes d'*A. m. sahariensis* et dans le développement de l'ovaire d'*A. m. intermissa* est démontrée. Cet apport en protéines est également important dans la durée de vie des abeilles (Haya, 1970; Gregorc *et al.*, 2019). *A. m. sahariensis* est beaucoup plus affectée par la carence en pollen qu'*A. m. intermissa*. En effet, lorsque les abeilles sont privées de pollen, l'espérance de vie d'*A. m. intermissa* et de *A. m. sahariensis* est réduite d'un peu plus de 8,5% et de 18,83%, respectivement. En revanche, lorsque les abeilles sont nourries au pollen, l'espérance de vie moyenne d'*A. m. sahariensis* est prolongée de 08 jours par rapport à celle d'*A. m. intermissa*. Il est important de noter que même privée de pollen, *A. m. sahariensis* vit plus longtemps qu'*A. m. intermissa* nourrie au pollen. Cette différence d'espérance de vie entre les deux sous-espèces pourrait être due à des différences durant le développement larvaire. En effet, nous avons constaté qu'à l'émergence, *A. m. sahariensis* pesait plus qu'*A. m. intermissa*. Cette différence de poids pourrait être due à une bonne alimentation durant la phase larvaire. Cette hypothèse est confirmée par la propension d'*A. m. sahariensis* à favoriser le développement de ses glandes hypopharyngiennes au détriment de ses ovaires.

De nombreuses études ont également montré que la phospholipoglycoprotéine vitellogénine, connue sous le nom de protéines du jaune d'œuf spécifiques aux femelles, s'accumule dans les réserves corporelles et dans les glandes hypopharyngiennes et a un effet positif sur la longévité des ouvrières (Fluri *et al.*, 1982; Amdam *et al.*, 2004, 2005; Seehuus *et al.*, 2006, 2007). Une étude récente menée sur des ouvrières d'abeilles mellifères montre que l'activité de la télomérase et la production de l'hormone vitellogénine sont positivement corrélées à la masse corporelle et à la taille des cellules adipeuses (Koubová *et al.*, 2021). Les télomères, qui sont impliqués dans le processus de survie et de vieillissement chez les eucaryotes (Stindl et Stindl, 2010) relient les extrémités des chromosomes. Ils sont raccourcis sous l'effet du stress oxydatif et lors de la division cellulaire (von Zglinicki, 2002). Il est possible que, dans le cas d'*A. m.*

sahariensis, le stress oxydatif soit suffisamment minime pour ne pas affecter négativement son espérance de vie.

Ces résultats obtenus en conditions contrôlées ont permis, pour la première fois, de mettre en évidence certaines caractéristiques physiologiques des deux sous-espèces d'abeilles endémiques d'Afrique du Nord. Les deux sous-espèces évoluent dans deux environnements différents. *A. m. intermissa* vit dans des régions caractérisées par un climat méditerranéen, où la flore mellifère est abondante presque toute l'année. L'opulence dont bénéficie *A. m. intermissa* fait que cette sous-espèce utilise les nutriments pour favoriser une reproduction excessive (Hepburn et Radloff, 1998), tandis que l'environnement désertique d'*A. m. sahariensis* est très hostile. De plus, on peut dire que dans cet environnement, la sous-espèce *A. m. sahariensis* n'a pas intérêt à s'engager dans le développement ovarien des ouvrières, car cela pourrait représenter une perte d'énergie pour l'ensemble de la colonie. La sous-espèce *A. m. sahariensis* semble être dotée des qualités physiologiques lui permettant de faire face à un environnement hostile. De longues périodes de pénurie sont récurrentes dans le Sahara, et *A. m. sahariensis* a appris à vivre dans cet environnement. La nutrition optimale des larves ainsi que la longévité des ouvrières pourraient être une réponse à cette hostilité de la nature.

II. Effets de la chaleur sur la physiologie d'*A. m. sahariensis* et *A. m. intermissa* durant le stade nymphal et adulte.

1. Introduction

Le réchauffement climatique et ses conséquences posent d'importants défis à la fois pour l'humanité et la biodiversité. Selon les estimations du Groupe d'experts intergouvernemental sur l'évolution du climat (GIEC), le réchauffement global devrait osciller entre 1,5 °C et 4,8 °C d'ici à la fin du 21^{ème} siècle (Pachauri *et al.*, 2015). Cependant, des données récentes indiquent que ce réchauffement s'opère de manière plus rapide et plus significative que les prévisions moyennes (Xu *et al.*, 2018). Les dommages causés par le réchauffement climatique semblent résulter davantage d'épisodes de chaleur extrême que d'un réchauffement progressif de la planète (Butt *et al.*, 2015). En effet, les augmentations graduelles de la température, telles que prévues dans les scénarios de réchauffement climatique, pourraient permettre aux organismes de s'acclimater au fil du temps (Mesihovic *et al.*, 2016). Par ailleurs, les vagues de chaleur peuvent déclencher un stress thermique direct, entraînant des dommages irréversibles pour la croissance et le fonctionnement des organismes lorsque l'acclimatation à de nouvelles conditions est insuffisante (Li *et al.*, 2022 ; Kim *et al.*, 2022).

Chez l'abeille domestique, la chaleur a un effet double, exposant indirectement les abeilles domestiques au risque de famine (Walters *et al.*, 2022). Les plantes mellifères soumises à la chaleur ont moins de fleurs et présentent des structures florales morphologiquement anormales (Descamps *et al.*, 2018 ; Chen *et al.*, 2019 ; Alsamir *et al.*, 2021 ; Abdellatif *et al.*, 2022). De plus, la chaleur entrave la production de grains de pollen (Felix Amuji *et al.*, 2020 ; Hedhly *et al.*, 2020) et réduit la quantité de sucres et d'autres nutriments dans le nectar (Descamps *et al.*, 2018, 2021 ; Borghi *et al.*, 2019 ; Russell et McFrederick, 2021). La chaleur provoque également un bouleversement phénologique chez les plantes mellifères, ce qui entraîne un décalage de la floraison de sorte qu'elle ne coïncide plus avec le retour des abeilles au printemps (Forrest et Thomson, 2011). Les effets directs de la chaleur sur les abeilles sont multiples.

L'exposition à des températures élevées pendant la phase larvaire entraîne une réduction de la taille des abeilles avec une malformation des ailes antérieures (Medina *et al.*, 2018). Au stade adulte, la chaleur réduit significativement la longévité, car les abeilles soumises à la chaleur commencent leur activité de butinage à un âge précoce, accélérant ainsi les processus de mortalité (Sutton *et al.*, 2018). La chaleur altère aussi la capacité neuronale des abeilles adultes (Groh *et al.*, 2004), ce qui affecte directement leur capacité d'apprentissage (Jones *et al.*, 2005).

Avec plus de vingt-huit sous-espèces, l'abeille domestique (*Apis mellifera* L.) occupe une vaste aire géographique. L'abeille du Sahara (*A. m. sahariensis*) et l'abeille yéménite (*A. m. jemenitica*) sont des sous-espèces qui habitent naturellement les zones désertiques. Elles sont donc naturellement exposées à des périodes de chaleur intense que les autres sous-espèces connaissent peu ou pas du tout. Des travaux intéressants ont été menés sur *A. m. carnica* et *A. m. ligustica* en comparaison avec *A. m. jemenitica* pour étudier l'impact de la chaleur sur la survie et différents aspects liés à la physiologie de ces sous-espèces (Abou-Shaara *et al.*, 2012 ; Kovac *et al.*, 2014 ; Alattal et Alghamdi, 2015 ; Pettis *et al.*, 2016 ; Bordier *et al.*, 2017b ; Li *et al.*, 2022 ; Kim *et al.*, 2022). Compte tenu du réchauffement climatique mondial que connaît notre planète, ces études sont très utiles pour comprendre comment les abeilles réagissent au stress thermique. Néanmoins, afin d'avoir une vision plus large de l'effet du changement climatique sur les abeilles, il serait nécessaire d'étudier d'autres critères liés au stress thermique sur d'autres sous-espèces d'abeilles, car leurs réactions au stress thermiques varient en fonction de leur origine géographique.

Dans ce travail, nous étudions l'effet de la chaleur en conditions expérimentales sur deux sous-espèces d'abeilles endémiques en Algérie, qui évoluent dans deux environnements différents : *A. m. intermissa* sur la côte sud de la Méditerranée où les températures moyennes sont relativement douces et *A. m. sahariensis* dans un environnement saharien où les températures sont extrêmes. Dans cette étude, nous comparons les réponses physiologiques des abeilles immatures et adultes de ces deux sous-espèces soumises au stress thermique en conditions de laboratoire.

2. Matériel et méthodes

Dans cette deuxième expérience, le stress thermique a été appliqué aux abeilles pendant le stade nymphal et le stade adulte. Des températures-test correspondant à 38 °C, 39 °C et 40 °C ont été appliquées. Ces températures ont été choisies à la suite de tests préliminaires. Au-delà de 40 °C, les mortalités étaient très importantes et les quelques individus rescapés n'ont survécu que quelques heures. Une température-contrôle correspondant à 34 °C a été considérée comme témoin.

2.1 Stress thermique durant le stade nymphal

2.1.1 Conception expérimentale

Des cadres de couvain operculé des deux sous-espèces ont été prélevés de leurs colonies dans les 24h suivant l'operculation. Le couvain a été coupé en morceaux de carrés de (4 × 4 cm), ce qui correspond approximativement à 100 cellules. Un couvain de chaque sous-espèce a été soumis aux températures-test ainsi qu'à la température-contrôle. Ainsi, pour chaque sous-espèce, nous avons formé quatre lots : trois lots expérimentaux et un lot témoin. L'expérimentation a été répétée trois fois. Voir le schéma expérimental ci-dessous (**Figure 24.**) :

- **Lot 1** (C-AS-34 °C): Couvain d'*A. m. sahariensis* à 34 °C (Témoin)
- **Lot 2** (C-AS-38 °C): Couvain d'*A. m. sahariensis* à 38 °C
- **Lot 3** (C-AS-39 °C): Couvain d'*A. m. sahariensis* à 39 °C
- **Lot 4** (C-AS-40 °C): Couvain d'*A. m. sahariensis* à 40 °C
- **Lot 5** (C-AT-34 °C): Couvain d'*A. m. intermissa* à 34 °C (Témoin)
- **Lot 6** (C-AT-38 °C): Couvain d'*A. m. intermissa* à 38 °C
- **Lot 7** (C-AT-39 °C): Couvain d'*A. m. intermissa* à 39 °C
- **Lot 8** (C-AT-40 °C): Couvain d'*A. m. intermissa* à 40 °C

2.1.2 Conduite de l'essai

Le nombre de cellules operculées de chaque morceau de couvain a été préalablement compté, Chaque couvain a été maintenu dans son orientation verticale naturelle dans une cagette de type Pain. Chaque lot a été maintenu dans une étuve à l'obscurité selon la température du traitement avec une humidité relative constante de 70% HR.

Afin d'éviter le choc thermique des nymphes à 38, 39 et 40 °C, les étuves ont été réglées d'abord à 34 °C et par la suite, nous avons augmenté progressivement la température de 0,5 °C toutes les 30 minutes, jusqu'à atteindre la température souhaitée. L'incubation a été menée sur une période de 10 jours, durant laquelle nous avons compté quotidiennement le nombre d'abeilles émergées. Les abeilles émergentes de chaque lot ont été pesées. Ensuite, nous avons extrait leur hémolymphe et disséqué leurs glandes hypopharyngiennes.

2.1.3 Evaluation du taux d'émergence

Le taux d'émergence est exprimé en pourcentage des abeilles naissantes par rapport au nombre initial des cellules operculées après 10 jours d'incubation.

$$TE \% = \frac{NTE * 100}{NIC}$$

TE % = Taux d'émergence

NTE = Nombre total d'abeilles émergentes

NIC = Nombre initial des cellules

2.2 Stress thermique durant le stade adulte

2.2.1 Conception expérimentale

Le schéma expérimental ainsi que le nombre de répétitions sont les mêmes que précédemment, sauf qu'à la place du couvain, nous avons utilisé des abeilles adultes. Le dispositif expérimental correspond au schéma suivant (**Figure 24.**).

- **Lot 1** : Ouvrières d'*A. m. sahariensis* à 34 °C (témoin)
- **Lot 2** : Ouvrières d'*A. m. sahariensis* à 38 °C
- **Lot 3** : Ouvrières d'*A. m. sahariensis* à 39 °C
- **Lot 4** : Ouvrières d'*A. m. sahariensis* à 40 °C
- **Lot 5** : Ouvrières d'*A. m. intermissa* à 34 °C (témoin)
- **Lot 6** : Ouvrières d'*A. m. intermissa* à 38 °C
- **Lot 7** : Ouvrières d'*A. m. intermissa* à 39 °C
- **Lot 8** : Ouvrières d'*A. m. intermissa* à 40 °C

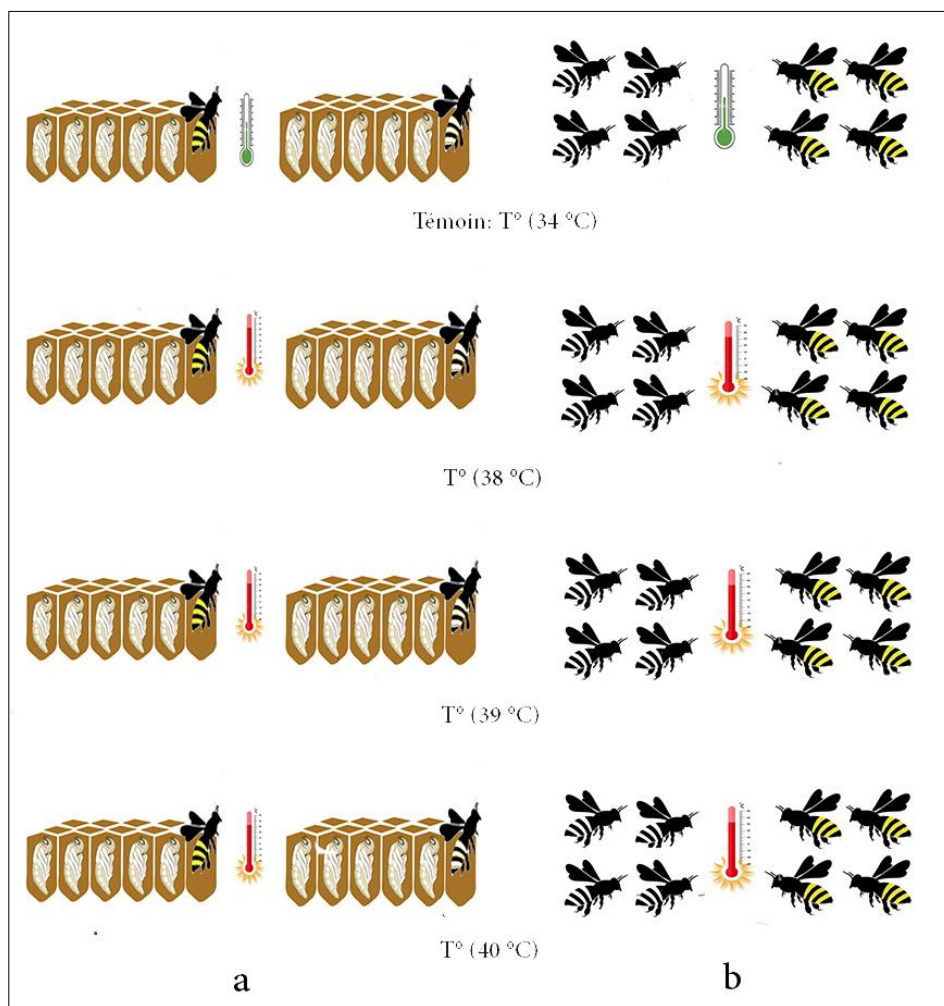


Figure 24. Schéma représentatif du dispositif expérimental de l'essai 02. **a** : stress thermique durant le stade nymphal, **b** : stress thermique durant

Les échantillons d'abeilles ont été utilisés pour le prélèvement de l'hémolymphe et des glandes hypopharyngiennes. Les abeilles du deuxième essai ont servi également à évaluer leur développement ovarien. Pour le dosage des protéines de l'hémolymphe, l'évaluation du développement des glandes hypopharyngiennes et des ovaires, la procédure est la même que celle appliquée dans l'expérience I.

2.3 Analyses statistiques

L'analyse des données a été réalisée à l'aide du logiciel IBM SPSS Statistics 28.0.0.0. Les résultats ont été exprimés en (moyenne \pm erreur standard). Pour le test de stress thermique chez les nymphes, nous avons effectué une analyse de variance à deux facteurs (Température et Sous-espèce) avec le test post-hoc de Tukey HSD pour le poids

des abeilles, la concentration en protéines et le développement des glandes hypopharyngiennes. Pour l'essai de stress thermique chez les adultes, nous avons réalisé une analyse de variance à trois facteurs (Température, Sous-espèce et Âge) avec le test post-hoc de Tukey HSD pour la concentration en protéines et le développement des glandes hypopharyngiennes. Avant de réaliser l'ANOVA, la normalité a été vérifiée à l'aide du test de Kolmogorov-Smirnov. Un test du Chi2 avec le test exact de Fisher, lorsque le nombre théorique est < 5 , a été effectué pour étudier la dépendance du développement ovarien par rapport à la sous-espèce et à la température. La survie a été analysée à l'aide de l'estimateur de survie de Kaplan-Meier et le test de Gehan-Wilcoxon a été réalisé pour déterminer les différences (Il convient de noter que dans l'analyse de survie de cette expérience, les abeilles retirées aux jours 7, 14 et 21 n'ont pas été considérées comme des abeilles mortes).

3. Résultats

3.1 Stress thermique pendant le stade nymphal

3.1.1 Taux d'émergence

Le taux d'émergence (**TE**) est influencé par la sous-espèce ($F_{1,64} = 1753,12 ; p < 0,001$), la température ($F_{3,64} = 10907,48 ; p < 0,001$) et par leurs interactions ($F_{3,64} = 94,64 ; p < 0,001$). Le (TE) le plus élevé est enregistré à 34 °C, soit $98,55 \pm 0,44\%$ pour *A. m. sahariensis* et $96,96 \pm 0,88\%$ pour *A. m. intermissa* ($p < 0,001$).

À 38 °C, une réduction importante et significative ($p < 0,001$) du (TE) est enregistrée chez les deux sous-espèces, soit une réduction de 36% chez *A. m. sahariensis* et 92% chez *A. m. intermissa*. Toutefois, le (TE) est significativement plus élevé chez *A. m. sahariensis* que chez *A. m. intermissa* ($p < 0,001$). La température de 39 °C se révèle létale pour le couvain d'*A. m. intermissa*, tandis que pour *A. m. sahariensis*, nous avons enregistré un taux d'émergence de $13,82 \pm 0,69\%$ ($p < 0,001$). À 40 °C, le couvain d'*A. m. sahariensis* ne survit pas (**Figure 25.**).

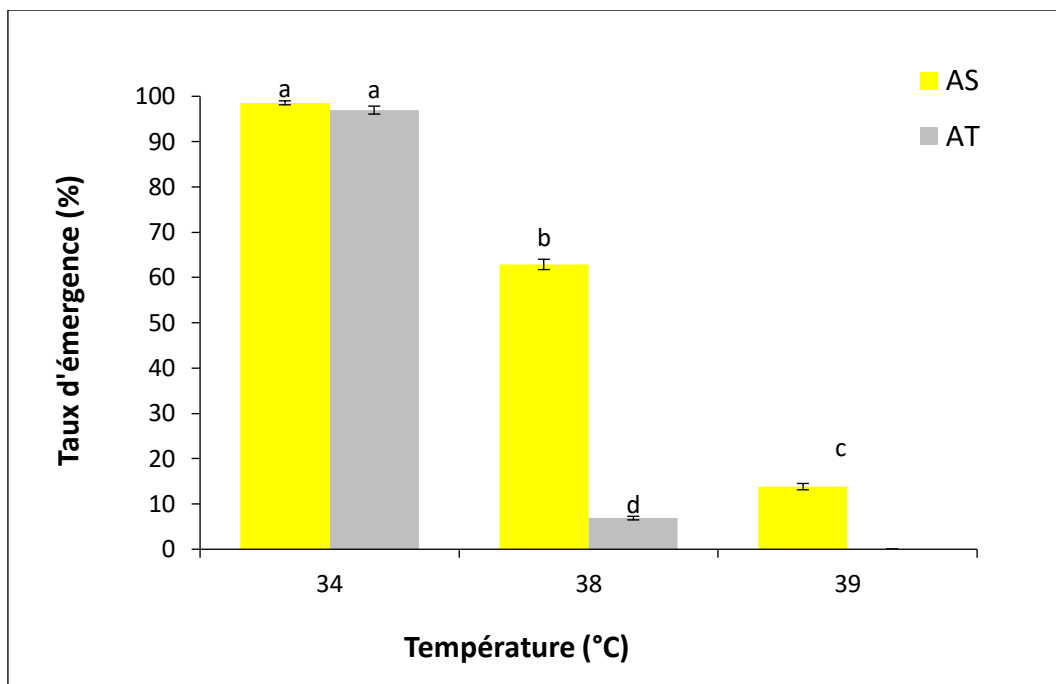


Figure 25. Taux d'émergence (moyenne \pm SE) des abeilles après 10 jours d'incubation à 34 °C, 38 °C, 39 °C et 40 °C. AS: *A. m. sahariensis*, AT: *A. m. intermissa*. Il n'y a pas de différence significative entre les barres ayant la même lettre ($p > 0,05$).

3.1.2 Poids des abeilles à la naissance

Le poids des abeilles naissantes est influencé par la sous-espèce ($F_{1,32} = 1676,12 ; p < 0,001$), la température ($F_{3,32} = 1948,18 ; p < 0,001$) et par leurs interactions ($F_{3,32} = 295,35 ; p < 0,00$).

Le poids moyen d'*A. m. sahariensis* est significativement plus élevé que celui d'*A. m. intermissa* ($p < 0,001$), soit respectivement ($1,32 \pm 0,02$ mg et $0,94 \pm 0,01$ mg) à 34 °C et ($1,17 \pm 0,01$ mg et $0,65 \pm 0,02$ mg) à 38 °C. Le poids des abeilles naissantes d'*A. m. intermissa* est plus affecté par l'augmentation de la température que celui d'*A. m. sahariensis*. L'augmentation de la température de 34 °C à 38 °C, entraîne une chute significative du poids, soit une réduction de 11,32% et 31% chez *A. m. sahariensis* et *A. m. intermissa* respectivement ($p < 0,001$). Aussi, l'augmentation de la température de 34 °C à 39 °C entraîne une réduction de poids d'ordre de 28,70% (**Figure 26.**).

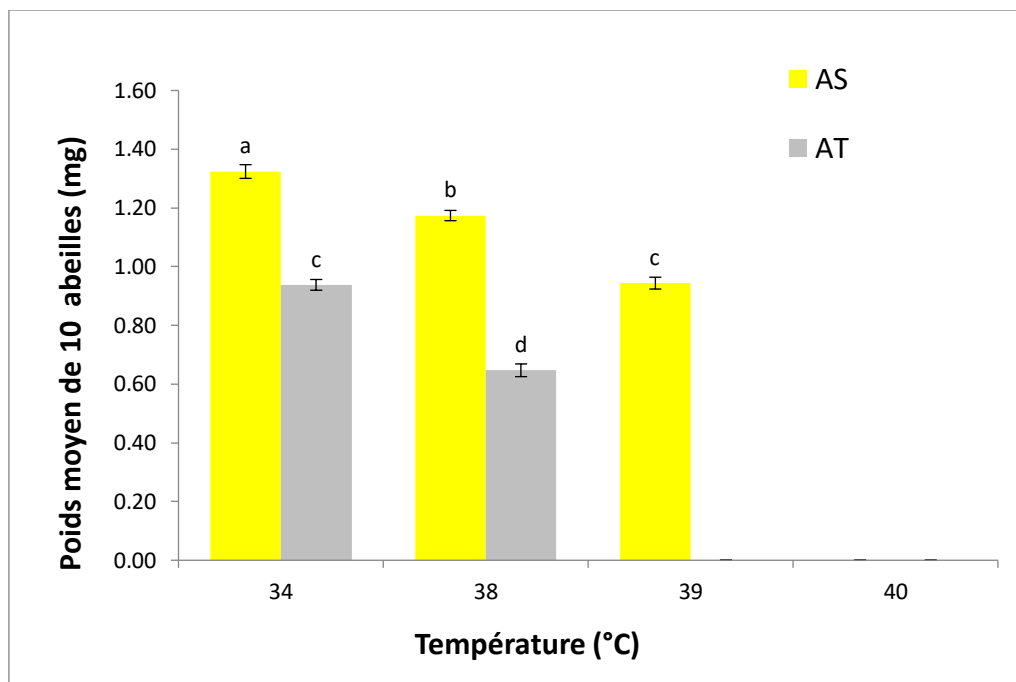


Figure 26. Poids de dix abeilles (moyenne \pm SE) à l'émergence après exposition à (34°C, 38 °C, 39 °C et 40 °C) durant le stade nymphal. AS : *A. m. sahariensis*, AT : *A. m. intermissa*. Il n'y a pas de différence significative entre les barres ayant la même lettre ($p > 0,05$).

3.1.3 La teneur en protéines de l'hémolymph

La teneur en protéines de l'hémolymph (PH) est influencée par la température ($F_{3, 16} = 3429,57$; $p < 0,001$), la sous-espèce ($F_{3, 32} = 642,73$; $p < 0,001$) et leurs interactions ($F_{3, 32} = 1359,57$; $p < 0,001$).

La teneur en PH chez *A. m. intermissa* est significativement plus élevée qu'*A. m. sahariensis* ($p < 0,001$), soit respectivement ($7,85 \pm 0,17 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ et $6,44 \pm 0,09 \mu\text{g}/\mu\text{l}$) à 34 °C et ($15,09 \pm 0,05 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ et $4,9 \pm 0,02 \mu\text{g}/\mu\text{l}$) à 38 °C.

Chez *A. m. intermissa*, la température de 38 °C entraîne une augmentation de 92% de la teneur de PH par rapport au témoin ($p < 0,001$). A l'inverse, chez *A. m. sahariensis*, les températures 38 et 39 °C entraînent une réduction significative de 23,91% et 44,66% par rapport au témoin ($p < 0,001$) (**Figure 27.**).

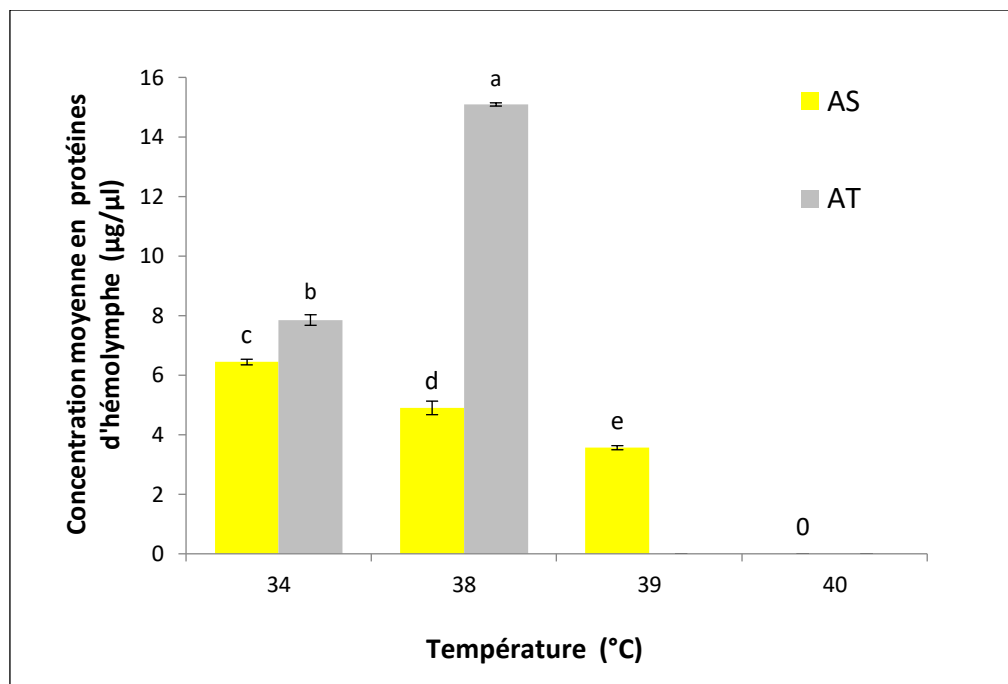


Figure 27. Concentration en protéines d'hémolymphe (moyenne \pm SE) à l'émergence après exposition à 34 °C, 38 °C, 39 °C et 40 °C durant le stade nymphal. AS : *A. m. sahariensis*, AT : *A. m. intermissa*. Il n'y a pas de différence significative entre les barres ayant la même lettre ($p > 0,05$).

3.1.4 Développement des glandes hypopharyngiennes (GHP)

Le développement des glandes hypopharyngiennes (GHP) est influencé par la température ($F_{3,32} = 1365$; $p < 0,001$), la sous-espèce ($F_{1,32} = 632,06$; $p < 0,001$) et leurs interactions ($F_{3,32} = 93,13$; $p < 0,001$).

Le développement maximal des GHP est obtenu à 34 °C. GHP sont significativement plus développées chez *A. m. sahariensis* que chez *A. m. intermissa*, soit $15,91 \pm 0,3 \mu\text{m}^2 \cdot 10^3$ et $11,84 \pm 0,25 \mu\text{m}^2 \cdot 10^3$ ($p < 0,001$). Le développement des GHP chez *A. m. intermissa* est plus affecté par l'augmentation de la température que chez *A. m. sahariensis*.

L'augmentation de la température de 34 °C à 38 °C entraîne une chute significative de la surface des acinis des GHP, soit une réduction de 30,77% chez *A. m. sahariensis* et 46,41% chez *A. m. intermissa* ($p < 0,001$). Chez *A. m. sahariensis*, à 39 °C, la réduction de la surface des acinis des GHP est de l'ordre de 52% ($p < 0,001$) (**Figure 28.**)

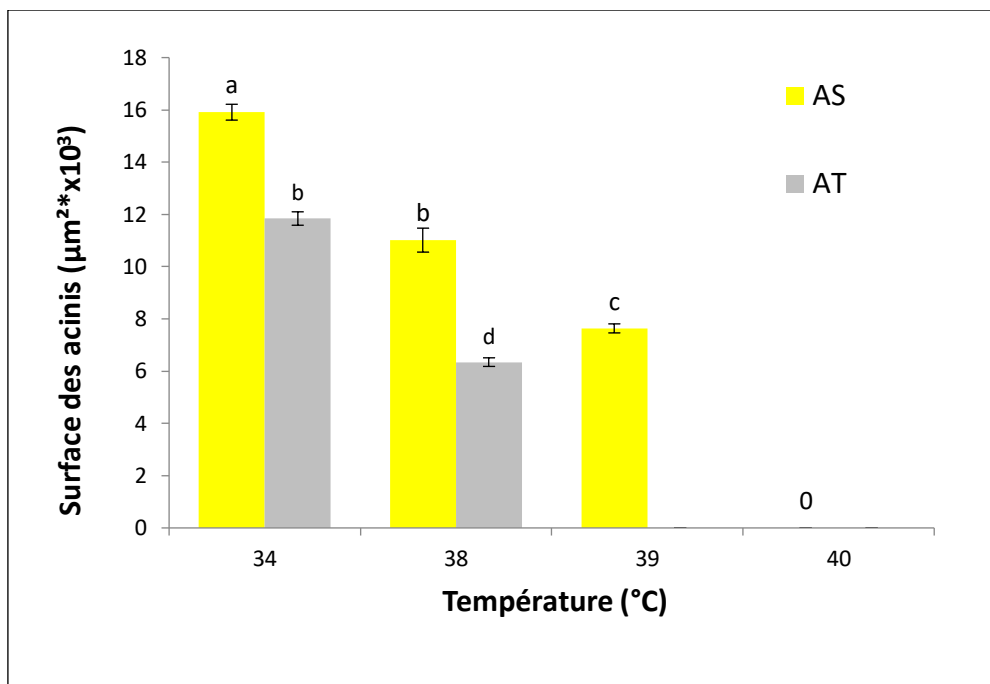


Figure 28. Surface des acinini des hypopharyngiennes (moyenne \pm SE) à l'émergence après exposition à 34 °C, 38 °C, 39 °C et 40 °C, durant le stade nymphal. AS : *A. m. sahariensis*, AT : *A. m. intermissa*. Il n'y a pas de différence significative entre les barres ayant la même lettre ($p > 0,05$).

3.2 Stress thermique chez les ouvrières adultes

3.2.1 Consommation journalière d'eau, de sirop et de pollen

La consommation d'eau est plus élevée aux hautes températures : elle est 10 fois plus à 40 °C qu'à 34 °C chez les deux sous-espèces. Néanmoins, *A. m. intermissa* consomme plus d'eau qu'*A. m. sahariensis* ; cette consommation s'élève avec l'augmentation de la température. A l'inverse, chez *A. m. sahariensis*, la consommation d'eau est relativement stable à 38 °C, 39 °C et 40°C. Le sirop est moins consommé à 38 °C, 39 °C et 40 °C par rapport à 34 °C. Chez *A. m. sahariensis* la quantité du sirop consommé diminue avec l'augmentation de la température. Cependant, chez *A. m. intermissa*, la consommation du sirop est la même à 38 °C, 39 °C et à 40°C. La consommation du pollen à 34 °C est plus élevée chez *A. m. intermissa* que chez *A. m. sahariensis*. Au-delà de 34 °C, *A. m. intermissa* consomme moins de pollen, cette consommation est d'autant moins avec l'augmentation de température. Chez *A. m. sahariensis*, la consommation du sirop est la même à 38 °C, 39 °C et 40 °C (**Tableau 4.**)

L'analyse des corrélations entre les variables (eau, sirop et pollen) a révélé l'existence d'une corrélation négative et significative entre l'eau et le sirop ($r=-0,469, p = 0,006$), cela veut dire qu'en réponse à l'augmentation de température, *A. m. sahariensis* diminue sa consommation de sirop tout en augmentant la consommation d'eau. En revanche, chez *A. m. intermissa* cette corrélation n'existe pas, mais plutôt, il existe une corrélation négative significative entre l'eau et le pollen ($r=-0,843, p = 0,000$), cela veut dire qu'en réponse à l'augmentation de température, *A. m. intermissa* consomme moins de pollen tout en augmentant la consommation d'eau (**Tableau 5.**)

Tableau 4. Consommation moyenne de (pollen, sirop et eau) donnée pour (abeille/jour). Chez les ouvrières *A. m. sahariensis* et *A. m. intermissa* élevées à 34 °C, 40 °C, 39 °C et 40 °C.

Température (°C)	Sous-espèces	Consommation (moyenne ± SD)		
		Pollen (mg)	Sirop (µl)	Eau (µl)
34 °C	<i>A. m. sahariensis</i>	2,13 ± 0,61	21,04 ± 3,96	8,82 ± 1,30
	<i>A. m. intermissa</i>	2,62 ± 0,33	17,63 ± 2,19	4,34 ± 0,80
38 °C	<i>A. m. sahariensis</i>	2,38 ± 0,56	3,34 ± 1,48	27,37 ± 3,32
	<i>A. m. intermissa</i>	1,74 ± 0,42	12,10 ± 1,14	31,24 ± 1,57
39 °C	<i>A. m. sahariensis</i>	2,09 ± 0,49	6,72 ± 1,14	30,87 ± 2,62
	<i>A. m. intermissa</i>	0,61 ± 0,42	13,77 ± 3,84	49,45 ± 6,89
40 °C	<i>A. m. sahariensis</i>	1,69 ± 0,72	10,69 ± 1,58	53,92 ± 4,14
	<i>A. m. intermissa</i>	0,71 ± 0,53	9,62 ± 3,2	55,29 ± 10,94

Tableau 5. Résultats matrice de corrélation de *Person* de consommation (eau, sirop et pollen) à un seuil de signification de 5%.

Sous-espèces	Eau		Sirop		Pollen	
	<i>r</i>	<i>Sig</i>	<i>r</i>	<i>Sig</i>	<i>r</i>	<i>Sig</i>
<i>A. m. sahariensis</i>	Eau	1	-0,469	$p = 0,006^{**}$	0,103	$p = 0,301$
	Sirop	-0,469	$p = 0,006^{**}$	1	1,32	$p = 0,251$
	Pollen	0,103	$p = 0,301$	1,32	$p = 0,251$	1
<i>A. m. intermissa</i>	Eau	1	0,05	$p = 0,401$	-0,843	$p = 0,000^{***}$
	Sirop	0,05	$p = 0,401$	1	0,104	$p = 0,300$
	Pollen	-0,843	$p = 0,000^{***}$	0,104	$p = 0,300$	1

***r* : Coefficient de corrélation**

***Sig* : Signification**

3.2.2 Protéines

La teneur en protéines de l'hémolymphe (PH) est influencée par la sous-espèce ($F_{1, 192} = 563,67 ; p < 0,001$), la température ($F_{3, 192} = 5603,85 ; p < 0,001$) et l'âge ($F_{2, 192} = 39999,45 ; p < 0,001$). Ainsi que les interactions, sous-espèce x températures ($F_{3, 192} = 304,14 ; p < 0,001$), sous-espèce x âge ($F_{2, 192} = 152,64 ; p < 0,001$), température x âge ($F_{6, 192} = 1919,11 ; p < 0,001$), sous-espèce x températures x âge ($F_{2, 192} = 235,30 ; p < 0,001$).

A 7 jours, *A. m. intermissa* avait une teneur en PH significativement plus élevée qu'*A. m. sahariensis* ($p < 0,001$). Chez *A. m. intermissa*, la teneur en PH est identique à 38, 39 et 40 °C ($p > 0,05$) et elle est significativement plus élevée par rapport au témoin ($p < 0,001$). Chez *A. m. sahariensis*, la teneur en PH à 38 °C est significativement inférieure par rapport au témoin ($p < 0,001$) et elle est identique à celle enregistrée à 39 °C et 40 °C. Chez les groupes qui ont survécu jusqu'aux 14 et 21^{ème} jours, la teneur en PH a diminué considérablement par rapport aux abeilles âgées de 7 jours ($p < 0,001$). Toutefois, la teneur en PH est significativement plus élevée chez *A. m. intermissa* que chez *A. m. sahariensis* ($p < 0,001$) (**Figure 29.**)

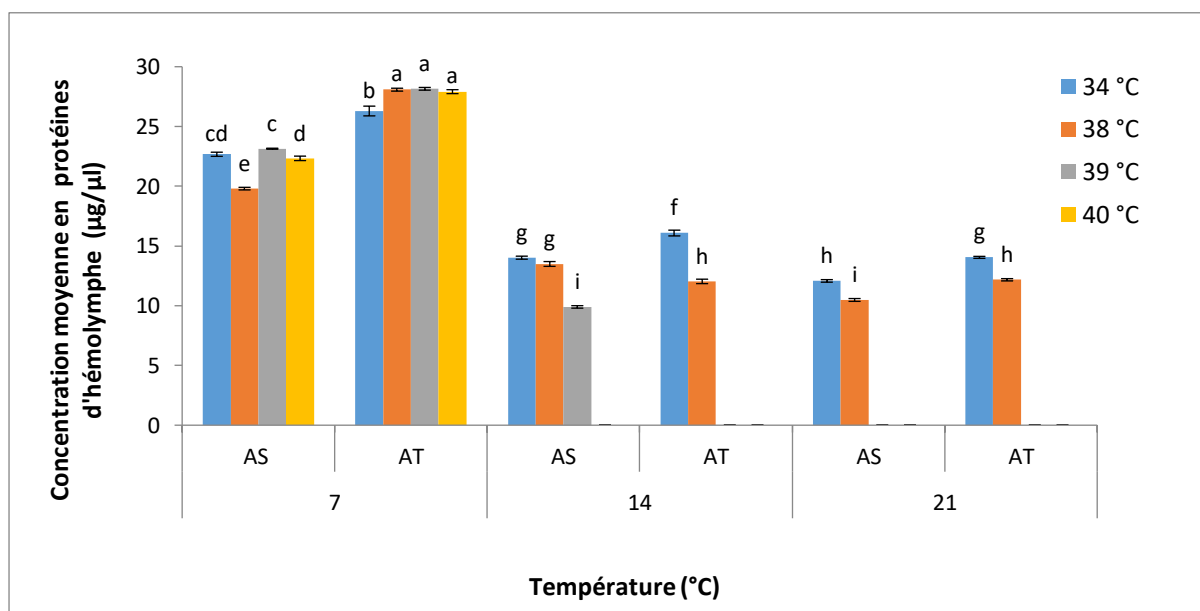


Figure 29. Concentration de protéines d'hémolymphe (moyenne \pm SE) à 7, 14 et 21 jours, des ouvrières élevées à 34 °C, 38 °C, 39 °C et 40 °C). AS : *A. m. sahariensis*, AT : *A. m. intermissa*. Il n'y a pas de différence significative entre les barres ayant la même lettre ($p > 0,05$).

3.2.2.1 Développement des glandes hypopharyngiennes (GHP)

Le développement des glandes hypopharyngiennes GHP est influencée par la sous-espèce ($F_{1,696} = 3133,043$; $p < 0,001$), la température ($F_{3,696} = 1598,475$; $p < 0,001$) et l'âge ($F_{2,696} = 9956,038$; $p < 0,001$). Ainsi que les interactions, sous-espèce x températures ($F_{3,696} = 384,613$; $p < 0,001$), sous-espèce x âge ($F_{2,696} = 660,435$; $p < 0,001$), température x âge ($F_{6,696} = 1006,614$; $p < 0,0001$) et sous-espèce x températures x âge ($F_{2,192} = 235,30$; $p < 0,001$) (**Figure 30**).

À 7 jours, les glandes hypopharyngiennes (GHP) sont significativement plus développées à 38 °C, 39 °C et 40 °C qu'à 34 °C chez *A. m. intermissa* ($p < 0,001$). En revanche, ce stress thermique ne semble pas avoir d'effet sur les GHP d'*A. m. sahariensis* ($p > 0,05$). Cependant, à cet âge, les GHP d'*A. m. sahariensis* se révèlent plus développées que celles d'*A. m. intermissa*, indépendamment de la température ($p < 0,001$).

A l'âge de 14 jours, les deux sous-espèces avaient les GHP significativement moins développées qu'à 7 jours ($p < 0,001$). Toutefois, *A. m. sahariensis* possède des GHP significativement plus développées qu'*A. m. intermissa* ($p < 0,001$). Chez les groupes d'abeilles qui ont survécu jusqu'à 21 jours, les GHP sont significativement moins développées par rapport à 14 jours chez *A. m. sahariensis* et chez qu'*A. m. intermissa* à 38 °C ($p < 0,001$). On note aussi à ce niveau d'âge que même à 38 °C, *A. m. sahariensis* avait des GHP significativement plus développées qu'*A. m. intermissa* à 34 °C ($p < 0,001$).

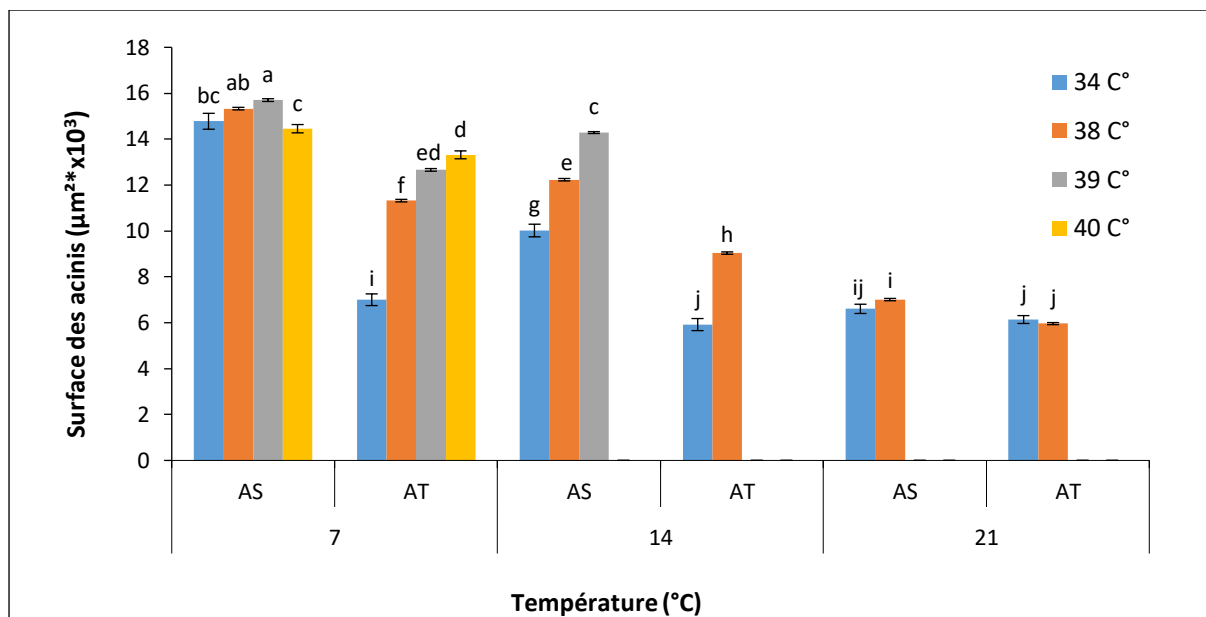


Figure 30. Surface des acinis des glandes hypopharyngiennes (moyenne \pm SE) à 7, 14 et 21 jours, des ouvrières élevées à 34 °C, 38 °C, 39 °C et 40 °C. AS : *A. m. sahariensis*, AT : *A. m. intermissa*. Il n'y a pas de différence significative entre les barres ayant la même lettre ($p > 0,05$).

3.2.3 Développement ovarien

Le développement ovarien est significativement plus important chez les abeilles à 34 °C ; l'augmentation de la température entraîne une réduction du pourcentage de développement ovarien chez les deux sous-espèces. Les résultats du test de Chi2 indiquent la dépendance du développement ovarien à la température ($\chi^2(3) = 19,68 ; p < 0,001$). Indépendamment de la température, le développement ovarien est plus important chez *A. m. intermissa* que chez *A. m. sahariensis*. Cependant, le résultat du test de Chi2 indique que la dépendance du développement ovarien de la sous-espèce est statistiquement significative à 34 °C ($\chi^2_{(1)} = 4,80 ; p = 0,028$) (**Figure 31.**)

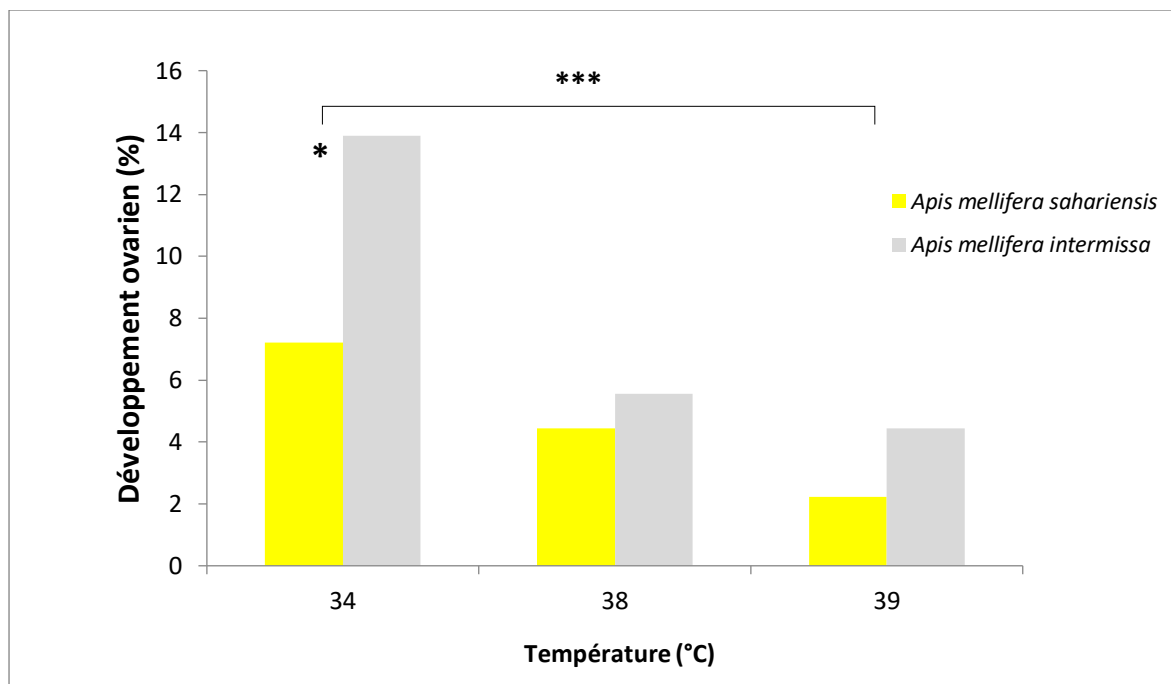


Figure 31. Taux de développement ovarien chez les ouvrières d'*A. m. sahariensis* et *A. m. intermissa*, élevées à 34 °C, 38°C, 39 °C et 40 °C. L'astérisque indique la signification du test du Chi2 (χ^2) à un niveau de signification de p -value < 0,05.

3.2.4 Survie

Indépendamment de la sous-espèce, la survie des abeilles à 34 °C est significativement plus importante qu'à 38 °C, 39 °C et 40 °C (Gehan-Wilcoxon-test, $p < 0,0001$). Chez *A. m. intermissa*, l'augmentation de température de 34 °C à 38 °C, 39 °C et 40 °C a réduit la moyenne de sa survie de 3%, 9% et 12% respectivement. Chez *A. m. sahariensis*, l'augmentation de la température de 34 °C à 38 °C, 39 °C, 40 °C a réduit la moyenne de sa survie de 11%, 21% et 26% respectivement. Toutefois, dans les 03 gradients de température, *A. m. sahariensis* avait un taux de survie plus important que celui enregistré chez *A. m. intermissa* (Gehan-Wilcoxon-test, $p < 0,0001$) (**Figure 32, Tableau 6**).

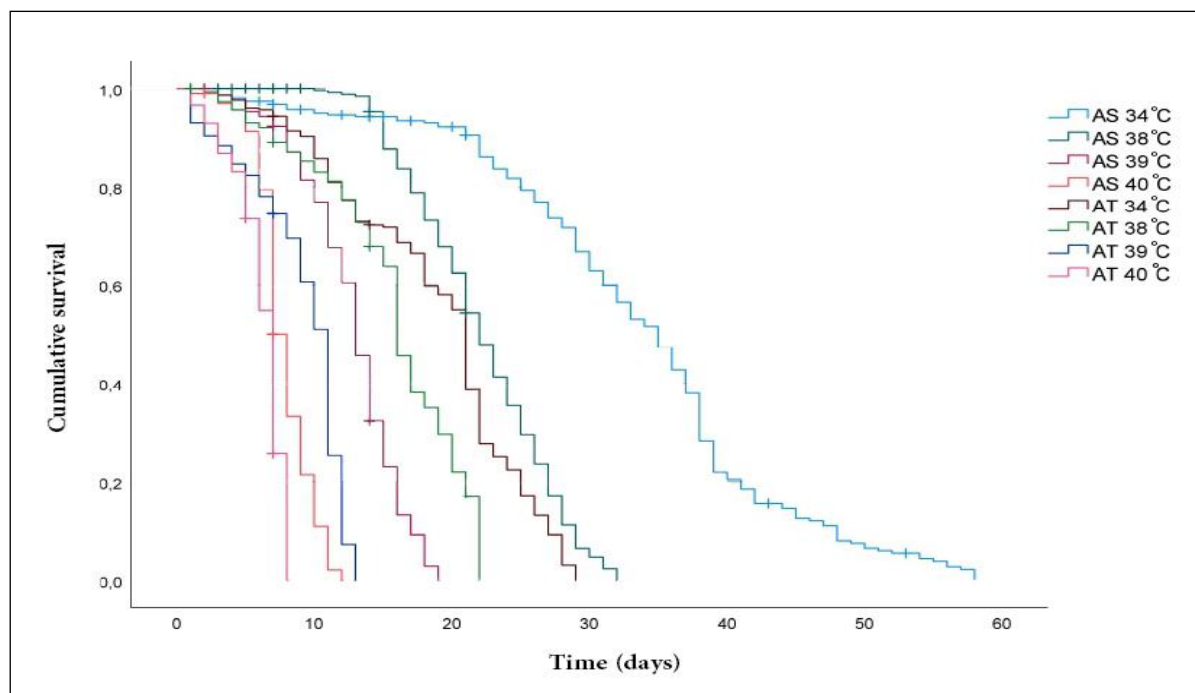


Figure 32. Courbes de survie de Kaplan-Meier des ouvrières d'*A. m. sahariensis* et *A. m. intermissa*, élevées à 34 °C, 38 °C, 39 °C et 40 °C.

Tableau 6. Estimation de Kaplan-Meier à (IC à 95%) de survie moyenne des ouvrières d' *A. m. sahariensis* et *A. m. intermissa* élevées à 34 °C, 38 °C, 39 °C et 40 °C. Les lettres indiquent les résultats du test de Gehan-Wilcoxon, Les valeurs avec la même lettre ne sont pas significativement différentes ($p > 0,05$).

Temperature (°C)	Survie (moyenne ± SD)	
	<i>A. m. sahariensis</i>	<i>A. m. intermissa</i>
34 °C	33,57 ± 0,72 a	18,88 ± 0,40 c
38 °C	22,18 ± 0,18 b	15,72 ± 0,31 d
39 °C	12,78 ± 0,21 e	9,05 ± 0,20 f
40 °C	7,79 ± 0,11 g	6,13 ± 0,10 h

4. Discussion

Les mécanismes de tolérance à la chaleur sont des facteurs clés pour la survie des abeilles dans des conditions de stress thermique (Zhao *et al.*, 2021). Les sous-espèces d'abeilles peuvent présenter différents niveaux d'adaptation et d'altération (Alqarni 2020; Souza-Junior *et al.*, 2020). Dans cette étude, nous étudions l'effet de la chaleur sur certains critères physiologiques et comportementaux chez *A. m. sahariensis* et *A. m. intermissa*, dans les stades nymphale et adulte.

Effet de la chaleur pendant le stade nymphal

Le couvain d'abeille domestique ne peut survivre et se développer qu'à une fourchette de températures étroite allant de 33 à 36 °C (Seeley, 1985; Petz *et al.*, 2004), les températures en dehors de cette plage sont donc préjudiciables. Notre expérience a montré qu'une température de 38 °C et plus entraîne une réduction significative du taux d'émergence et du poids des abeilles des deux sous-espèces. Cependant, le couvain d'*A. m. sahariensis* semble moins affecté que celui d'*A. m. intermissa*.

Dans les conditions naturelles, en cas de forte chaleur et pour éviter le dessèchement du couvain, les abeilles augmentent l'effectif des récolteuses d'eau (Bordier *et al.*, 2017a). Ces abeilles recueillent de l'eau et distribuent de petites gouttes d'eau à l'intérieur de la ruche et sur les parois des alvéoles contenant des œufs ou des larves (Southwick et Heldmaier, 1987). Dans notre cas, la modélisation de cet essai ne reflète pas véritablement les conditions normales dans lesquelles le couvain des deux sous-espèces évolue dans leurs colonies respectives. En effet, ici les nymphes sont isolées des ouvrières et ne bénéficient donc pas de l'action thermorégulatrice de ces dernières. Dans les mêmes conditions expérimentales, la différence dans le taux d'émergence entre *A. m. sahariensis* et *A. m. intermissa* pourrait être liée aux caractéristiques intrinsèques de ces deux sous-espèces. Il est à noter qu'à la naissance, *A. m. sahariensis* pèse plus lourd qu'*A. m. intermissa*. Cette différence de poids pourrait être due aux réserves en eau des nymphes ou à une masse grasseuse plus importante susceptible de jouer un rôle important dans la résistance au stress thermique. On ne peut pas exclure également l'hypothèse qu'*A. m. sahariensis* possède plusieurs gènes de résistance à la chaleur.

Effet de la chaleur sur les abeilles adultes

En situation de stress thermique, les deux sous-espèces ont réagi différemment au niveau de leur alimentation. *A. m. intermissa* a augmenté sa consommation d'eau et de sirop au fur et à mesure que la température augmente, alors qu'*A. m. sahariensis* a maintenu une consommation constante. *A. m. intermissa* semble privilégier la nourriture liquide (eau et sirop) au détriment de la nourriture solide (pollen), tandis qu'*A. m. sahariensis* ne semble pas être affectée par le stress thermique puisqu'elle s'est nourrie normalement.

En cas de forte chaleur, la consommation d'eau est une réponse commune chez tous les êtres vivants. Les abeilles augmentent leur consommation d'eau en fonction de la température, pour pouvoir soulager l'hyperthermie par évaporation. Nous avons remarqué que *A. m. sahariensis* n'augmente pas sa consommation d'eau avec l'augmentation de la température. Dans les conditions naturelles, les butineuses de cette sous-espèce doivent parcourir de longues distances dans des zones arides à la recherche de nourriture, ce qui pourrait suggérer que cette sous-espèce a développé des capacités physiologiques lui permettant de limiter l'évaporation de leur eau corporelle. D'après Gibbs (1998), les insectes sont capables de résister aux hautes températures en raison des caractéristiques de leur tégument. Les lipides forment une barrière contre l'évaporation d'eau grâce à leur propriété hydrofuge. Il est donc possible qu'*A. m. sahariensis* ait un profil cuticulaire différent de l'*A. m. intermissa*, ce qui pourrait expliquer cette différence dans la consommation d'eau.

Dans une expérience menée sur l'effet combiné de l'insecticide flupyradifurone (FPF, Sivanto®) et du stress nutritionnel sur la thermorégulation des abeilles, les chercheurs ont constaté une hypothermie chez les abeilles nourries avec un nectar pauvre en sucre (Tong *et al.*, 2019). Bien que notre expérience n'ait pas été menée dans les mêmes circonstances, nous avons constaté qu'*A. m. sahariensis* consommait moins de sirop qu'*A. m. intermissa*, ce qui peut probablement suggérer que *A. m. sahariensis* régulait sa consommation de sucre pour éviter l'hypothermie.

Dans les mêmes conditions de stress, *A. m. intermissa* a augmenté sa consommation d'eau pour pouvoir lutter contre la chaleur, mais a consommé peu de pollen par rapport à *A. m. sahariensis*. Ceci semble paradoxal car, des valeurs de protéines hémolympatiques plus élevées sont enregistrées chez *A. m. intermissa*, alors qu'il est bien établi qu'un régime pauvre en protéines a un effet négatif sur la concentration des protéines hémolympatiques chez les abeilles (El Mohandes *et al.*, 2010). Cela signifie que l'augmentation des protéines de l'hémolymphe chez *A. m. intermissa* provient d'autres facteurs. Nous suggérons deux hypothèses.

Premièrement, nous supposons que dans des conditions de stress thermique, *A. m. intermissa* a perdu plus d'eau que *A. m. sahariensis*, ce qui augmente par conséquent la concentration des composants de l'hémolymphe, y compris les protéines.

Deuxièmement, nous supposons que cette augmentation de protéines chez *A. m. intermissa* est due à l'expression de gènes codant pour des protéines sous choc thermique. En effet, plusieurs études ont montré que le stress thermique induit l'expression de certains gènes de protéines de choc thermique (HSP) chez l'abeille domestique (Severson *et al.*, 1990; Liu *et al.*, 2012, 2014; Zhang *et al.*, 2014; McAfee *et al.*, 2020), ces protéines jouent un rôle protecteur dans les cellules contre le stress induit par la chaleur et contribuent à améliorer leur pouvoir antioxydant (Li *et al.*, 2020). En outre, l'induction des protéines de choc thermique n'a lieu que si la température est préjudiciable à l'abeille.

Dans des conditions de stress thermique, *A. m. sahariensis* avait une concentration plus faible de protéines hémolympatiques par rapport à *A. m. intermissa*, ce qui suggère probablement que *A. m. sahariensis* est plus résistante à la chaleur avec une moindre expression des protéines de choc thermique. Ce résultat est en accord avec ceux d'Alqarni *et al.*, (2019) qui ont montré que les abeilles indigènes des régions chaudes sont plus tolérantes à la chaleur avec une expression plus faible des protéines de choc thermique que les autres sous-espèces d'abeilles.

Les protéines sont essentielles au développement des GHP (Pernal et Currie, 2000; DeGrandi-Hoffman *et al.*, 2010; Lan *et al.*, 2021). Les abeilles déficientes en pollen ou nourries avec du pollen pauvre en protéines présentent des GHP moins développées (Crailsheim et Stolberg, 1989; Khedidji *et al.*, 2022). Le stress thermique a également eu un effet négatif sur le développement des GHP, car nous avons trouvé une réduction significative des GHP dans les deux sous-espèces soumises à une forte chaleur. Cependant, ces GHP étaient plus développés chez *A. m. sahariensis* que chez *A. m. intermissa*. En effet, dans des conditions de stress thermique, *A. m. intermissa* consomme moins de pollen que *A. m. sahariensis*, ce qui pourrait être à l'origine d'une carence en protéines chez *A. m. intermissa*, expliquant probablement la réduction de la taille des acini des GHP. Cela pourrait suggérer que la chaleur a un effet indirect sur les GHP en provoquant des problèmes d'assimilation des protéines chez les abeilles stressées par la chaleur.

Nous avons constaté aussi que la chaleur affecte le développement ovarien des ouvrières. Selon Lin et Winston (1998), le développement optimum des ovaires des

abeilles orphelines est enregistré à 34 °C, alors qu'aucun développement n'est enregistré à des températures basses (20 °C et 27 °C). À notre connaissance, l'effet des hautes températures sur le développement des ovaires chez les abeilles orphelines n'a jamais été étudié. Dans cette étude, nous avons montré que chez les ouvrières des deux sous-espèces, les ovaires sont plus développés à 34 °C, ce qui confirme les résultats de Lin et Winston (1998), et ils sont moins développés dans le cas d'un stress thermique. Cependant, le mécanisme par lequel la chaleur affecte le développement ovarien des ouvrières n'est pas clair. Il est possible que le stress thermique agisse soit négativement en réduisant l'assimilation des protéines nécessaires au développement ovarien, soit en affectant directement la quantité de pollen consommée, comme cela est montré chez l'*A. m. intermissa*. En outre, Pirk et al., (2010) ont montré que le développement ovarien est plus important chez les ouvrières nourries avec un régime riche en glucose. Dans notre étude, nous avons constaté que dans des conditions de stress thermique, *A. m. intermissa* consommait plus de sirop que *A. m. sahariensis*, ce qui explique probablement la supériorité du développement ovarien chez *A. m. intermissa* par rapport à *A. m. sahariensis*. Au-delà de 34 °C, la survie des deux sous-espèces est réduite. Cependant, il est à noter qu'à 38 °C, 39 °C et 40 °C, la survie moyenne d'*A. m. sahariensis* est plus élevée que celle d'*A. m. intermissa*. En effet, la limite supérieure de tolérance thermique peut être différente. Pour une même température, une sous-espèce peut subir plus de dommages qu'une autre sous-espèce. Les résultats d'Abou-Shaara *et al.*, (2012) et Alattal et Alghamdi (2015), ont montré que la sous-espèce *A. m. jemenitica* (abeille adaptée aux conditions difficiles de l'Arabie Saoudite) est plus tolérante à la chaleur que la sous-espèce *A. m. carnica* (abeille adaptée aux conditions climatiques tempérées). Dans notre essai, la mortalité enregistrée chez *A. m. intermissa* pourrait être la conséquence d'un effet combiné du stress thermique (forte chaleur) et du stress alimentaire (faible consommation de pollen). Les travaux de Di Pasquale et al. (2013) et de Khedidji et al. (2022) ont montré qu'une alimentation déficiente en pollen réduit la survie des abeilles.

L'effet de la température est toujours lié au taux d'humidité relative, qui représente également une variable microclimatique importante pour l'abeille domestique (Human *et al.*, 2006). Dans cette étude, nous avons identifié, dans des conditions contrôlées, les principales réponses physiologiques et comportementales des deux sous-espèces d'abeilles lorsqu'elles sont stressées par la chaleur avec un taux d'humidité relative

constant (70%). Cependant, on ne sait pas comment ces deux sous-espèces réagiront à une humidité relative plus faible ou plus élevée combinée à un stress thermique. D'autres études incluant l'effet de la température et de l'humidité sont donc nécessaires.

Cette étude a révélé que les deux sous-espèces étudiées réagissent différemment au stress thermique. *A. m. sahariensis* réagit nettement mieux à la chaleur qu'*A. m. intermissa*. *A. m. sahariensis* évolue dans un environnement désertique où les températures sont extrêmes. Il s'agit d'une sous-espèce endémique de la région du sud-ouest de l'Algérie. Pour s'adapter à cet environnement hostile, elle a dû développer des capacités physiologiques et même comportementales spécifiques au milieu désertique. La réponse physiologique d'*A. m. sahariensis* au stress thermique est donc en quelque sorte prévisible. Ces résultats obtenus en conditions contrôlées nous fournissent un éclairage partiel sur les capacités de cette sous-espèce à faire face à la chaleur. Des tests en conditions naturelles permettront d'en apprendre davantage sur les stratégies développées par cette sous-espèce pour faire face au stress thermique.

III. Effets du stress combiné de la carence en pollen et de la chaleur sur la physiologie des ouvrières d'*A. m. sahariensis* et *A. m. intermissa*

1. Introduction

Les multiples combinaisons des facteurs de stress chez les abeilles ont davantage retenu l'attention, plusieurs études ont reporté de nombreuses combinaisons entre les facteurs de stress, tel que pesticides - pesticides (Gill *et al.*, 2012), Pesticides-pathogène (Alaux *et al.*, 2009; Vidau *et al.*, 2011; Collison *et al.*, 2016), pathogènes - pathogènes (Retschnig *et al.*, 2014), malnutrition - pathogènes (Di Pasquale *et al.*, 2013), pesticides-climat (Henry *et al.*, 2015) et pesticides-pathogènes (Collinson *et al.*, 2016). Cependant, d'autres combinaisons restent inexplorées, telles que les combinaisons incluant le stress thermique. Jusqu'à présent, le stress thermique est relativement mineur dans le déclin actuel des abeilles par rapport aux produits agrochimiques et aux agents pathogènes (Zhao *et al.*, 2021). Néanmoins, ses effets sont envisagés à plusieurs niveaux. Effet direct de la chaleur sur les pollinisateurs, effet indirect, relatif à l'abondance des ressources mellifères (Walters *et al.*, 2022) et l'effet combiné des deux précédents.

Dans les deux expériences précédentes, nous avons étudié l'effet d'un stress nutritionnel (carence en pollen) et l'effet d'un stress thermique sur la physiologie des deux sous-espèces *A. m. intermissa* et *A. m. sahariensis*. L'effet de chaque facteur a été étudié séparément. Dans cette troisième expérience, nous avons étudié l'effet combiné de la carence en pollen et de la chaleur sur les critères physiologiques des deux sous-espèces d'abeilles locales. Pour étudier l'effet stressant de l'hyperthermie, nous avons opté dans cette expérience, pour une seule température qui est de 38 °C.

2. Matériel et méthodes

Une centaine d'abeilles émergentes de chaque sous-espèce ont été transférées dans des cagettes de type Pain et maintenues dans une étuve. Les cagettes du témoin ont été fournies de pollen et maintenues dans une étuve à une température de 34 ± 1 °C et à une humidité relative de 70%. En revanche, les cagettes du traitement (Stress) ont été privées de pollen et placées dans une étuve à 38 °C et 70% d'humidité relative.

De l'eau et du sirop de saccharose ont également été fournis *ad libitum* pour toutes les cagettes. Trois cages contenant chacune 100 abeilles naissantes de chaque sous-espèce ont été mises en place.

2.1 Dispositif expérimental

Le dispositif expérimental est composé de 04 lots ce qui correspond au schéma suivant (**Figure 33.**). L'expérience a été répétée trois fois.

- **Lot 1** : *A. m. sahariensis* témoin (AST)
- **Lot 2** : *A. m. sahariensis* stressée (ASS)
- **Lot 3** : *A. m. intermissa* témoin (ATT)
- **Lot 4** : *A. m. intermissa* stressée (ATS)

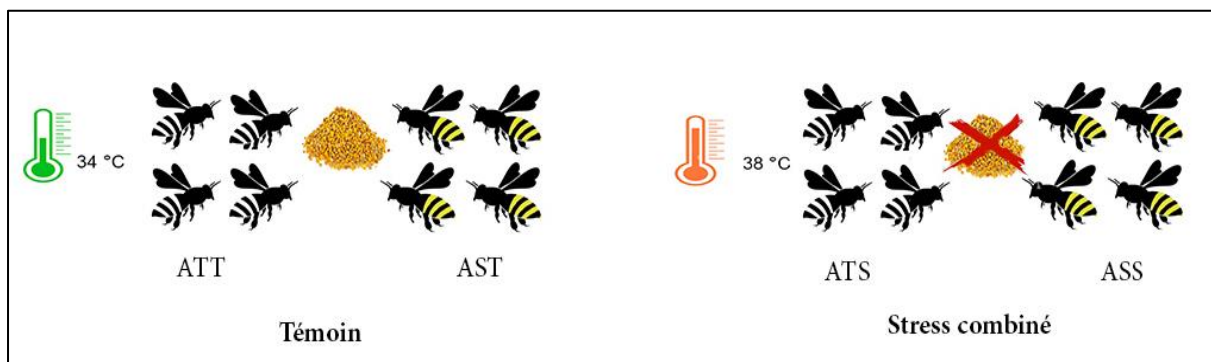


Figure 33. Schéma représentatif du dispositif expérimental de l'essai 03. AST : *A. m. sahariensis* témoin; ASS : *A. m. sahariensis* stressée; ATT : *A. m. intermissa* témoin; ATS : *A. m. intermissa* stressée.

2.2 Conduite de l'essai

L'essai a été mené sur une période de deux mois, de la naissance jusqu'à la mort de la dernière abeille. Durant cette période, la notation de mortalité ainsi que la mesure et la compensation de la quantité de nourriture ont été effectués quotidiennement.

Les prélèvements ont été effectués selon la même procédure et dans le même but décrits dans les deux expériences précédentes. C'est-à-dire un prélèvement de 10 abeilles à 7,14 et 21 jours en vue de l'extraction de l'hémolymphe, la dissection des glandes hypopharyngiennes et des ovaires. Les différents dosages biochimiques ont été réalisés selon les protocoles décrits dans la première expérience.

2.3 Analyses statistiques

L'analyse des données a été réalisée à l'aide du logiciel IBM SPSS Statistics 28.0.0.0. Les résultats ont été exprimés en (moyenne \pm erreur standard). Nous avons effectué une ANOVA à trois facteurs (Stress, sous-espèce et âge) avec le test *post hoc* Tukey HSD pour la composition biochimique de l'hémolymphe et le développement des GHP. Avant d'effectuer l'ANOVA, la normalité a été vérifiée à l'aide du test (Kolmogorov-Smirnov). Un test du Chi² avec le test exact de Fisher, lorsque le nombre théorique est < 5 , a été réalisé pour étudier le développement ovarien. La survie a été analysée à l'aide de l'estimateur de survie de Kaplan-Meier et le test de Gehan-Wilcoxon a été réalisé pour déterminer les différences.

NB : Pour des raisons statistiques, nous avons regroupé le stress de la carence en pollen et le stress thermique en un seul facteur, étant donné que nous les avons préalablement étudiés séparément dans les deux expériences précédentes. Il est donc superflu de répéter l'analyse en considérant ces deux facteurs de manière distincte. Il convient de noter aussi que dans l'analyse de survie de cette expérience, les abeilles retirées aux jours 7, 14 et 21 n'ont pas été considérées comme des abeilles mortes.

3. Résultats

3.1 Consommation journalière de pollen, sirop et eau

Les résultats relatifs à l'effet de stress combiné de la carence en pollen et la chaleur, sur le comportement de consommation d'eau et de sirop chez *A. m. sahariensis* et *A. m. intermissa* sont exposés dans le tableau (**Tableau 7.**).

Les valeurs enregistrées chez les témoins révèlent des différences dans le comportement de consommation entre les deux sous-espèces. En conditions normales, *A. m. intermissa* affiche des valeurs légèrement supérieures pour la consommation de pollen et des valeurs considérablement inférieures pour la consommation d'eau et de sirop par rapport à *A. m. sahariensis*.

En condition de stress combiné, les résultats indiquent des modifications majeures dans le comportement de consommation. Les deux sous-espèces témoignent d'une augmentation significative de la consommation de sirop et de l'eau. *A. m. sahariensis*

présente une augmentation relative de 38% pour la consommation de sirop et 166,1% pour la consommation d'eau par rapport à son témoin. Alors que chez *A. m. intermissa*, cette augmentation est plus prononcée pour la consommation d'eau, soit une hausse de 485,9% par rapport le témoin et de 25,8% pour la consommation de sirop par rapport à son témoin.

Tableau 7. Consommation moyenne de pollen, de sirop et d'eau par abeille/jour. Chez *A. m. sahariensis* et *A. m. intermissa* stressée et non stressée

Lot	Sous-espèces	Consommation (moyenne ± SD)		
		Pollen (mg)	Sirop (µl)	Eau (µl)
Témoin	<i>A. m. sahariensis</i>	2,13 ± 0,61	21,04 ± 3,96	8,82 ± 1,30
	<i>A. m. intermissa</i>	2,62 ± 0,33	17,63 ± 2,19	4,34 ± 0,80
stressé	<i>A. m. sahariensis</i>		29,05 ± 2,62	23,53 ± 2,33
	<i>A. m. intermissa</i>		22,18 ± 2,53	25,47 ± 1,24

3.2 Composition biochimique de l'hémolymphe

3.2.1 Protéines

La teneur en protéines d'hémolymphe (PH) est influencée par la sous-espèce ($F_{1,96} = 1215,79$; $p < 0,001$), le stress combiné ($F_{1,96} = 16319,6$; $p < 0,001$) et l'âge ($F_{2,96} = 1625,39$; $p < 0,001$). Ainsi que les interactions, sous-espèce x stress combiné ($F_{1,96} = 4,44$; $p < 0,038$), sous-espèce x âge ($F_{2,96} = 53,46$; $p < 0,001$), stress x âge ($F_{2,192} = 1429,24$; $p < 0,001$), sous-espèce x stress combiné x âge ($F_{2,96} = 26,01$; $p < 0,001$).

A 7 jours, ATT avait une teneur en PH significativement plus élevée qu'ATS ($p < 0,001$) et AST ($p < 0,001$). AST avait significativement plus de PH qu'ASS ($p < 0,001$). En situation de stress combiné, la teneur en PH était significativement plus élevée en ATS qu'en ASS ($p < 0,001$).

Au 14^{ème} et 21^{ème} jour, la quantité de PH a diminué significativement dans tous les lots et a suivi la même tendance parmi les différents lots. ATT avait significativement plus de PH qu'ATS ($p < 0,001$) et AST ($p < 0,001$). AST avait significativement plus de PH qu'ASS ($p < 0,001$). En situation de stress combiné, la quantité de PH était significativement plus élevée en ATS qu'en ASS ($p < 0,001$) (**Figure 34.**).

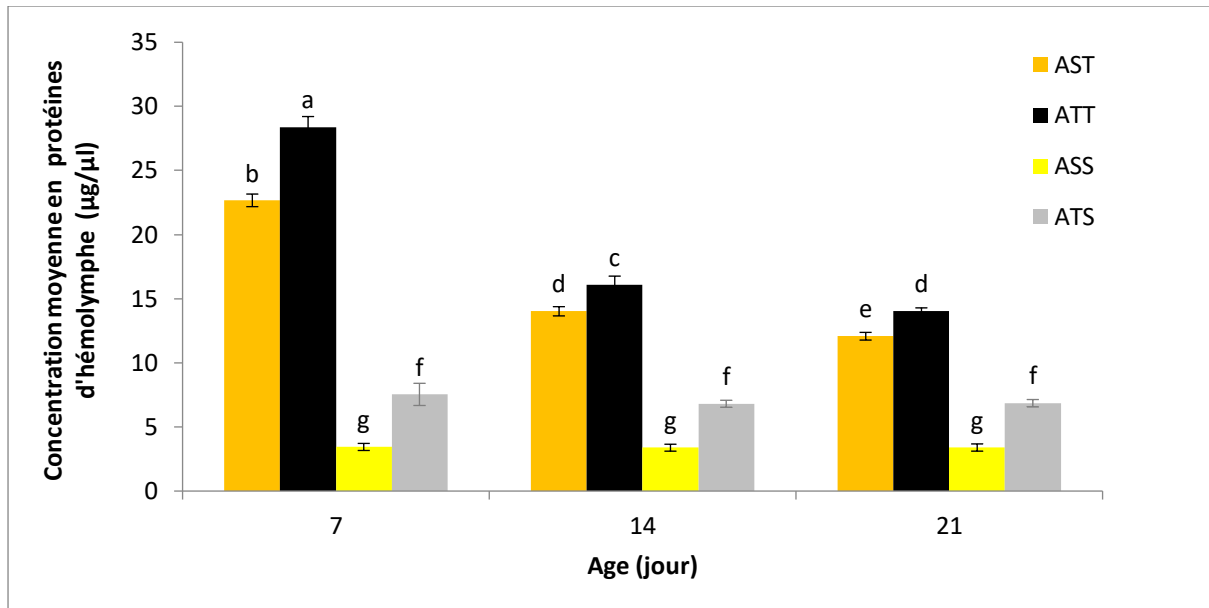


Figure 34. Concentration des protéines d'hémolymphe (moyenne de \pm SE). À 7, 14 et 21 jours. AST : *A. m. sahariensis* (Témoin), ASS: *A. m. sahariensis* (Stressée), ATT : *A. m. intermissa* (Témoin), ATS : *A. m. intermissa* (Stressée). Il n'y a pas de différence significative entre les barres ayant la même lettre ($p > 0,05$).

3.2.2 Lipides

La teneur en lipides d'hémolymphe (LH) est influencée par la sous-espèce ($F_{1,96} = 4709,20$; $p < 0,001$), le stress combiné ($F_{1,96} = 115,70$; $p < 0,001$) et l'âge ($F_{2,96} = 135,82$; $p < 0,001$). Ainsi que les interactions, sous-espèce x stress combiné ($F_{1,96} = 3143,71$; $p < 0,001$), sous-espèce x âge ($F_{2,96} = 115,23$; $p < 0,001$), stress x âge ($F_{2,192} = 52,82$; $p < 0,001$), sous-espèce x stress combiné x âge ($F_{2,96} = 462,1$; $p < 0,001$)

A 7 jours, AST avait une teneur en LH significativement plus élevée qu'ASS ($p < 0,001$) et ATT ($p < 0,001$). A l'inverse ATS avait significativement plus de LH qu'AST ($p < 0,001$). En situation de stress combiné, la teneur en LH était significativement plus élevée en ATS qu'en ASS ($p < 0,001$) (**Figure 35.**)

A 14 jours, la quantité de LH a diminué significativement dans tous les lots et a suivi la même tendance parmi les différents lots. AST avait significativement plus de LH qu'ASS ($p < 0,001$) et ATT ($p < 0,001$). ATS avait significativement plus de LH qu'AST ($p < 0,001$). En situation de stress combiné, la quantité de LH était significativement plus élevée en ASS qu'en ATS ($p < 0,001$). A 21 jours, une augmentation a été observée dans

la quantité de LH chez les lots (AST et ATS) par et légère diminution les lots (ATT et ASS).

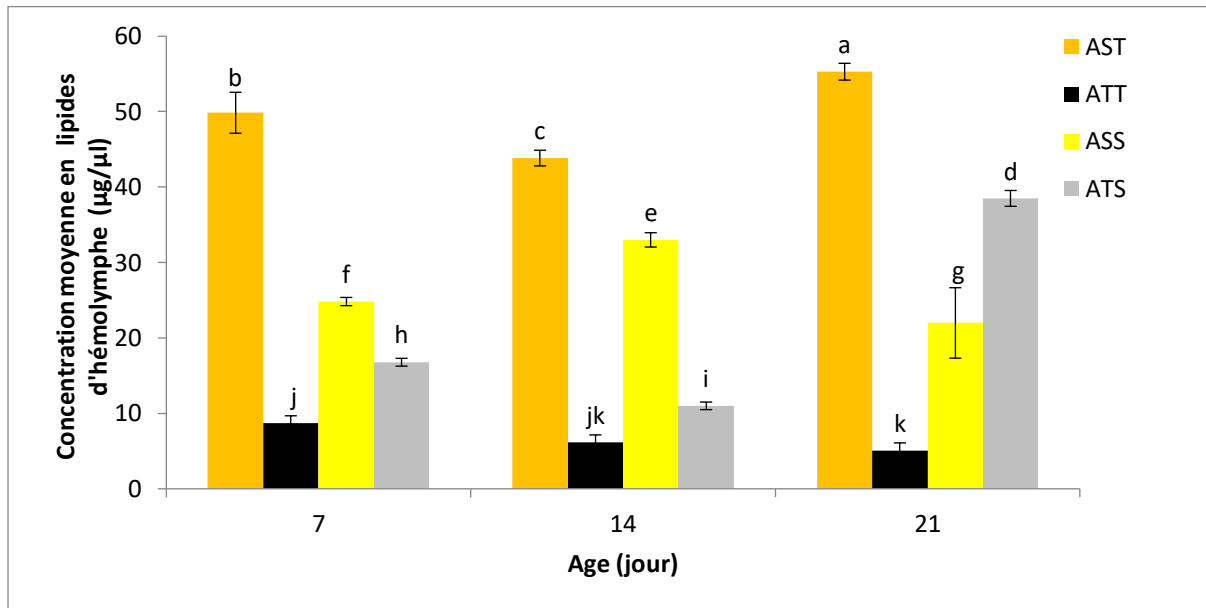


Figure 35. Concentration des lipides d'hémolymphe (moyenne de \pm SE). À 7, 14 et 21 jours. AST: *A. m. sahariensis* (Témoin), ASS: *A. m. sahariensis* (Stressée), ATT: *A. m. intermissa* (Témoin), ATS: *A. m. intermissa* (Stressée). Il n'y a pas de différence significative entre les barres ayant la même lettre ($p > 0,05$).

3.2.3 Sucres

La teneur en sucres d'hémolymphe (SH) est influencée par la sous-espèce ($F_{1,96} = 1541,92$; $p < 0,001$), et l'âge ($F_{2,96} = 513,51$; $p < 0,001$). Ainsi que les interactions, sous-espèce x stress combiné ($F_{1,96} = 15,85$; $p < 0,001$), sous-espèce x âge ($F_{2,96} = 152,41$; $p < 0,001$), stress combiné x âge ($F_{2,192} = 413,94$; $p < 0,001$), sous-espèce x stress combiné x âge ($F_{2,96} = 247,47$; $p < 0,001$) Cependant l'effet de stress n'est pas significatif ($F_{1,96} = 1,5$; $p = 0,22$).

Chez les deux lots d'*A. m. intermissa*, la teneur des SH avait les mêmes valeurs dans les trois niveaux d'âge ($p > 0,05$). Cependant, chez les deux lots d'*A. m. sahariensis*, les SH ont enregistré une diminution significative ($p < 0,001$). Toutefois, au 7^{ème} et 14^{ème} jour AST avait une teneur des SH significativement plus élevée que les autres lots ($p < 0,001$). Cependant à 21^{ème} jour les SH sont plus élevées chez les deux lots d'*A. m. intermissa* (**Figure 36.**).

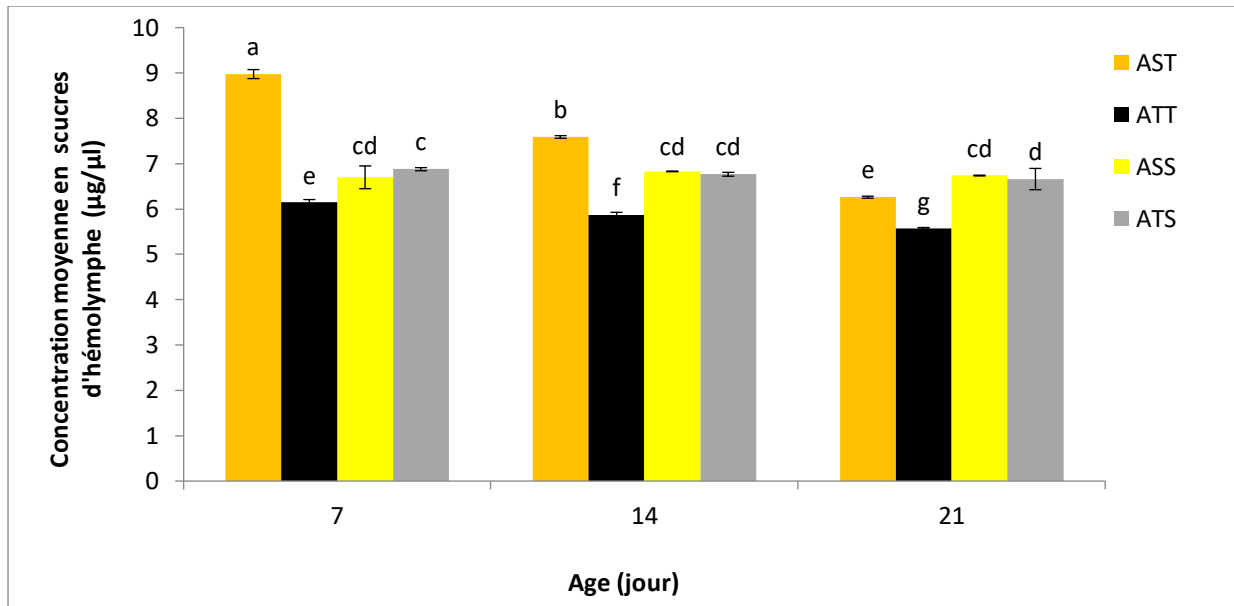


Figure 36. Concentration des sucres d'hémolymphe (moyenne de \pm SE). À 7, 14 et 21 jours. AST : *A. m. sahariensis* (Témoin), ASS: *A. m. sahariensis* (Stressée), ATT : *A. m. intermissa* (Témoin), ATS : *A. m. intermissa* (Stressée). Il n'y a pas de différence significative entre les barres ayant la même lettre ($p > 0,05$).

3.3 Développement des glandes hypopharyngiennes (GHP)

Le développement des GHP est influencé par la sous-espèce ($F_{1, 348} = 591,86 ; p < 0,001$), le stress ($F_{1, 348} = 105,43 ; p < 0,001$) et l'âge ($F_{2, 348} = 293,14 ; p < 0,001$). Ainsi que les interactions, sous-espèce x stress ($F_{1, 348} = 11,14 ; p < 0,001$), sous-espèce x âge ($F_{2, 348} = 178,11 ; p < 0,001$). Cependant l'interaction stress combiné x âge n'est pas significatif ($F_{2, 348} = 0,47 ; p < 0,62$) et l'interaction sous-espèce x stress x âge ($F_{2, 348} = 0,74 ; p < 0,47$).

A 7 jours d'âge, les GHP de AST étaient significativement plus développées que celles d'ASS ($p < 0,001$) et ATT ($p < 0,001$). Les GHP de ASS étaient significativement plus développés que ceux d'ATS ($p < 0,001$) alors que chez *A. m. intermissa*, il n'y avait pas de différence entre ATT et ATS ($p > 0,05$).

A 14 jours, une diminution de la surface des acinis est observée chez tous les groupes. Les GHP de AST étaient significativement plus développés que ceux d'ATT ($p < 0,001$) et ASS ($p < 0,001$), alors que les GHP de ASS étaient significativement plus développés que ceux d'ATS ($p < 0,001$). Chez *A. m. intermissa*, il n'y avait pas de différence significative entre ATT et ATS ($p > 0,05$). A 21 jours, une atrophie GHP a été observée chez tous les lots. A cet âge, il n'y avait pas de différences significatives (**Figure 37**).

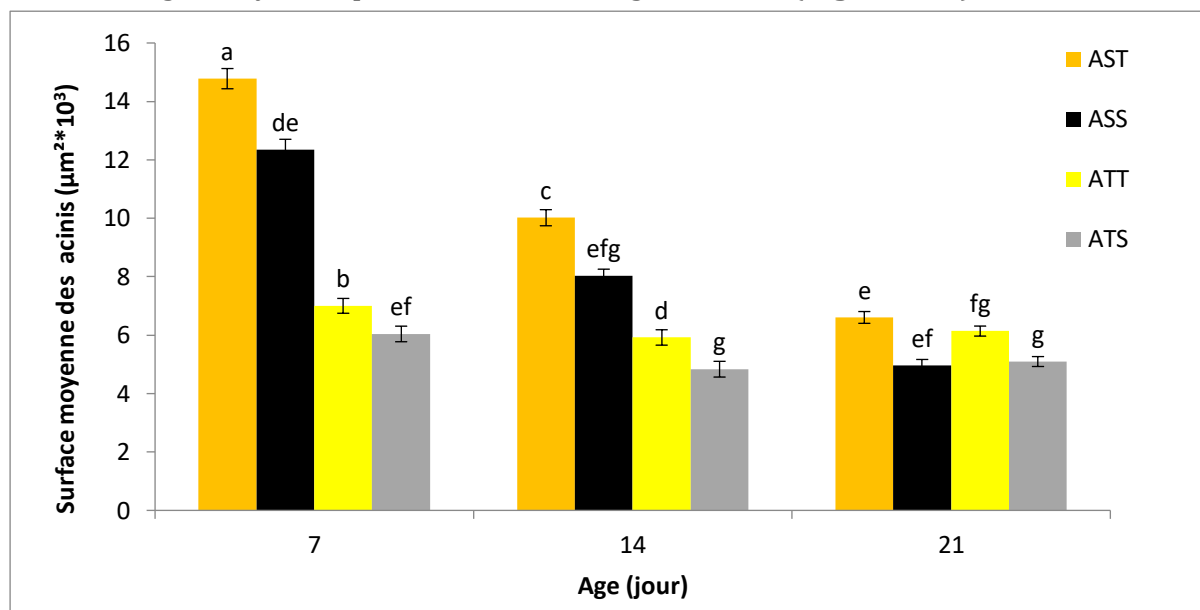


Figure 37. Surface (moyenne \pm SE) des acini des glandes hypopharangiennes des deux sous-espèces d'abeilles à 7, 14 et 21 jours. AST : *A. m. sahariensis* (Témoin), ASS: *A. m. sahariensis* (Stressée), ATT : *A. m. intermissa* (Témoin), ATS : *A. m. intermissa* (Stressée). Les barres avec la même lettre ne sont pas significativement différentes ($p > 0,05$).

3.4 Développement ovarien

Le développement ovarien est plus important chez *A. m. intermissa* que chez *A. m. sahariensis*. Cette différence est observée également entre les abeilles témoins et les abeilles stressées. Le résultat du test χ^2 indique la dépendance du développement ovarien à la sous-espèce ($\chi^2_{(4)} = 876,77$; $p < 0,001$) et au stress ($\chi^2_{(4)} = 864,53$; $p < 0,001$). Le stress a entraîné une réduction de 8,6% du pourcentage du développement ovarien chez la sous-espèce *intermissa* ($\chi^2_{(1)} = 1.083$; $p < 0.05$). Cependant ce stress n'a pas d'effet sur le développement ovarien de la sous-espèce *sahariensis* ($\chi^2_{(1)} = 0$; $p = 1$) (**Figure 38**).

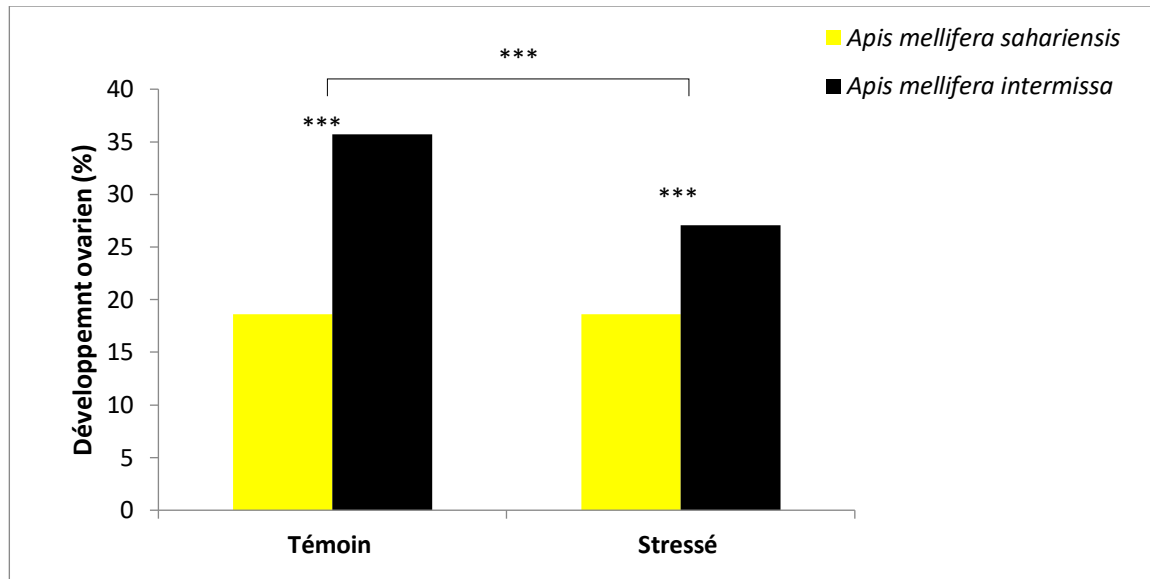


Figure 38. Taux de développement ovarien chez les deux sous-espèces d'abeilles (*Apis mellifera intermissa* et *Apis mellifera sahariensis*), stressé et témoin. L'astérisque (*) indique la signification du test du Chi₂ (χ^2) à un seuil de signification de p -value < 0,05.

3.5 Survie

Indépendamment de la sous-espèce, la survie des abeilles des lots témoins est supérieure à celle des lots stressés. Le stress a réduit la moyenne de survie de 21% chez *A. m. intermissa*, et de 31% chez *A. m. sahariensis*. Toutefois, la sous-espèce *A. m. sahariensis* avait une survie supérieure à celle d'*A. m. intermissa*. Les résultats de l'estimation de Kaplan-Meier ainsi que le test Wilcoxon ont indiqué que toutes les comparaisons par paires entre les groupes sont significativement différentes (**Figure 39, Tableau 8**).

AST/ATT (Wilcoxon test, $\chi^2_{(1)} = 105, 65; p < 0,001$)

ASS/ATS (Wilcoxon test, $\chi^2_{(1)} = 120, 9; p < 0,001$)

AST/ASS (Wilcoxon test, $\chi^2_{(1)} = 215, 77; p < 0,001$)

ATT/ATS (Wilcoxon test, $\chi^2_{(1)} = 31, 83; p < 0,001$)

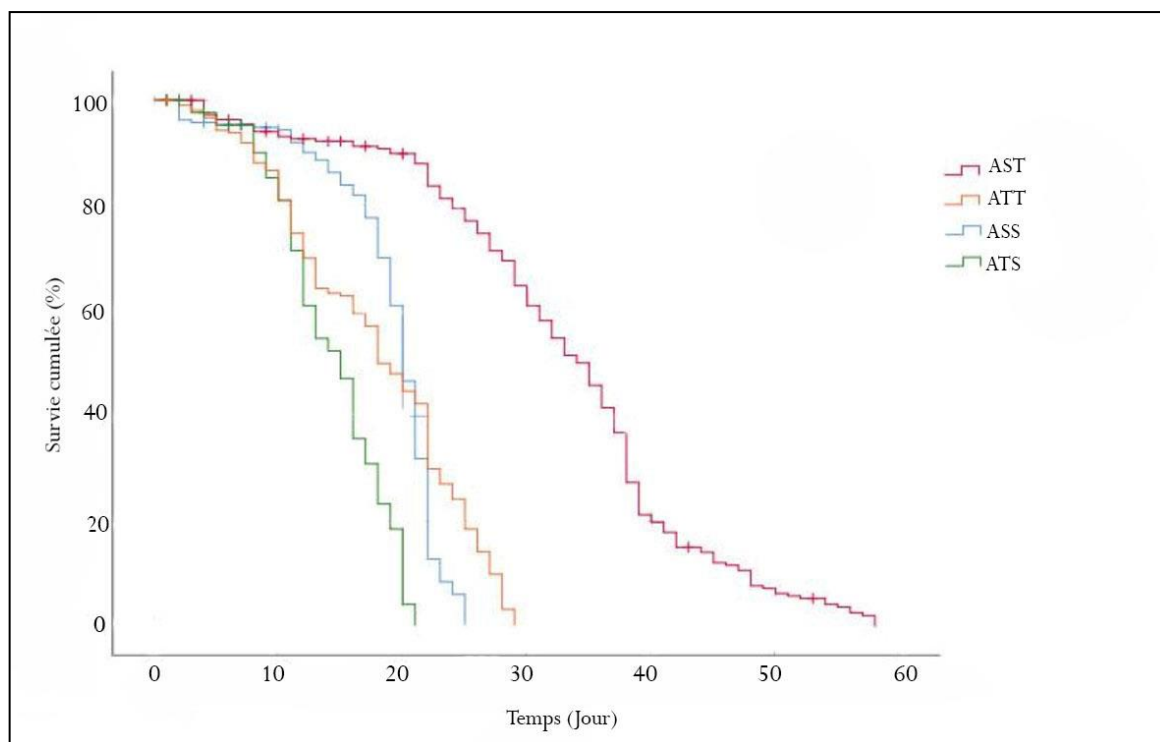


Figure 39. Survie cumulée en pourcentage des deux sous-espèces. AST : *A. m. sahariensis* (Témoin), ASS: *A. m. sahariensis* (Stressée), ATT : *A. m. intermissa* (Témoin), ATS : *A. m. intermissa* (Stressée).

Tableau 8. Estimation de Kaplan–Meier à (IC à 95%) de survie moyenne d' *A. m. sahariensis* et *A. m. intermissa* en absence de stress (témoin) et en présence de stress. Les lettres indiquent les résultats du test de Gehan-Wilcoxon, Les valeurs avec la même lettre ne sont pas significativement différentes ($p > 0,05$).

Lot	Survie (moyenne \pm SD)	
	<i>A. m. sahariensis</i>	<i>A. m. intermissa</i>
Témoin	32,88 \pm 0,8 a	17,94 \pm 0,5 c
Stressée	18,95 \pm 0,33 b	14,37 \pm 0,31 d

4. Discussion

Les abeilles mellifères sont sujettes à de nombreux facteurs de stress, qui peuvent agir directement ou indirectement. Les interactions entre ces facteurs peuvent avoir un impact négatif sur les abeilles individuellement et les colonies dans leur ensemble. Cette convergence délicate de stress a été identifiée comme un phénomène qui contribue au déclin des abeilles à travers le monde (VanEngelsdorp *et al.*, 2009; Doublet *et al.*, 2015; Sánchez-Bayo *et al.*, 2016). Dans cette troisième expérience, nous avons examiné une nature de stress potentiel pour les abeilles, émanant des conséquences du

réchauffement climatique. Cela engendre une situation de double stress, caractérisée par la combinaison de la pénurie de ressources mellifères et de la chaleur.

Les résultats relatifs à la consommation révèlent des changements significatifs dans le comportement de consommation d'eau et de sirop entre les deux sous-espèces, ainsi que l'effet de stress combiné sur ce comportement. Les données des lots témoins indiquent des différences initiales dans la consommation entre les deux sous-espèces. Lorsqu'on examine les lots de stress combiné, des réponses comportementales marquantes ont été observées. *A. m. sahariensis* augmente considérablement sa consommation d'eau et de sirop, tandis que *A. m. intermissa* augmente principalement sa consommation d'eau. Ces résultats suggèrent que chaque sous-espèce réagit différemment au stress combiné, en ajustant sa consommation de manière spécifique. Ces constatations soulignent l'importance des facteurs de stress dans la régulation des habitudes alimentaires des abeilles. Les variations observées pourraient découler de mécanismes adaptatifs spécifiques à chaque sous-espèce pour faire face aux conditions stressantes. La sous-espèce *A. m. intermissa*, par exemple, pourrait privilégier une augmentation de la consommation de sirop, riche en sucres, comme moyen de préserver les réserves énergétiques face à la famine. La sous-espèce *A. m. sahariensis*, en revanche, pourrait adopter une approche plus équilibrée en augmentant les apports en eau et en nutriments.

Les abeilles stressées des deux sous-espèces avaient une faible teneur en protéines par rapport aux abeilles témoins, et dans les deux cas, cette teneur en protéines est plus élevée chez *intermissa* que *sahariensis*. Etant donné que le pollen est la seule source en protéines pour les abeilles (Haydak, 1970), par conséquent, l'absence de pollen ou bien une consommation d'un pollen à faible teneur en protéines entraîne une réduction des protéines d'hémolymphe (Cremonz *et al.*, 1998). Dans la deuxième expérience, nous avons constaté qu'un stress hyperthermique entraîne une augmentation des protéines d'hémolymphe. Nous avons suggéré qu'il s'agissait de protéines de choc thermique. Dans cette situation de double stress, les abeilles ont certes subi une hyperthermie, mais qui n'a pas induit une augmentation du taux de protéines dans l'hémolymphe. Ce qui suggère probablement que, dans le cas d'un stress par la chaleur, les protéines de choc thermique ne peuvent s'exprimer qu'en présence d'une alimentation riche en protéines.

Nous avons constaté, par ailleurs, que le stress combiné entraîne une réduction des lipides d'hémolymphe chez *A. m. sahariensis*, et inversement entraîne une augmentation des lipides d'hémolymphe chez *A. m. intermissa*. Toutefois, *A. m. sahariensis* avait, à 7 jours, une teneur en lipides plus élevée qu'*A. m. intermissa*. Les abeilles obtiennent des lipides exclusivement à partir du pollen (Roulston et Cane, 2000), elles sont utilisées par les larves et les jeunes abeilles comme sources d'énergie et pour la synthèse des réserves corporelles (Brodschneider et Crailsheim, 2010). Nous supposons que la lipolyse de ces réserves est à l'origine des lipides hémolympatiques chez les abeilles stressées. Nous avons constaté que les teneurs en glucides hémolympatiques de toutes les abeilles étaient relativement stables. Cela est probablement dû au fait que toutes les abeilles avaient accès à une quantité illimitée de sirop et qu'elles n'avaient pas trop d'effort à fournir dans la cage.

Les besoins nutritionnels en protéines, lipides et glucides des ouvrières, des reines et des mâles sont différents (Hrassnigg et Crailsheim, 2005). Pour l'élevage du couvain, les ouvrières ont besoin de plus en plus de protéines pour développer leurs glandes hypopharyngiennes ainsi que pour la synthèse de la gelée royale (Knecht et Kaatz, 1990; Lan *et al.*, 2021).

Nous avons constaté que le stress combiné a eu un effet négatif sur le développement des GHP. Cependant, elles étaient plus développées chez *A. m. sahariensis* que chez *A. m. intermissa*. Par rapport aux résultats des deux expériences précédentes, nous constatons dans cette troisième expérience que chez *A. m. sahariensis* les GHP sont moins développées. Dans les deux expériences précédentes, la surface des glandes Hypopharyngiennes était aux alentours de $11 \times 10^3 \mu\text{m}^2$ alors que dans cette dernière expérience cette surface n'est que de $07 \times 10^3 \mu\text{m}^2$. Chez *A. m. sahariensis* le stress combiné entraîne une réduction des GHP de 36% par rapport à l'effet d'un seul facteur stressant. Ceci n'est pas le cas chez *A. m. intermissa*, où nous avons constaté que le développement des GHP est similaire aux résultats obtenus dans la première expérience (carence en pollen). Néanmoins, nous ne comprenons pas comment un stress combiné a eu presque un double effet négatif chez *A. m. sahariensis*, alors que chez *A. m. intermissa*, la synergie n'a pas eu d'effet.

Dans la première expérience, la sous-espèce *A. m. intermissa* avait plus d'ovaires développés qu'*A. m. sahariensis*. Dans la troisième expérience, nous observons la même tendance. Cela confirme qu'*A. m. intermissa* a une propension à développer ses ovaires, quelles que soient les conditions environnementales dans lesquelles elle évolue.

Dans les deux expériences précédentes, la survie moyenne d'*A. m. sahariensis* est supérieure à celle d'*A. m. intermissa*. En condition de stress combiné, la survie moyenne d'*A. m. sahariensis* est de 18 jours, soit 4 jours de plus qu'*A. m. intermissa*. Lors d'un stress combiné, la survie d'*A. m. sahariensis* est réduite de 8 jours en moyenne par rapport aux conditions de stress nutritionnel et de 4 jours par rapport aux conditions de stress thermique. Chez *A. m. intermissa*, le stress combiné entraîne une réduction de survie moyenne de 2 jours seulement par rapport aux conditions des deux expériences précédentes (les données de survie de la première expérience ont été réanalysées, et les abeilles retirées à 7, 14 et 21 jour n'ont pas été considérées comme des abeilles mortes).

Les résultats de cette expérience ne sont pas très différents de ceux obtenus dans les expériences I et II. Il semble donc qu'il n'y ait pas eu d'effet synergique des deux facteurs de stress. Ainsi, nous rejetons l'hypothèse selon laquelle l'effet combiné de deux facteurs de stress peut donner lieu à un double effet. Nous confirmons que le stress thermique exerce un effet indirect sur les abeilles en provoquant en elles des problèmes d'assimilation des protéines.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Conclusion et perspectives

Cette thèse avait pour but d'étudier les éventuels effets délétères que pourrait occasionner un stress nutritionnel ou thermique sur la physiologie et le comportement de nos deux sous-espèces d'abeilles locales : *A. m. sahariensis* et *A. m. intermissa*. Avec le réchauffement climatique qui se confirme d'année en année, il nous a paru important et indispensable de mener cette étude. Nous avons l'opportunité et la chance de mener une étude comparative sur deux sous-espèces évoluant dans deux écosystèmes complètement différents. L'abeille Tellienne évolue dans un milieu relativement opulent du point de vue des ressources mellifères et de climat, contrairement à la saharienne dont l'aire naturelle est le Sahara avec tout le contraste qui le caractérise au niveau des températures extrêmes et la rareté des ressources mellifères.

Nos recherches ont montré que face au stress nutritionnel, les deux sous-espèces d'abeilles réagissent différemment. En effet, lorsqu'elle est privée de pollen, l'abeille saharienne privilégie la fonction de nourrissage à travers le maintien d'un développement maximal de ses glandes hypopharyngiennes, alors que l'abeille Tellienne privilégie le développement de ses ovaires. Ce sont là deux stratégies de survie différentes chez ces deux sous-espèces. L'une donne la priorité aux jeunes larves qu'elle voudrait bien nourrir pour que la jeune abeille naissante puisse affronter les conditions difficiles de son environnement. Cette hypothèse est renforcée par les résultats obtenus dans la pesée des abeilles naissantes. Nous avons remarqué en effet que les jeunes abeilles sahariennes sont plus lourdes que les abeilles Telliennes. Cette différence de poids (peut-être une réserve de gras plus importante) pourrait être à l'origine de la différence de survie observée chez les deux sous-espèces d'abeilles. Nourrie ou privée de pollen, l'abeille saharienne vit plus longtemps que la Tellienne. C'est une donnée physiologique d'une grande importance, car cela voudrait dire que grâce à cette longévité, la saharienne produit moins de générations d'abeilles dans l'année. Ce qui est un gain énergétique vital dans un milieu aussi hostile que le Sahara.

Les abeilles Telliennes sont connues pour être enclines à développer rapidement leurs ovaires et à pondre des œufs en absence de la reine. Les mâles qui naissent sont fertiles et peuvent s'accoupler normalement avec une reine vierge. Cette tendance de la Tellienne à développer rapidement et facilement ses ovaires a été observée dans notre

étude. Même carencée en pollen, l'abeille Tellienne privilégie le développement de ses ovaires plutôt que ses glandes hypopharyngiennes. Peut-être que l'explication se trouve dans la nature de l'environnement dans lequel a évolué la Tellienne depuis des milliers d'années. La relative opulence de son environnement a fait que la Tellienne se reproduit avec excès en émettant le maximum de mâles dans la nature.

Avec un climat en constante évolution, l'existence d'une sous-espèce qui peut s'adapter est essentielle pour maintenir la diversité des plantes et la sécurité alimentaire. Les sous-espèces d'abeilles qui peuvent s'adapter aux variations de température et à d'autres conditions environnementales seront plus susceptibles de survivre alors que celles qui ne peuvent pas sont sujettes à disparaître. Parmi les sous-espèces d'abeilles, qui ont fait objet d'étude dans le contexte de réchauffement climatique, *A. m. jementica*, originaire de la péninsule arabique, cette sous-espèce a démontré une bonne capacité à s'adapter aux climats chauds et aux environnements arides. Dans cette thèse et pour la première fois, nous avons mis en évidence la potentialité de la sous-espèce *A. m. sahariensis* à bien réagir à une carence protéique, à la chaleur et aux deux contraintes à la fois. Cela veut dire qu'à long terme, *A. m. sahariensis*, est capable de faire face aux défis climatiques. Depuis qu'elle évolue dans cet environnement hostile depuis des milliers d'années, la nature l'a façonnée afin qu'elle survive aux conditions difficiles. Pour répondre au changement climatique qui va affecter beaucoup de régions dans le monde dans les prochaines années, Le Conte et Navajas (2008) préconisent de l'introduire en Europe dans le cas d'un réchauffement climatique.

Cette thèse nous a permis de faire connaître nos deux sous-espèces d'abeilles sur le plan physiologique et comportemental. Les données concernant ces deux sous-espèces d'abeilles sont très rares. En effet, bien que l'abeille Tellienne soit plus exploitée que la saharienne, elle n'est pas plus connue sur le plan scientifique. D'autres études sont nécessaires afin d'étoffer les connaissances scientifiques sur ces deux sous-espèces locales.

En termes de perspectives, il est essentiel de poursuivre les investigations pour une meilleure compréhension des mécanismes liés aux réponses de ces deux espèces au stress nutritionnel ou thermique. Les résultats de notre recherche suggèrent des pistes prometteuses pour de futures recherches, telles que l'évaluation des réserves

énergétiques, l'étude du profil histologique des échantillons tissulaires des deux sous-espèces, la recherche des marqueurs génétiques liés à la résistance à la chaleur et à la longévité de l'abeille saharienne. De plus, nous mettons également en avant la nécessité d'exploiter ces résultats, afin d'élaborer un programme adéquat de la préservation de ces deux sous-espèces et qui tient compte de la particularité physiologique de chacune des deux sous-espèces. Il est important de souligner que la protection de chaque sous-espèce doit se faire dans son habitat naturel, là où elle évolue et exprime son plein potentiel. En les laissant évoluer naturellement dans leur habitat, on favorise leur capacité à s'adapter aux pressions environnementales et aux changements climatiques. Toutefois, il est essentiel de noter que l'habileté d'une sous-espèce à s'adapter aux changements climatiques ne doit pas être considérée comme une solution unique. Des mesures doivent être prises afin de consolider la sauvegarde des abeilles en interdisant l'introduction de sous-espèces d'abeilles étrangères ou bien en évitant le croisement anarchique de deux sous-espèces, en définissant des limites géographiques pour chacune d'elles.

Au final, dans cette thèse, nous avons pu mettre en évidence les potentialités de nos deux sous-espèces d'abeilles dans une approche physiologique et comportementale en conditions de laboratoire. Nous avons suggéré également des pistes de recherches complémentaires. Cependant, la sauvegarde et la valorisation de ces deux sous-espèces nécessitent une collaboration intersectorielle engageant divers domaines, ainsi qu'une prise de conscience accrue de leur importance par les pouvoirs publics.

REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abdellatif, I. M. Y., Yuan, S., Na, R., Yoshihara, S., Hamada, H., Suzaki, T., Ezura, H., & Miura, K. (2022).** Functional Characterization of Tomato *Phytochrome A* and *B1B2* Mutants in Response to Heat Stress. *International journal of molecular sciences*, 23(3), 1681. <https://doi.org/10.3390/ijms23031681>
- Abou-Shaara, H. F., Al-Ghamdi, A. A., & Mohamed, A. A. (2012).** Tolerance of two honey bee races to various temperature and relative humidity gradients. *Environmental and experimental Biology*, 10(4), 133-138. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0217921>
- Adam, B. (1985).** *Les Croisements et l'apiculture de demain*. Syndicat national apiculture.
- Aglagane, A., Tofilski, A., Er-Rguibi, O., Laghzaoui, E. M., Kimdil, L., El Mouden, E. H., ... & Aourir, M. (2022).** Geographical Variation of Honey Bee (*Apis mellifera* L. 1758) Populations in South-Eastern Morocco: A Geometric Morphometric Analysis. *Insects*, 13(3), 288. <https://doi.org/10.3390/insects13030288>
- Alattal, Y. et Alghamdi, A. (2015).** Impact of temperature extremes on survival of indigenous and exotic honey bee subspecies, *Apis mellifera*, under desert and semiarid climates. *Bulletin of Insectology*, 68(2), 219-222.
- Alaux, C., Ducloz, F., Crauser, D., & Le Conte, Y. (2010).** Diet effects on honeybee immunocompetence. *Biology letters*, 6(4), 562-565. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2009.0986>
- Alaux, C., Sinha, S., Hasadsri, L., Hunt, G. J., Guzmán-Novoa, E., DeGrandi-Hoffman, G., Uribe-Rubio, J. L., Southey, B. R., Rodriguez-Zas, S., & Robinson, G. E. (2009).** Honey bee aggression supports a link between gene regulation and behavioral evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(36), 15400-15405. <https://doi.org/10.1073/pnas.0907043106>
- Alqarni, A. S., Ali, H., Iqbal, J., Owayss, A. A., & Smith, B. H. (2019).** Expression of heat shock proteins in adult honey bee (*Apis mellifera* L.) workers under hot-arid

subtropical ecosystems. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 26(7), 1372-1376.
<https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2019.08.017>

Alqarni, A.S. (2020). Recherche différentielle de races d'abeilles domestiques et exotiques (*Apis mellifera* L.) sur un flux riche en nectar dans un écosystème subtropical. *Insectes*, 11(4), 254. <https://doi.org/10.3390/insects11040254>

Alsamir, M., Mahmood, T., Trethowan, R., & Ahmad, N. (2021). An overview of heat stress in tomato (*Solanum lycopersicum* L.). *Saudi journal of biological sciences*, 28(3), 1654-1663. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.11.088>

Amdam, G. V., Norberg, K., Omholt, S. W., Kryger, P., Lourenço, A. P., Bitondi, M. M. G., & Simões, Z. L. P. (2005). Higher vitellogenin concentrations in honey bee workers may be an adaptation to life in temperate climates. *Insectes Sociaux*, 52, 316-319.

Amdam, G. V., Simões, Z. L., Hagen, A., Norberg, K., Schrøder, K., Mikkelsen, Ø., ... & Omholt, S. W. (2004). Hormonal control of the yolk precursor vitellogenin regulates immune function and longevity in honeybees. *Experimental gerontology*, 39(5), 767-773.

Ament, S. A., Wang, Y., & Robinson, G. E. (2010). Nutritional regulation of division of labor in honey bees: toward a systems biology perspective. *Wiley interdisciplinary reviews. Systems biology and medicine*, 2(5), 566-576.
<https://doi.org/10.1002/wsbm.73>

Amuji, C. F., Beaumont, L. J., & Atwell, B. J. (2020). The effect of co-occurring heat and water stress on reproductive traits and yield of tomato (*Solanum Lycopersicum*). *The Horticulture Journal*, 89(5), 530-536.
<https://doi.org/10.2503/hortj.UTD-166>

Arias, M.C., & Sheppard, W.S. (2005). Phylogenetic relationships of honey bees (*Hymenoptera: Apinae: Apini*) inferred from nuclear and mitochondrial DNA sequence data. *Molecular phylogenetics and evolution*, 37(1) 25-35.

Aylanc, V., Falcão, S. I., & Vilas-Boas, M. (2023). Bee pollen and bee bread nutritional potential: Chemical composition and macronutrient digestibility under in vitro

gastrointestinal system. *Food chemistry*, 413, 135597.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.135597>

- Baldensperger, J. (1923).** North African Bees—II. *Bee World*, 5(12), 189–190.
- Barker, R. J. (1977).** Some carbohydrates found in pollen and pollen substitutes are toxic to honey bees. *The Journal of Nutrition*, 107(10), 1859–1862.
- Barker, R. J., & Lehner, Y. (1974).** Acceptance and sustenance value of naturally occurring sugars fed to newly emerged adult workers of honey bees (*Apis mellifera* L.). *Journal of Experimental Zoology*, 187(2), 277–285.
- Basile, R. (2009).** Thermoregulation and resource management in the honeybee (*Apis mellifera*). Thèse de doctorat. Universität Würzburg.
- Belzunces, L. P., Vandame, R., & Gu, X. (1996).** Modulation of honeybee thermoregulation by adrenergic compounds. *Neuroreport*, 7, 1601–1604.
- Biri, M. (2010).** *Tout savoir sur les abeilles et l'apiculture*. De Vecchi.
- Blaschon, B., Guttenberger, H., Hrassnigg, N., & Crailsheim, K. (1999).** Impact of bad weather on the development of the broodnest and pollen stores in a honeybee colony (*Hymenoptera: Apidae*). *Entomologia Generalis*, 49–60.
- Blatt, J. (2001).** Haemolymph sugar homeostasis and the control of the proventriculus in the honeybee (*Apis mellifera carnica* L.). Doctoral dissertation, Universität Würzburg.
- Blažytė-Čereškienė, L., Vaitkevičienė, G., Venskutonytė, S., & Būda, V. (2010).** Honey bee foraging in spring oilseed rape crops under high ambient temperature conditions. *Žemdirb.(Agric.)*, 97, 61-70.
- Boecking, O., & Ritter, W. (1993).** Grooming and removal behaviour of *Apis mellifera intermissa* in Tunisia against *Varroa jacobsoni*. *Journal of Apicultural Research*, 32(3-4), 127-134.
<https://doi.org/10.1080/00218839.1993.11101297>
- Bonoan, R. E., Goldman, R. R., Wong, P. Y., & Starks, P. T. (2014).** Vasculature of the hive: heat dissipation in the honey bee (*Apis mellifera*) hive. *Die*

Naturwissenschaften, 101(6), 459–465. <https://doi.org/10.1007/s00114-014-1174-2>

Bordier, C., Dechatre, H., Suchail, S., Peruzzi, M., Soubeyrand, S., Pioz, M., Péliissier, M., Crauser, D., Le Conte, Y., & Alaux, C. (2017a). Colony adaptive response to simulated heat waves and consequences at the individual level in honeybees (*Apis mellifera*). *Scientific Reports*, 7(1), 3760. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-03944-x>

Bordier, C., Suchail, S., Pioz, M., Devaud, J. M., Collet, C., Charreton, M., ... & Alaux, C. (2017b). Stress response in honeybees is associated with changes in task-related physiology and energetic metabolism. *Journal of Insect Physiology*, 98, 47-54. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2016.11.013>

Borghi, M., Perez de Souza, L., Yoshida, T., & Fernie, AR. (2019). Flowers and climate change: a metabolic perspective. *New Phytologist*, 224(4), 1425–1441. <https://doi.org/10.1111/nph.16031>

Bourque, A. (2000). Les changements climatiques et leurs impacts. *Vertigo-la revue électronique en sciences de l'environnement*, 1(2). <https://doi.org/10.4000/vertigo.4042>

Božič, J., & Woodring, J. (1997). Effect of activity on the haemolymph sugar titres in honey bees. *Journal of Apicultural Research*, 36(1), 33-39. <https://doi.org/10.1080/00218839.1997.11100928>

Bradford M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, 72, 248–254. <https://doi.org/10.1006/abio.1976.9999>

Brouwers, E. V. M. (1982). Measurement of hypopharyngeal gland activity in the honeybee. *Journal of Apicultural Research*, 21(4), 193-198. <https://doi.org/10.1080/00218839.1982.11100541>

Bryś, M.S., Skowronek, P., & Strachecka, A. (2021). Pollen diet—properties and impact on a bee colony. *Insects*, 12(9), 798. <https://doi.org/10.3390/insects12090798>

- Butt, N., Seabrook, L., Maron, M., Law, B. S., Dawson, T. P., Syktus, J., & McAlpine, C. A. (2015).** Cascading effects of climate extremes on vertebrate fauna through changes to low-latitude tree flowering and fruiting phenology. *Global Change Biology*, 21(9), 3267-3277. <https://doi.org/10.1111/gcb.12869>.
- Campos, M. G. R., Frigerio, C., Lopes, J., & Bogdanov, S. (2010).** What is the future of Bee-Pollen. *Journal of ApiProduct and ApiMedical Science*, 2(4), 131-144. <https://doi.org/10.3896/IBRA.4.02.4.01>
- Cappelari, F. A., Turcatto, A. P., Morais, M. M., & De Jong, D. (2009).** Africanized honey bees more efficiently convert protein diets into hemolymph protein than do Carniolan bees (*Apis mellifera carnica*). *Genetics and molecular research : GMR*, 8(4), 1245-1249. <https://doi.org/10.4238/vol8-4gmr628>
- Chahbar, N. (2013).** *Evaluation de la toxicité d'un produit phytopharmaceutique sur les abeilles domestiques locales (Apis mellifera intermissa et Apis mellifera sahariensis) et diversité génétique* (Thèse de doctorat, ENSA, El-Harrach, Alger, Algérie). 223p.
- Chan, Q. W., Howes, C. G., & Foster, L. J. (2006).** Quantitative comparison of caste differences in honeybee hemolymph. *Molecular & Cellular Proteomics*, 5(12), 2252-2262. <https://doi.org/10.1074/mcp.M600197-MCP200>
- Change, I. P. O. C. (2014).** Climate change 2014: synthesis report. Contribution of working groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Core Writing Team, RK Pachauri and LA Meyer (eds.)]. IPCC, Geneva, Switzerland, 151.
- Chapman, R. F., Douglas, A. E., Siva-Jothy, M. T., & Simpson, S. J. (2013).** Circulatory system, blood and the immune system. *The insects: structure and function*, 107-131.
- Chen, I. C., Hill, J. K., Ohlemüller, R., Roy, D. B., & Thomas, C. D. (2011).** Rapid range shifts of species associated with high levels of climate warming. *Science (New York, N.Y.)*, 333(6045), 1024-1026. <https://doi.org/10.1126/science.1206432>
- Collison, E., Hird, H., Cresswell, J., & Tyler, C. (2016).** Interactive effects of pesticide exposure and pathogen infection on bee health—a critical analysis. *Biological Reviews*, 91(4), 1006-1019. <https://doi.org/10.1111/brv.12206>

- Cook, S. M., Awmack, C. S., Murray, D. A., & Williams, I. H. (2003).** Are honey bees' foraging preferences affected by pollen amino acid composition? *Ecological Entomology*, 28(5), 622-627. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2311.2003.00548.x>
- Cornuet J. M, Daoudi A, & Fresnaye J. (1988).** Etude biométrique de populations d'abeilles Marocaines. *Apidologie*, 19(4), 355-366.
- Crailsheim, K. (1990).** The protein balance of the honey bee worker. *Apidologie*, 21(5), 417-429. <https://doi.org/10.1051/apido:19900504>
- Crailsheim, K., & Stolberg, E. (1989).** Influence of diet, age and colony condition upon intestinal proteolytic activity and size of the hypopharyngeal glands in the honeybee (*Apis mellifera* L.). *Journal of Insect Physiology*, 35(8), 595-602. [https://doi.org/10.1016/0022-1910\(89\)90121-2](https://doi.org/10.1016/0022-1910(89)90121-2)
- Crailsheim, K., Schneider, L. H. W., Hrassnigg, N., Bühlmann, G., Brosch, U., Gmeinbauer, R., & Schöffmann, B. (1992).** Pollen consumption and utilization in worker honeybees (*Apis mellifera carnica*): dependence on individual age and function. *Journal of insect Physiology*, 38(6), 409-419.
- Cremonz, T. M., De Jong, D., & Bitondi, M. M. (1998).** Quantification of hemolymph proteins as a fast method for testing protein diets for honey bees (*Hymenoptera: Apidae*). *Journal of economic entomology*, 91(6), 1284-1289. <https://doi.org/10.1093/jee/91.6.1284>
- Cremonz, TânM., De Jong, D., Bitondi Már, M. (1998).** Quantification of hemolymph proteins as a fast method for testing protein diets for honey bees (*Hymenoptera: Apidae*). *Journal of economic Entomology*, 91(6), 1284-1289.
- Cruz-Landim, C. D., & Costa, R. A. C. (1998).** Structure and function of the hypopharyngeal glands of Hymenoptera: a comparative approach. *Journal of Computational Biology*, 3(2), 151-63.
- Dade, H. (1962).** Anatomy and dissection of the honeybee. International Bee Research Association: Cardiff, UK.
- Davodpour, R., Sobhanardakani, S., Cheraghi, M., Abdi, N., & Lorestani, B. (2019).** Honeybees (*Apis mellifera* L.) as a potential bioindicator for detection of toxic

and essential elements in the environment (case study: Markazi Province, Iran). *Archives of environmental contamination and toxicology*, 77, 344-358.

De Groot, A.P. (1953). Amino acid requirements for growth of the honeybee (*Apis mellifica* L.). *Experientia*, 8(5), 192-194.
<https://doi.org/10.1007/BF02173740>

Dechaume-Moncharmont, F. X. (2003). Butinage collectif chez l'abeille *Apis mellifera* L. : étude théorique et expérimentale. Thèse de doctorat, Université Paris 6.

DeGrandi-Hoffman, G., Chen, Y., Huang, E., & Huang, M. H. (2010). The effect of diet on protein concentration, hypopharyngeal gland development and virus load in worker honey bees (*Apis mellifera* L.). *Journal of insect physiology*, 56(9), 1184-1191. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2010.03.017>

DeGrandi-Hoffman, G., Corby-Harris, V., Carroll, M., Toth, A. L., Gage, S., Watkins deJong, E., ... & Obernesser, B. (2021). The importance of time and place: nutrient composition and utilization of seasonal pollens by european honey bees (*Apis mellifera* L.). *Insects*, 12(3), 235.
<https://doi.org/10.3390/insects12030235>

Descamps, C., Boubnan, N., Jacquemart, A.-L., & Quinet, M. (2021). Growing and Flowering in a changing climate: effects of higher temperatures and drought Stress on the Bee-Pollinated Species *Impatiens glandulifera* Royle. *Plants*, 10(5), 988. <https://doi.org/10.3390/plants10050988>

Descamps, C., Quinet, M., Baijot, A., & Jacquemart, A. L. (2018). Temperature and water stress affect plant-pollinator interactions in *Borago officinalis* (Boraginaceae). *Ecology and Evolution*, 8(6), 3443-3456.
<https://doi.org/10.1002/ece3.3914>

Deseyn, J., & Billen, J. (2005). Age-dependent morphology and ultrastructure of the hypopharyngeal gland of *Apis mellifera* workers (*Hymenoptera, Apidae*). *Apidologie*, 36(1), 49-57.

Deutsch, C. A., Tewksbury, J. J., Huey, R. B., Sheldon, K. S., Ghalambor, C. K., Haak, D. C., & Martin, P. R. (2008). Impacts of climate warming on terrestrial

ectotherms across latitude. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(18), 6668-6672. <https://doi.org/10.1073/pnas.0709472105>

Di Pasquale, G., Salignon, M., Le Conte, Y., Belzunces, L. P., Decourtye, A., Kretzschmar, A., ... & Alaux, C. (2013). Influence of pollen nutrition on honey bee health: do pollen quality and diversity matter?. *PLoS One*, 8(8), e72016. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0072016>

Donkersley, P., Rhodes, G., Pickup, R. W., Jones, K. C., Power, E. F., Wright, G. A., & Wilson, K. (2017). Nutritional composition of honey bee food stores vary with floral composition. *Oecologia*, 185, 749-761. <https://doi.org/10.1007/s00442-017-3968-3>

Doublet, V., Labarussias, M., de Miranda, J. R., Moritz, R. F., & Paxton, R. J. (2015). Bees under stress: sublethal doses of a neonicotinoid pesticide and pathogens interact to elevate honey bee mortality across the life cycle. *Environmental microbiology*, 17(4), 969-983. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.12426>

Duchateau, G., & Florkin, M. (1959). Blood trehalose level in insects and its significance. *Archives internationales de physiologie et de biochimie*, 67(2), 306-314.

El Mohandes, S., Nafea, E., & Fawzy, A. (2010). Effect of different feeding diets on the haemolymph of the newly emerged honeybee workers *Apis mellifera* L. *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences. A, Entomology*, 3(1), 113-220. <https://doi.org/10.21608/eajbsa.2010.15257>

Engel, M. S. (1999). The taxonomy of recent and fossil honey bees (*Hymenoptera: Apidae; Apis*). *Journal of Hymenoptera Research*, 8(2), 165-196.

Erler, S., & Moritz, R. F. (2016). Pharmacophagy and pharmacophory: mechanisms of self-medication and disease prevention in the honeybee colony (*Apis mellifera*). *Apidologie*, 47, 389-411. <https://doi.org/10.1007/s13592-015-0400-z>

Erwin, D. H. (2009). Climate as a Driver of Evolutionary Change. *Current Biology*, 19(14), R575-R583. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2009.05.047>

- Estoup, A., Garnery, L., Solignac, M., & Cornuet, J. M. (1995).** Microsatellite variation in honey bee (*Apis mellifera L.*) populations: hierarchical genetic structure and test of the infinite allele and stepwise mutation models. *Genetics*, 140(2), 679–695. <https://doi.org/10.1093/genetics/140.2.679>
- Evans, J. D., & Schwarz, R. S. (2011).** Bees brought to their knees: microbes affecting honey bee health. *Trends in microbiology*, 19(12), 614–620. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2011.09.003>
- Fayet, A. (2017).** Anatomie interne 5. *Fiche Tech.*, CARI, 17-18.
- Fluri, P., Lüscher, M., Wille, H., & Gerig, L. (1982).** Changes in weight of the pharyngeal gland and haemolymph titres of juvenile hormone, protein, and vitellogenin in worker honey bees. *Journal of Insect Physiology*, 28(1), 61–68. [https://doi.org/10.1016/0022-1910\(82\)90023-3](https://doi.org/10.1016/0022-1910(82)90023-3)
- Forrest, J. R., & Thomson, J. D. (2011).** An examination of synchrony between insect emergence and flowering in Rocky Mountain meadows. *Ecological Monographs*, 81(3), 469-491. <https://doi.org/10.1890/10-1885.1>
- Fournier, A. D. (1991).** *Phénologie, croissance et productions végétales dans quelques savanes d'Afrique de l'Ouest: variation selon un gradient climatique.*
- Free, J. B. (1961).** Hypopharyngeal gland development and division of labor in honey bee (*Apis Mellifera L.*) colonies. Proceedings of the Royal Entomological Society of London Series A, *General Entomology*, 36(1-3), 5–8. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3032.1961.tb00253.x>
- Free, J. B. (1963).** The flower constancy of Honeybees. *Journal of Animal Ecology*, 32(1), 119–131. <https://doi.org/10.2307/2521>
- Free, J. B. (1980).** Differences in food consumption of caged honeybees from different colonies. *Journal of Apicultural Research*, 19(2), 112-114.
- Frias, B. E. D., Barbosa, C. D., & Lourenço, A. P. (2016).** Pollen nutrition in honey bees (*Apis mellifera*): impact on adult health. *Apidologie*, 47, 15-25. <https://doi.org/10.1007/s13592-015-0373-y>

- Gábor, E., Cinege, G., Csordás, G., Rusvai, M., Honti, V., Kolics, B., Török, T., Williams, M. J., Kurucz, É., & Andó, I. (2020).** Identification of reference markers for characterizing honey bee (*Apis mellifera*) hemocyte classes. *Developmental and comparative immunology*, *109*, 103701. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2020.103701>
- Gadbin, C., Cornuet, J. M., & Fresnaye, J. (1979).** Approche biométrique de la variété locale d'*Apis mellifica* L. dans le sud tchadien. *Apidologie*, *10*(2), 137-148.
- Garnery, L., Cornuet, J. M., & Solignac, M. (1992).** Evolutionary history of the honey bee *Apis mellifera* inferred from mitochondrial DNA analysis. *Molecular ecology*, *1*(3), 145-154. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294x.1992.tb00170.x>
- Gibbs, A. G. (1998).** Water-proofing properties of cuticular lipids. *American Zoologist*, *38*(3), 471-482. <https://doi.org/10.1093/icb/38.3.471>
- Gill, R. J., Ramos-Rodriguez, O., & Raine, N. E. (2012).** Combined pesticide exposure severely affects individual-and colony-level traits in bees. *Nature*, *491*(7422), 105-108. <https://doi.org/10.1038/nature11585>
- Gilles, A. (2010).** La biologie de l'abeille. *Ecole d'apiculture Sud-Luxembourg*, 4-8.
- Giorno, F., Guerriero, G., Baric, S., & Mariani, C. (2012).** Heat shock transcriptional factors in *Malus domestica*: identification, classification and expression analysis. *BMC genomics*, *13*, 1-13. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-13-639>
- Goldsworthy, G. J., Mordue, W., & Guthkelch, J. (1972).** Studies on insect adipokinetic hormones. *General and Comparative Endocrinology*, *18*(3), 545-551. [https://doi.org/10.1016/0016-6480\(72\)90034-2](https://doi.org/10.1016/0016-6480(72)90034-2)
- Goulson, D., Nicholls, E., Botias, C., Rotheray, EL. (2015).** Bee declines driven by combined stress from parasites, pesticides, and lack of flowers. *Science*, *347*(6229), 1255957. <https://doi.org/10.1126/science.1255957>
- Greenop, A., Mica-Hawkyard, N., Walkington, S., Wilby, A., Cook, S. M., Pywell, R. F., & Woodcock, B. A. (2020).** Equivocal Evidence for Colony Level Stress Effects on Bumble Bee Pollination Services. *Insects*, *11*(3), 191. <https://doi.org/10.3390/insects11030191>

- Gregorc, A., Sampson, B., Knight, P. R., & Adamczyk, J. (2019).** Diet quality affects honey bee (Hymenoptera: Apidae) mortality under laboratory conditions. *Journal of Apicultural Research*, 58(4), 492-493.
<https://doi.org/10.1080/00218839.2019.1614736>
- Grimaldi, D. (1999).** The co-radiations of pollinating insects and angiosperms in the Cretaceous. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 373-406.
<https://doi.org/10.2307/2666181>
- Grissa, K., Cornuet, J. M., Msadda, K., & Fresnaye, J. (1990).** Biometric study of honeybee populations in Tunisia. *Apidologie*, 21(4), 303-310.
- Groh, C., Tautz, J., & Rössler, W. (2004).** Synaptic organization in the adult honey bee brain is influenced by brood-temperature control during pupal development. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(12), 4268-4273.
<https://doi.org/10.1073/pnas.0400773101>
- 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(1-2), 1961.
- Haddad, N. J., Loucif-Ayad, W., Adjlane, N., Saini, D., Manchiganti, R., Krishnamurthy, V., AlShagoor, B., Batainh, A. M., & Mugasimangalam, R. (2015).** Draft genome sequence of the Algerian bee *Apis mellifera intermissa*. *Genomics data*, 4, 24-25.
<https://doi.org/10.1016/j.gdata.2015.01.011>
- Hafidh, S., Fíla, J., & Honys, D. (2016).** Male gametophyte development and function in angiosperms: a general concept. *Plant reproduction*, 29(1-2), 31-51.
<https://doi.org/10.1007/s00497-015-0272-4>
- Halberstadt, K. (1970).** A study of the ultrastructure and functional cycle of pharyngeal glands of the honeybee. *Cytobiologie*, 2(3), 341-358.
- Han, F., Wallberg, A., & Webster, M. T. (2012).** From where did the Western honeybee (*Apis mellifera*) originate?. *Ecology and evolution*, 2(8), 1949-1957.
<https://doi.org/10.1002/ece3.312>

- Haydak, M. H. (1970).** Honey Bee Nutrition. *Annual Review of Entomology*, 15(1), 143-156.
- Hedhly, A., Nestorova, A., Herrmann, A., & Grossniklaus, U. (2020).** Acute heat stress during stamen development affects both the germline and sporophytic lineages in *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. *Environmental and Experimental Botany*, 173, 103992. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2020.103992>
- Heidinger, I. M., Meixner, M. D., Berg, S., & Büchler, R. (2014).** Observation of the mating behavior of honey bee (*Apis mellifera* L.) queens using Radio-Frequency Identification (RFID): Factors influencing the duration and frequency of nuptial flights. *Insects*, 5(3), 513-527. <https://doi.org/10.3390/insects5030513>
- Hendriksma, H. P., Oxman, K. L., & Shafir, S. (2014).** Amino acid and carbohydrate tradeoffs by honey bee nectar foragers and their implications for plant-pollinator interactions. *Journal of insect physiology*, 69, 56-64. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2014.05.025>
- Hennebelle, S. (2010).** L'abeille In Doc apiculture.
- Henry, M., Cerrutti, N., Aupinel, P., Decourtye, A., Gayrard, M., Odoux, J. F., Pissard, A., Rüger, C., & Bretagnolle, V. (2015).** Reconciling laboratory and field assessments of neonicotinoid toxicity to honeybees. *Proceedings. Biological sciences*, 282(1819), 20152110. <https://doi.org/10.1098/rspb.2015.2110>
- Hepburn, H.R. & Radloff, S.E. (1998).** *Honeybees of Africa*. Springer-Varlag, Berlin, Heidelberg. <http://dx.doi.org/10.1007/978-3-662-03604-4>
- Herbert Jr, E. W., & Shimanuki, H. (1978).** Chemical composition and nutritive value of bee-collected and bee-stored pollen. *Apidologie*, 9(1), 33-40.
- Hess, G. (1942).** Ueber den Einfluss der Weisellosigkeit und des Fruchtbarkeitsvitamins E auf die Ovarien der Bienenarbeiterin: ein Beitrag zur Frage der Regulationen im Bienenstaa. Doctoral dissertation, ETH Zurich.
- Himmer, A. (1932).** Die Temperaturverhältnisse bei den Sozialen Hymenopteren. *Biological Reviews*, 7(3), 224-253. <https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.1962.tb01042.x>

- Hoover, S. E., Higo, H. A., & Winston, M. L. (2006).** Worker honey bee ovary development: seasonal variation and the influence of larval and adult nutrition. *Journal of Comparative Physiology B*, 176, 55-63. <https://doi.org/10.1007/s00360-005-0032-0>
- Hoover, S. E., Keeling, C. I., Winston, M. L., & Slessor, K. N. (2003).** The effect of queen pheromones on worker honey bee ovary development. *Die Naturwissenschaften*, 90(10), 477-480. <https://doi.org/10.1007/s00114-003-0462-z>
- Hrassnigg, N., & Crailsheim, K. (2005).** Differences in drone and worker physiology in honeybees (*Apis Mellifera*). *Apidologie*, 36(2), 255-277.
- Human, H., & Nicolson, S. W. (2006).** Nutritional content of fresh, bee-collected and stored pollen of *Aloe greatheadii* var. *davyana* (Asphodelaceae). *Phytochemistry*, 67(14), 1486-1492. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2006.05.023>
- Human, H., Nicolson, S. W., & Dietemann, V. (2006).** Do honeybees, *Apis mellifera* scutellata, regulate humidity in their nest?. *Die Naturwissenschaften*, 93(8), 397-401. <https://doi.org/10.1007/s00114-006-0117-y>
- Jackson, J. T., Tarpy, D. R., & Fahrbach, S. E. (2011).** Histological estimates of ovariole number in honey bee queens, *Apis mellifera*, reveal lack of correlation with other queen quality measures. *Journal of insect science*, 11, 82. <https://doi.org/10.1673/031.011.8201>
- Janmaat, A. F., & Winston, M.L. (2000).** The influence of pollen storage area and *Varroa jacobsoni* Oudemans parasitism on temporal caste structure in honey bees (*Apis mellifera* L.). *Insectes sociaux*, 47, 177-182. <https://doi.org/10.1007/PL00001698>
- Jdaidi, N., & HASNAOUI, B. (2016).** Influence des facteurs climatiques sur la phénologie de Merisier (*Prunus avium*) au Nord-Ouest de la Tunisie. *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*, 4(2), 23-31.
- Jean-Prost, P., Médori, P., & Le Conte, Y. (2005).** Apiculture: Connaître L'abeille. Conduire le Rucher. *Lavoisier*, Paris, 382.

- Johnson, B. R. (2002).** Reallocation of labor in honeybee colonies during heat stress: the relative roles of task switching and the activation of reserve labor. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 51, 188-196. <https://doi.org/10.1007/s00265-001-0419-1>
- Jones, J. C., Helliwell, P., Beekman, M., Maleszka, R., & Oldroyd, B. P. (2005).** The effects of rearing temperature on developmental stability and learning and memory in the honey bee, *Apis mellifera*. *Journal of comparative physiology. A, Neuroethology, sensory, neural, and behavioral physiology*, 191(12), 1121-1129. <https://doi.org/10.1007/s00359-005-0035-z>
- Kabli, N., & Mohammedi, A. (2018).** "Algérie: Réhabilitation de l'abeille saharienne"; *Revue Miel Maya Honing Magazine* N° 34 page 24-25.
- Kanost, M. R. (2009).** *Hemolymph*. In V. H. Resh & R. T. Cardé (Eds.), *Encyclopedia of Insects* (2nd ed., pp. 446-449). San Diego: Academic Press.
- Kefuss, J. A. (1995).** Honeybee hygienic behavior: France, Tunisia and Chile. *Apidologie (France)*.
- Khedidji, H., Abderrahmani, K., Oulebsir-Mohandkaci, H., Ladjali-Mohammedi, K., Mohammedi, A. (2022).** Effects of pollen deprivation in groups of tellian (*Apis mellifera intermissa*) and saharan (*Apis mellifera sahariensis*) honey bees under controlled conditions. *Insects*, 13(8), 727. <https://doi.org/10.3390/insects13080727>
- Kheyri, H., Cribb, B. W., Reinhard, J., Claudianos, C., & Merritt, D. J. (2012).** Novel actin rings within the secretory cells of honeybee royal jelly glands. *Cytoskeleton*, 69(12), 1032-1039. <https://doi.org/10.1002/cm.21059>
- Kim, S., Cho, S., & Lee, S. H. (2022).** Synergistic effects of imidacloprid and high temperature on honey bee colonies. *Apidologie*, 53(6), 67. <https://doi.org/10.1007/s13592-022-00980-z>
- Kleinhenz, M., Bujok, B., Fuchs, S., & Tautz, J. (2003).** Hot bees in empty broodnest cells: heating from within. *Journal of Experimental Biology*, 206(23), 4217-4231. <https://doi.org/10.1242/jeb.00680>

- Knecht, D., & Kaatz, H. H. (1990).** Patterns of larval food production by hypopharyngeal glands in adult worker honey bees. *Apidologie*, 21(5), 457-468.
- Koubová, J., Sábová, M., Brejcha, M., Kodrík, D., & Čapková Frydrychová, R. (2021).** Seasonality in telomerase activity in relation to cell size, DNA replication, and nutrients in the fat body of *Apis mellifera*. *Scientific reports*, 11(1), 592. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-79912-9>
- Kremen, C., Williams, N. M., Aizen, M. A., Gemmill-Herren, B., LeBuhn, G., Minckley, R., Packer, L., Potts, S. G., Roulston, T., Steffan-Dewenter, I., Vázquez, D. P., Winfree, R., Adams, L., Crone, E. E., Greenleaf, S. S., Keitt, T. H., Klein, A. M., Regetz, J., & Ricketts, T. H. (2007).** Pollination and other ecosystem services produced by mobile organisms: a conceptual framework for the effects of land-use change. *Ecology letters*, 10(4), 299–314. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2007.01018.x>
- Kremen, C., Williams, N. M., Aizen, M. A., Gemmill-Herren, B., LeBuhn, G., Minckley, R., ... & Ricketts, T. H. (2007).** Pollination and other ecosystem services produced by mobile organisms: a conceptual framework for the effects of land-use change. *Ecology letters*, 10(4), <https://doi.org/299-314.10.1111/j.1461-0248.2007.01018.x>.
- Kulinčević, J. M., & Rothenbuhler, W. C. (1989).** Variation in food consumed by caged worker bees from different colonies. *Journal of apicultural research*, 28(1), 26-29.
- Lan, J., Ding, G., Ma, W., Jiang, Y., & Huang, J. (2021).** Pollen source affects development and behavioral preferences in honey bees. *Insects*, 12(2), 130. <https://doi.org/10.3390/insects12020130>
- Le Conte, Y. (2004).** Mieux connaître l'abeille. La vie sociale de la colonie. Bruneau E., Barbançon J.-M., Bonnaffé P., Clément H., Domerego R., Fert G., Le Conte Y., Ratia G., Reeb C., Vaissière B. *Le traité Rustica de l'apiculture*. Rustica éditions, Paris, 12-83.

- Le Conte, Y., & Navajas, M. (2008).** Climate change: impact on honey bee populations and diseases. *Revue Scientifique et Technique-Office International des Epizooties*, 27(2), 499-510.
- Lee, G., & Park, J. H. (2004).** Hemolymph sugar homeostasis and starvation-induced hyperactivity affected by genetic manipulations of the Adipokinetic hormone-encoding gene in *Drosophila Melanogaster*. *Genetics*, 167(1), 311. <https://doi.org/10.1534/genetics.167.1.311>
- Leonhard, B., & Crailsheim, K. (1999).** Amino acids and osmolarity in honeybee drone hemolymph. *Amino Acids*, 17. <https://doi.org/10.1007/BF01361882>
- Levy, F., Bulet, P., & Ehret-Sabatier, L. (2004).** Proteomic analysis of the systemic immune response of drosophila. *Molecular & Cellular Proteomics*, 3(2), 156–166. <https://doi.org/10.1074/mcp.M300114-MCP200>
- Li, G., Zhao, H., Guo, H., Wang, Y., Cui, X., Li, H., Xu, B., & Guo, X. (2020).** Analyses of the function of Dnaj family proteins reveal an underlying regulatory mechanism of heat tolerance in honeybee. *The Science of the total environment*, 716, 137036. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137036>
- Li, X., Ma, W., & Jiang, Y. (2022).** Heat stress affects the expression of antimicrobial peptide genes in adult honeybee (*Apis cerana* and *Apis mellifera*). *International Journal of Tropical Insect Science*, 42(3), 2465-2471. <https://doi.org/10.1007/s42690-022-00774-x>
- Lin, H., & Winston, M.L. (1998).** The role of nutrition and temperature in the ovarian development of the worker honey bee (*Apis Mellifera*). *The Canadian Entomologist*, 130(6), 883-891. <https://doi.org/10.4039/Ent130883-6>
- Liu, Z., Xi, D., Kang, M., Guo, X., & Xu, B. (2012).** Molecular cloning and characterization of hsp27.6: the first reported small heat shock protein from *Apis cerana cerana*. *Cell Stress and Chaperones*, 17, 539–551. <https://doi.org/10.1007/s12192-012-0330-x>
- Liu, Z., Yao, P., Guo, & X., Xu, B. (2014).** Two small heat shock protein genes in *Apis cerana cerana*: characterization, regulation, and developmental expression. *Gene*, 545(2), 205–214. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2014.05.034>

- López-Uribe, M. M., Ricigliano, V. A., & Simone-Finstrom, M. (2020).** Defining pollinator health: a holistic approach based on ecological, genetic, and physiological factors. *Annual review of animal biosciences*, *8*, 269–294. <https://doi.org/10.1146/annurev-animal-020518-115045>
- Louveaux, J. (1954).** Etudes sur la récolte du pollen par les abeilles. *Apiculteur*, *98*(12), 43–50.
- Mallek, S., Ladjali, K., & Mohammedi, A. (2018).** Les menaces naturelles et anthropiques mettant en péril l'existence de l'abeille saharienne en Algérie. *Bulletin de la Société d'Histoire Naturelle d'Afrique du Nord*, *74*, 165-196.
- Mattila, H. R., & Otis, G. W. (2006).** Effects of pollen availability and Nosema infection during the spring on division of labor and survival of worker honey bees (*Hymenoptera: Apidae*). *Environmental entomology*, *35*(3), 708-717. <https://doi.org/10.1603/0046-225X-35.3.708>
- Mayack, C., Phalen, N., Carmichael, K., White, H. K., Hirche, F., Wang, Y., ... & Amdam, G. V. (2019).** Appetite is correlated with octopamine and hemolymph sugar levels in forager honeybees. *Journal of Comparative Physiology A*, *205*, 609-617. <https://doi.org/10.1007/s00359-019-01352-2>
- McAfee, A., Chapman, A., Higo, H., Underwood, R., Milone, J., Foster, L. J., ... & Pettis, J. S. (2020).** Vulnerability of honey bee queens to heat-induced loss of fertility. *Nature Sustainability*, *3*(5), 367-376. <https://doi.org/10.1038/s41893-020-0493-x>
- Medina, R. G., Paxton, R. J., De Luna, E., Fleites-Ayil, F., Medina, L., & Quezada-Euán, G. (2018).** Developmental Stability, Age at Onset of Foraging, and Longevity of Africanized Honey Bees (*Apis Mellifera L.*) Under Heat Stress. *Journal of Thermal Biology*, *74*, 214–225. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2018.04.003>
- Medina-Flores, C. A., López-Carlos, M., Carrillo-Muro, O., & Gray, A. (2023).** Honey Bee Colony Losses in Mexico's Semi-Arid High Plateau for the Winters 2016-2017 to 2021-2022. *Insects*, *14*(5), 453. <https://doi.org/10.3390/insects14050453>

- Medori, P., & Colin, M. E. (1982).** Honeybees: how to choose them and protect them from their enemies. *Honeybees: how to choose them and protect them from their enemies*.
- Mesihovic, A., Iannacone, R., Firon, N., & Fragkostefanakis, S. (2016).** Heat stress regimes for the investigation of pollen thermotolerance in crop plants. *Plant reproduction*, 29(1-2), 93–105. <https://doi.org/10.1007/s00497-016-0281-y>
- Mohammedi, A., Crauser, D., Paris, A., & Le Conte, Y. (1996).** Effect of a brood pheromone on honeybee hypopharyngeal glands. *Comptes rendus de l'Academie des sciences. Serie III, Sciences de la vie*, 319(9), 769–772.
- Mora, C., Dousset, B., Caldwell, I. R., Powell, F. E., Geronimo, R. C., Bielecki, C. R., ... & Trauernicht, C. (2017).** Global risk of deadly heat. *Nature climate change*, 7(7), 501-506. <https://doi.org/10.1038/nclimate3322>
- Mora, C., Frazier, A. G., Longman, R. J., Dacks, R. S., Walton, M. M., Tong, E. J., Sanchez, J., Kaiser, L., Stender, Y., Anderson, J., Ambrosino, C., Fernandez-Silva, I., Giuseffi, L., & Giambelluca, T. W. (2013).** The projected timing of climate departure from recent variability. *Nature*, 502(7470), 183-187. <https://doi.org/10.1038/nature12540>
- Muta, T., & Iwanaga, S. (1996).** The role of hemolymph coagulation in innate immunity. *Current opinion in immunology*, 8(1), 41–47. [https://doi.org/10.1016/s0952-7915\(96\)80103-8](https://doi.org/10.1016/s0952-7915(96)80103-8)
- Neves, E. F., Faita, M. R., Gaia, L. D. O., Alves Junior, V. V., & Antonialli-Junior, W. F. (2011).** Influence of climate factors on flight activity of drones of *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). *Sociobiology*, 57(1), 107-114.
- Newton, D. C., & Michl, D. J. (1974).** Cannibalism as an indication of pollen insufficiency in honeybees: Ingestion or recapping of manually exposed pupae. *Journal of Apicultural Research*, 13(4), 235–241.
- Nicolson, S. W. (2009).** Water homeostasis in bees, with the emphasis on sociality. *Journal of Experimental Biology*, 212(3), 429-434. <https://doi.org/10.1242/jeb.022343>

- Nicolson, S. W., Neves, S. D. S. D., Human, H., & Pirk, C. W. (2018).** Digestibility and nutritional value of fresh and stored pollen for honey bees (*Apis mellifera scutellata*). *Journal of Insect Physiology*, 107, 302–308. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2017.12.008>
- Noirot, C. (1989).** Social structure in termite societies. *Ethology, Ecology & Evolution*, 1(1), 1-17. <https://doi.org/10.1080/08927014.1989.9525528>
- Oberreiter, H., & Brodschneider, R. (2020).** Austrian COLOSS survey of honey bee colony winter losses 2018/19 and analysis of hive management practices. *Diversity*, 12(3), 99.
- Ohashi, K., Natori, S., & Kubo, T. (1999).** Expression of amylase and glucose oxidase in the hypopharyngeal gland with an age-dependent role change of the worker honeybee (*Apis mellifera* L.). *European journal of biochemistry*, 265(1), 127–133. <https://doi.org/10.1046/j.1432-1327.1999.00696.x>
- Ohashi, M., Okada, R., Kimura, T., & Ikeno, H. (2009).** Observation system for the control of the hive environment by the honeybee (*Apis mellifera*). *Behavior Research Methods*, 41(3), 782–786. <https://doi.org/10.3758/BRM.41.3.782>
- Oldroyd, B. P., Smolenski, A. J., Cornuet, J. M., Wongsiri, S., Estoup, A., Rinderer, T. E., & Crozier, R. H. (1995).** Levels of polyandry and intracolony genetic relationships in *Apis florea*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 37, 329–335.
- Oster, G. F., & Wilson, E. O. (1978).** Caste and Ecology in the Social Insects (Princeton University). *Princeton, New Jersey, USA*.
- Ouali, S., Khellaf, A., & Baddari, K. (2007).** Etude des ressources géothermiques du sud algérien. *Revue des Énergies Renouvelables*, 10(3), 407–414.
- Page, R. E., Jr, & Peng, C. Y. (2001).** Aging and development in social insects with emphasis on the honey bee, *Apis mellifera* L. *Experimental gerontology*, 36(4-6), 695–711. [https://doi.org/10.1016/s0531-5565\(00\)00236-9](https://doi.org/10.1016/s0531-5565(00)00236-9)
- Pain, J. (1951).** L'alimentation et le développement des ovaires chez l'ouvrière d'abeille (*Apis mellifica* L.). *Archives Internationales de Physiologie*, 59(2), 203–210. <https://doi.org/10.3109/13813455109144998>

- Pate, J. S., Peoples, M. B., Storer, P. J., & Atkins, C. A. (1985).** The extrafloral nectaries of cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) II. Nectar composition, origin of nectar solutes, and nectary functioning. *Planta*, *166*(1), 28–38. <https://doi.org/10.1007/BF00397382>
- Pernal, S. F., & Currie, R. W. (2000).** Pollen quality of fresh and 1-year-old single pollen diets for worker honey bees (*Apis mellifera* L.). *Apidologie*, *31*(3), 387–409. <https://doi.org/10.1051/apido:2000130>
- Peters, J. M., Peleg, O., & Mahadevan, L. (2019).** Collective ventilation in honeybee nests. *Journal of The Royal Society Interface*, *16*(150), 20180561. <https://doi.org/10.1098/rsif.2018.0561>
- Pettis, J. S., Rice, N., Joselow, K., Low, K., vanEngelsdorp, D., & Chaimanee, V. (2016).** Colony Failure Linked to Low Sperm Viability in Honey Bee (*Apis mellifera*) Queens and an Exploration of Potential Causative Factors. *PLoS ONE*, *11*(2), e0147220. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0147220>
- Petz, M., Stabentheiner, A., & Crailsheim, K. (2004).** Respiration of individual honeybee larvae in relation to age and ambient temperature. *Journal of Comparative Physiology B*, *174*, 511–518. <https://doi.org/10.1007/s00360-004-0439-z>
- Pirk, C. W. W., Boodhoo, C., Human, H., & Nicolson, S. W. (2010).** The importance of protein type and protein to carbohydrate ratio for survival and ovarian activation of caged honey bees (*Apis mellifera scutellata*). *Apidologie*, *41*(1), 62–72. <https://doi.org/10.1051/apido/2009055>
- Poiani, S. B., & da Cruz-Landim, C. (2012).** Stored products and presence of acid phosphatase in fat body cells at the pre-pupal worker stage of *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 (Hymenoptera, Apidae). *Micron*, *43*(2_3), 475–478. <https://doi.org/10.1016/j.micron.2011.11.006>
- Polatto, L. P., Chaud-Netto, J., & Alves-Junior, V. V. (2014).** Influence of abiotic factors and floral resource availability on daily foraging activity of bees: influence of abiotic and biotic factors on bees. *Journal of Insect Behavior*, *27*, 593–612. <https://doi.org/10.1007/s10905-014-9452-6>

- Pollard, T. D., Earnshaw, W. C., Lippincott-Schwartz, J., & Johnson, G. (2022).** *Cell biology E-book*. Elsevier Health Sciences.
- Potts, S. G., Biesmeijer, J. C., Kremen, C., Neumann, P., Schweiger, O., & Kunin, W. E. (2010).** Global pollinator declines: trends, impacts, and drivers. *Trends in Ecology & Evolution*, 25(6), 345-353. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2010.01.007>
- Rabeling, C., & Kronauer, D. J. (2013).** Thelytokous parthenogenesis in eusocial Hymenoptera. *Annual review of entomology*, 58, 273-292. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-120811-153710>
- Radcliffe, R. M. (2021).** Physiology of the honey bee—principles for the beekeeper and veterinarian. *Honey Bee Medicine for the Veterinary Practitioner*, 41-53.
- Raffiudin, R., & Crozier, R. H. (2007).** Phylogenetic analysis of honey bee behavioral evolution. *Molecular phylogenetics and evolution*, 43(2), 543-552. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2006.10.013>
- Rasmont, P., Franzén, M., Lecocq, T., Harpke, A., Roberts, S. P. M., Biesmeijer, J. C., ... & Schweiger, O. (2015).** Climatic Risk and Distribution Atlas of European Bumblebees. *Biorisk*, 10(Special Issue), 246 pp. <https://doi.org/10.3897/biorisk.10.4749>
- Requier, F., Odoux, J-F., Henry, M., & Bretagnolle, M. (2017).** The carry-over effects of pollen shortage decrease the survival of honeybee colonies in farmlands. *Journal of Applied Ecology*, 54(4), 1161-1170. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.12836>
- Resh, V. H., & Cardé, R. T. (Eds.). (2009).** *Encyclopedia of insects*. Academic press.
- Richardson, R. T., Ballinger, M. N., Qian, F., Christman, J. W., & Johnson, R. M. (2018).** Morphological and functional characterization of honey bee, *Apis mellifera*, hemocyte cell communities. *Apidologie*, 49(4), 397-410. <https://doi.org/10.1007/s13592-018-0566-2>
- Richter, K. N., Rolke, D., Blenau, W., & Baumann, O. (2016).** Secretory cells in honeybee hypopharyngeal gland: polarized organization and age-dependent

dynamics of plasma membrane. *Cell and tissue research*. 366, 163–174.
<https://doi.org/10.1007/s00441-016-2423-9>

Ricigliano, V. A., Fitz, W., Copeland, D. C., Mott, B. M., Maes, P., Floyd, A. S., Dockstader, A., & Anderson, K. E. (2017). The impact of pollen consumption on honey bee (*Apis mellifera*) digestive physiology and carbohydrate metabolism. *Archives of insect biochemistry and physiology*, 96(2).
<https://doi.org/10.1002/arch.21406>

Riffkin, P., Moerkerk, M., Kearney, G., Jahufer, Z., & Argall, R. (2005). Effective weed control for the Australian white clover seed industry. *Rural Industries Research and Development Corporation, Barton, ACT*.

Ritter, W. (Éditeur). (2014). *Bee Health and Veterinarians*. World Organisation for Animal Health (OIE), Paris.

Roberts, S. P., & Harrison, J. F. (1999). Mechanisms of thermal stability during flight in the honeybee *Apis mellifera*. *The Journal of experimental biology*, 202 (11), 1523–1533. <https://doi.org/10.1242/jeb.202.11.1523>

Robinson, G. E. (1987). Modulation of alarm pheromone perception in the honey bee: evidence for division of labor based on hormonally regulated response thresholds. *Journal of Comparative Physiology A*, 160(5), 613-619.
<https://doi.org/10.1007/BF00611934>

Roulston, T. H., & Cane, J. H. (2000). Pollen nutritional content and digestibility for animals. *Plant Systematics and Evolution*, 222, 187-209.

Rueppell, O., Page Jr, R. E., & Fondrk, M. K. (2006). Male behavioural maturation rate responds to selection on pollen hoarding in honeybees. *Animal behaviour*, 71(1), 227-234. <https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2005.05.008>

Russell, K. A., & McFrederick, Q. S. (2021). Elevated Temperature May Affect Nectar Microbes, Nectar Sugars, and Bumble Bee Foraging Preference. *Microbial Ecology*, 84(2), 473-482. <https://doi.org/10.1007/s00248-021-01881-x>

Ruttner, F. (1968). Systématique du genre *Apis*. Les races d'abeilles. In : Chauvin R. *Traité de biologie de l'abeille*, tome I. Eds. masson et cie. Paris. 1-44.

- Ruttner, F. (1988).** Biogeography and Taxonomy of Honey Bees. Springer-Verlag, Germany.
- Ruttner, F., Hesse, B. (1981).** Rassenspezifische unterschiede in ovarentwicklung und eiablage von weisellosen arbeiterinnen der honibiene *Apis Mellifera L.* *Apidologie*, 12(12), 159–183. <https://doi.org/10.1051/apido:19810206>
- Ruttner, F., Tassencourt, L., & Louveaux, J. (1978).** Biometrical-statistical analysis of the geographic variability of *Apis mellifera L.* *Apidologie*, 9(4), 363-381.
- Sánchez-Bayo, F., Goulson, D., Pennacchio, F., Nazzi, F., Goka, K., & Desneux, N. (2016).** Are bee diseases linked to pesticides? - A brief review. *Environment international*, 89-90, 7–11. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2016.01.009>
- Sanz, M. L., Gonzalez, M., de Lorenzo, C., Sanz, J., & Martinez-Castro, I. (2005).** A contribution to the differentiation between nectar honey and honeydew honey. *Food Chemistry*, 91(2), 313–317. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.06.013>
- Schmickl, T., & Crailsheim, K. (2001).** Cannibalism and early capping: strategy of honeybee colonies in times of experimental pollen shortages. *Journal of comparative physiology. A, Sensory, neural, and behavioral physiology*, 187(7), 541–547. <https://doi.org/10.1007/s003590100226>
- Schmickl, T., & Crailsheim, K. (2002).** How honeybees (*Apis mellifera L.*) change their broodcare behaviour in response to non-foraging conditions and poor pollen conditions. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 51, 415–425.
- Schmickl, T., & Crailsheim, K. (2004).** Costs of environmental fluctuations and benefits of dynamic decentralized foraging decisions in honey bees. *Adaptive Behavior*, 12(3-4), 263–277. <https://doi.org/10.1177/105971230401200311>
- Schmidt, JO., Thoenes, S. C., & Levin, MD. (1987).** Survival of honey bees, *Apis mellifera (Hymenoptera: Apidae)*, fed various pollen sources. *Annals of the Entomological Society of America*, 80(2), 176–183.
- Schulz, DJ., Huang, ZY., & Robinson, G. E. (1998).** Effects of colony food shortage on behavioral development in honey bees. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 42, 295–303.

- Scofield, H. N., & Mattila, H. R. (2015).** Honey bee workers that are pollen stressed as larvae become poor foragers and waggle dancers as adults. *PLoS ONE*, *10*(4), e0121731. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0121731>
- Seehuus, S. C., Norberg, K., Krekling, T., Fondrk, K., & Amdam, G. V. (2007).** Immunogold localization of vitellogenin in the ovaries, hypopharyngeal glands, and head fat bodies of honeybee workers, *Apis Mellifera*. *Journal of Insect Science*, *7*(1), 1–14. <https://doi.org/10.1673/031.007.5201>
- Seehuus, S.-C., Norberg, K., Gimsa, U., Krekling, T., & Amdam, G. V. (2006).** Reproductive protein protects functionally sterile honey bee workers from oxidative stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *103*(4), 962–967. <https://doi.org/10.1073/pnas.0502681103>
- Seeley, TD. (1982).** Adaptive significance of the age polyethism schedule in honeybee colonies. *Behavioral ecology and sociobiology*, *11*:287–293.
- Seeley, TD. (1985).** *Honeybee ecology*. a study of adaptation in social life. Princeton University Press.
- Seguin, B. (2010).** Le changement climatique: conséquences pour les végétaux. *Quaderni*, *71*(1), 27–40. <https://doi.org/10.4000/quaderni.525>
- Serra Bonvehi, J. (1991).** Composition en sels minéraux et en vitamines de la gelée royale. *Bulletin Technique Apicole*, *18*(1).
- Severson, D.W., Erickson, E.H., Williamson, J.L., & Aiken, JM. (1990).** Heat stress induced enhancement of heat shock protein gene activity in the honey bee (*Apis mellifera*). *Experientia*, *46*, 737–739. <https://doi.org/10.1007/BF01939951>
- Shaibi, T., Fuchs, S., & Moritz, RF. (2009).** Morphological study of honeybees (*Apis mellifera*) from Libya. *Apidologie*, *40*(2), 97–105. <https://doi.org/10.1051/apido/2008068>
- Sheppard, W. S., & Meixner, M. D. (2003).** *Apis mellifera pomonella*, a new honey bee subspecies from Central Asia. *Apidologie*, *34*(4), 367–375. <https://doi.org/10.1051/apido:2003037>

- Siegel, A.J., Hui, J., Johnson, R. N., & Starks, P.T. (2005).** Honey bee workers as mobile insulating units. *Insectes Sociaux*, 52(3), 242-246. <https://doi.org/10.1007/s00040-005-0805-1>
- Skorbiłowicz, E., Skorbiłowicz, M., & Cieśluk, I. (2018).** Bees as bioindicators of environmental pollution with metals in an urban area. *Journal of Ecological Engineering*, 19(3), 229-234.
- Snodgrass, R. E. (1956).** *Anatomy of the honey bee*. Cornell University Press
- Southwick, E., Heldmaier, G. (1987).** Temperature control in honey bee colonies. *Bioscience*, 37(6), 395-399. <https://doi.org/10.2307/1310562>
- Souza-Junior, J. B. F., Teixeira-Souza, V. H. D. S., Oliveira-Souza, A., de Oliveira, P. F., de Queiroz, J. P. A. F., & Hrcir, M. (2020).** Increasing thermal stress with flight distance in stingless bees (*Melipona subnitida*) in the Brazilian tropical dry forest: Implications for constraint on foraging range. *Journal of insect physiology*, 123, 104056. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2020.104056>
- Speranza, A., Calzoni, G. L., & Pacini, E. (1997).** Occurrence of mono- or disaccharides and polysaccharide reserves in mature pollen grains. *Sexual Plant Reproduction*, 10, 110–115.
- Starks, P. T., & Gilley, D. C. (1999).** Heat shielding: A novel method of colonial thermoregulation in honey bees. *Naturwissenschaften*, 86, 438-440. <https://doi.org/10.1007/s001140050648>
- Stindl, R., & Stindl, W. (2010).** Vanishing honey bees: Is the dying of adult worker bees a consequence of short telomeres and premature aging? *Medical Hypotheses*, 75(4), 387-390. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2010.04.003>
- Sutton, T. L., DeGabriel, J. L., Riegler, M., & Cook, J. M. (2018).** A temperate pollinator with high thermal tolerance is still susceptible to heat events predicted under future climate change: Temperate fig wasps and climate change. *Ecological Entomology*, 43(4), 506-512. <https://doi.org/10.1111/een.12528>
- Svoboda, J. A., Thompson, M.J., Herbert, Jr EW., & Shimanuki, H. (1980).** Sterol utilization in honey bees fed a synthetic diet: analysis of prepupal sterols. *Journal of Insect Physiology*, 26(5), 291–294.

- Thibault, M. (2017).** Le pollen apicole: ses propriétés et ses utilisations thérapeutiques. Thèse de doctorat, Université de Lorraine.
- Tibor, S. I., Mills, P. F., & Heikel, D. T. (1987).** Effects of honeybee queen weight and air temperature on the initiation of oviposition. *Journal of Apicultural Research*, 26(2), 73-78. <https://doi.org/10.1080/00218839.1987.11100740>
- Tofilski, A. (2012).** Honeybee Drawing. Consulté en ligne le 17 janvier 2021, sur <http://www.honeybee.drawing.org>
- Tong, L., Nieh, J. C., & Tosi, S. (2019).** Combined nutritional stress and a new systemic pesticide (flupyradifurone, Sivanto®) reduce bee survival, food consumption, flight success, and thermoregulation. *Chemosphere*, 237, 124408. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124408>
- Van Wyk, B. E., Whitehead, C. S., Glen, H. F., Hardy, D. S., Van Jaarsveld, E. J., & Smith, G. F. (1993).** Nectar sugar composition in the subfamily Alloideaec (Aphodelaceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, 21(2), 249-253.
- Vanengelsdorp, D., Evans, J. D., Saegerman, C., Mullin, C., Haubruge, E., Nguyen, B. K., Frazier, M., Frazier, J., Cox-Foster, D., Chen, Y., Underwood, R., Tarry, D. R., & Pettis, J. S. (2009).** Colony collapse disorder: a descriptive study. *PLoS one*, 4(8), e6481. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0006481>
- vanEngelsdorp, D., Hayes, J., Underwood, R. M., & Pettis, J. (2008).** A survey of honey bee colony losses in the US, fall to spring 2008. *PLoS One*, 3(12), e4071. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0004071>
- Vaudo, A. D., Tooker, J. F., Grozinger, C. M., & Patch, H. M. (2015).** Bee nutrition and floral resource restoration. *Current opinion in insect science*, 10, 133-141. <https://doi.org/10.1016/j.cois.2015.05.008>
- Velthuis, H. H. W. (1970).** Ovarian development in *Apis mellifera* worker bees. *Entomologia experimentalis et applicata*, 13(4), 377-394.
- Vidau, C., Diogon, M., Aufauvre, J., Fontbonne, R., Vigùès, B., Brunet, J. L., ... & Delbac, F. (2011).** Exposure to sublethal doses of fipronil and thiacloprid highly increases mortality of honeybees previously infected by *Nosema*

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0021550>

- Vierstraete, E., Verleyen, P., Baggerman, G., D'Hertog, W., Van den Bergh, G., Arckens, L., ... & Schoofs, L. (2004).** A proteomic approach for the analysis of instantly released wound and immune proteins in *Drosophila melanogaster* hemolymph. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(2), 470-475. <https://doi.org/10.1073/pnas.0304567101>
- Von Frisch, K. (2011).** *Vie et Mœurs des Abeilles*. Albin Michel.
- Von Rhein, W. (1933).** Über die Entstehung des weiblichen Dimorphismus im Bienenstaate. *Wilhelm Roux' Archiv für Entwicklungsmechanik der Organismen*, 129, 601-665.
- Von Zglinicki, T. (2002).** Oxidative stress shortens telomeres. *Trends in Biochemical Sciences*, 27(7), 339–344. [https://doi.org/10.1016/S0968-0004\(02\)02110-2](https://doi.org/10.1016/S0968-0004(02)02110-2)
- Waller, GD. (1972).** Evaluating responses of honey bees to sugar solutions using an artificial-flower feeder. *Annals of the Entomological Society of America*, 65(4), 857–862.
- Walters, J., Zavalnitskaya, J., Isaacs, R., & Szendrei, Z. (2022).** Heat of the moment: extreme heat poses a risk to bee-plant interactions and crop yields. *Current Opinion in Insect Science*, 52, 100927. <https://doi.org/10.1016/j.cois.2022.100927>
- Wegener, J., Huang, Z. Y., Lorenz, M. W., & Bienefeld, K. (2009).** Regulation of hypopharyngeal gland activity and oogenesis in honey bee (*Apis mellifera*) workers. *Journal of insect physiology*, 55(8), 716–725. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2009.05.003>
- Wendling, S. (2012).** *Varroa destructor* (ANDERSON et TRUEMAN, 2000), un acarien ectoparasite de l'abeille domestique *Apis mellifera* Linnaeus, 1758: *Revue bibliographique et contribution à l'étude de sa reproduction*.
- Whitfield, C. W., Behura, S. K., Berlocher, S. H., Clark, A. G., Johnston, J. S., Sheppard, W. S., Smith, D. R., Suarez, A. V., Weaver, D., & Tsutsui, N. D. (2006).** Thrice out of Africa: ancient and recent expansions of the honey bee, *Apis*

mellifera. *Science*, 314(5799),

642–645.

<https://doi.org/10.1126/science.1132772>

Wilson, E. O. (1971). *The insect societies*. Cambridge, Massachusetts, USA, Harvard University Press [Distributed by Oxford University Press].

Winston, M. L., & Slessor, K. N. (1998). Honey bee primer pheromones and colony organization: gaps in our knowledge. *Apidologie*, 29, 81–95.
<https://doi.org/10.1051/apido:199801055>

Winston, M. L., Higo, H. A., Colley, S. J., Pankiw, T., & Slessor, K. N. (1991). The role of queen mandibular pheromone and colony congestion in honey bee (*Apis mellifera* L.) reproductive swarming (*Hymenoptera: Apidae*). *Journal of Insect Behavior*, 4, 649–660.

Winston, M.L. (1987). *The Biology of the Honey Bee*. Harvard University Press, Cambridge, Mass. 281 pp.

Wodehouse, RP. (1926). Pollen grain morphology in the classification of the Anthemideae. *Bulletin of the Torrey Botanical Club*, 53, 479–485.

Woodcock, B. A. (2020). Equivocal evidence for colony level stress effects on bumble bee pollination services. *Insects*, 11(3), 191.
<https://doi.org/10.3390/insects11030191>

Wykes, GR. (1952). An investigation of the sugars present in the nectar of flowers of various species. *The New Phytologist*, 51(2), 210–215.

Xu, Y., Ramanathan, V., & Victor, D. G. (2018a). Global warming will happen faster than we think. *Nature*, 564, 30–32. <https://doi.org/10.1038/d41586-018-07586-5>

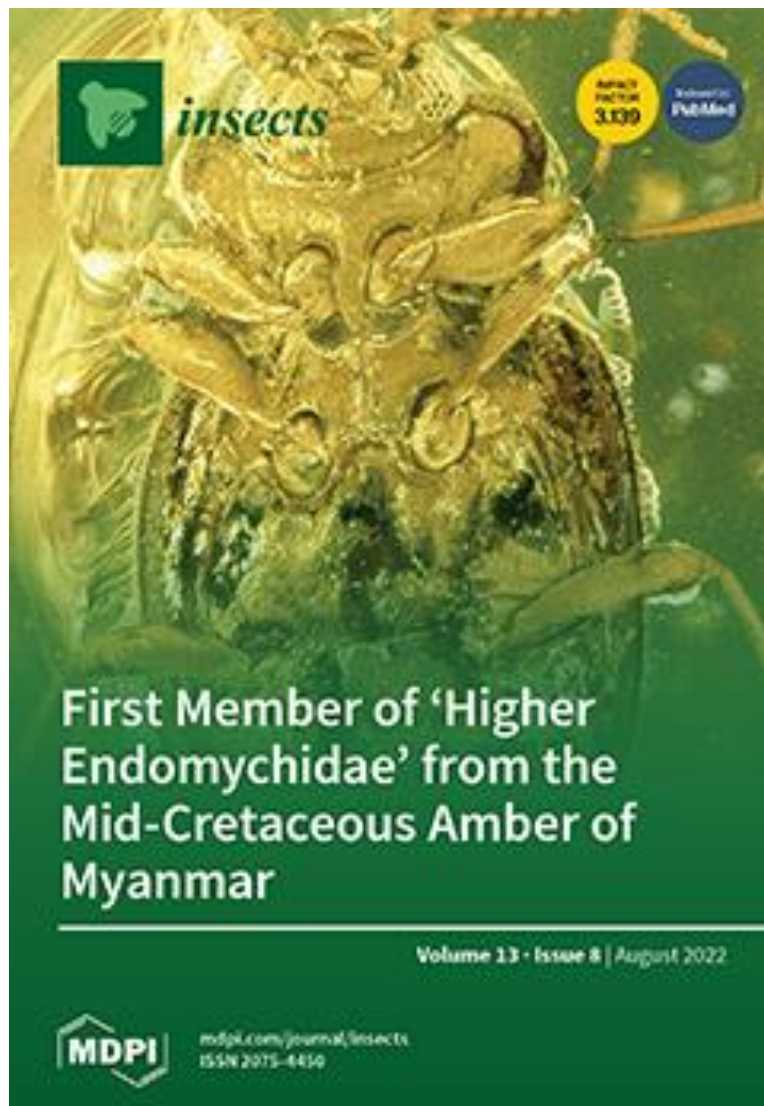
Zakaria, M. E. (2007). Factors affecting on the food metabolism in some honey bee races. *Journal of Applied Sciences Research*, 3(4), 311–316.

Zhang, Y., Liu, Y., Guo, X., Li, Y., Gao, H., Guo, X., & Xu, B. (2014). sHsp22.6, an intronless small heat shock protein gene, is involved in stress defense and development in *Apis cerana cerana*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 53, 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2014.06.007>

Zhao, H., Li, G., Guo, D., Li, H., Liu, Q., Xu, B., & Guo, X. (2021). Response mechanisms to heat stress in bees. *Apidologie*, 52, 388–399.
<https://doi.org/10.1007/s13592-020-00830-w>

ANNEXES



Effects of pollen deprivation in groups of tellian (*Apis mellifera intermissa*) and saharan (*Apis mellifera sahariensis*) honey bees under controlled conditions



Khedidji, H., Abderrahmani, K., Oulebsir-Mohandkaci, H., Ladjali-Mohammedi, K., & Mohammedi, A. (2022). Effects of pollen deprivation in groups of tellian (*Apis mellifera intermissa*) and saharan (*Apis mellifera sahariensis*) honey bees under controlled conditions. *Insects*, 13(8), 727.

Article

Effects of Pollen Deprivation in Groups of Tellian (*Apis mellifera intermissa*) and Saharan (*Apis mellifera sahariensis*) Honey Bees under Controlled Conditions

Hassiba Khedidji ^{1,*}, Khaled Abderrahmani ², Hakima Oulebsir-Mohandkaci ¹, Kafia Ladjali-Mohammedi ³ and Arezki Mohammedi ¹

¹ Laboratory of Valorization and Conservation of Biological Resources, Faculty of Sciences, University M'hamed Bougara of Boumerdes, Boumerdes 35000, Algeria

² National Centre for Research and Development of Fisheries and Aquaculture (CNRDPA), Boulevard Colonel Amirouche Bouismail, Tipaza 42415, Algeria

³ Laboratory of Cellular and Molecular Biology, University of Sciences and Technology Houari Boumediene (USTHB), El-Alia, Bab-Ezzouar, Algiers 16110, Algeria

* Correspondence: h.khedidji@univ-boumerdes.dz; Tel.: +213-698580099

Simple Summary: Pollen is a key element in bee nutrition, containing proteins, vitamins and lipids that support the vital functions of bees. Nutritional stress affects bees from the larval to the adult stage, both at the individual and colony levels. To face this type of stress, the bees developed behavioral and physiological mechanisms to fight against it. Such type of response can vary depending on the breed and age of the bees. In this study under controlled conditions, we investigated the impact of a protein-free diet on physiological functions, including survival, hypopharyngeal gland development, hemolymph proteins and ovarian development of two local bees, *Apis mellifera intermissa* and *Apis mellifera sahariensis*.



Citation: Khedidji, H.; Abderrahmani, K.; Oulebsir-Mohandkaci, H.; Ladjali-Mohammedi, K.; Mohammedi, A. Effects of Pollen Deprivation in Groups of Tellian (*Apis mellifera intermissa*) and Saharan (*Apis mellifera sahariensis*) Honey Bees under Controlled Conditions. *Insects* **2022**, *13*, 727. <https://doi.org/10.3390/insects13080727>

Academic Editor: Silvio Erler

Received: 21 June 2022

Accepted: 9 August 2022

Published: 15 August 2022

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: Worldwide, honey bees are increasingly faced with periods of pollen scarcity, which can lead to nutritional deficiencies, especially of proteins and amino acids. These are essential for the proper functioning of the single organism and the colony. To understand how bees react to protein deficiency, under controlled conditions, we studied the effect of pollen deficiency on the main physiological parameters in two subspecies endemic of Algeria, *Apis mellifera intermissa* and *Apis mellifera sahariensis*. Emerging workers of both subspecies were reared with two diets: one was pollen-fed, whereas the other pollen-deprived. Several physiological criteria were measured depending on the type of diet and subspecies: the survival of the bees, the amount of total protein in the hemolymph, hypopharyngeal glands development and the ovary development of workers. These last three parameters were assessed at three different ages (7, 14 and 21 days). At birth, *sahariensis* workers weighed more than *intermissa*. With the same protein diet, the average life expectancy of *sahariensis* was extended by 5.55 days compared to *intermissa*. Even if deprived of pollen, *sahariensis* lived longer than *intermissa* fed with pollen ($p < 0.001$). In the three age levels, the hypopharyngeal glands were more developed and less affected by pollen deficiency ($p < 0.001$) in *sahariensis* than in *intermissa* ($p < 0.001$). The total hemolymph protein was higher in *intermissa* than in *sahariensis* regardless of the diet, and was also higher in protein-fed than in deprived bees ($p < 0.001$). The ovaries developed more rapidly with a high proportion in *intermissa* than in *sahariensis* ($p < 0.05$) regardless of the diet, and was also higher in the bees fed with pollen than those deprived ($p < 0.05$). Pollen deficiency generates physiological alterations and modifications, the amplitude of which varied according to the subspecies of the bee studied.

Keywords: *Apis mellifera intermissa*; *Apis mellifera sahariensis*; pollen deficiency; ovary development; hypopharyngeal glands; hemolymph protein; lifespan

1. Introduction

The natural habitat of the *Apis mellifera* bee extends from South Africa through the savannah, rainforest, desert and mild climate of the Mediterranean reaching the limit of its expansion in northern Europe and southern Scandinavia [1]. More than 25 sub-species of bees evolved within such a variety of habitats, climatic conditions and flora, with its own characteristic adaptations to each region [2,3]. Two endemic honey bee subspecies, *Apis mellifera intermissa* (Tellian bee) and *Apis mellifera sahariensis* (Saharan bee), are present in Algeria. *A. mellifera intermissa* inhabits the majority of Algerian apiaries, while *A. mellifera sahariensis* is confined to the southwestern region of Algeria [4]. *A. mellifera sahariensis* faces several threats that are of anthropic and natural origin, such as the drought that is increasingly frequent in the steppe and the Sahara. In addition, global warming could aggravate the already precarious situation of *A. mellifera sahariensis* [5].

The Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC) reports an approximate temperature increase in the range of 1.1–6.4 °C by the end of this century. This climate change can have a negative effect on the bee itself but also on its floral environment [6]. Excessively dry climate reduces pollen, which is the only source of proteins for bees [7]. Actually, the ratio and level of the major nutritional components of pollen, including proteins and their constituent amino acids, lipids (including flavonoids phytosterols), carbohydrates, and vitamins and secondary metabolites such as carotenoids, determine its nutritional value [8]. Pollen with good nutritional value provides high levels of hemolymph proteins [9] and ensures survival and good colony growth [10]. The need for protein is variable; it is linked to age, health and physiological status. The nurses require an adequate protein intake to be able to develop their hypopharyngeal glands (HGP) and to synthesize royal jelly. Protein-rich pollen permits a good development of HGP [11], improves the reproductive system, promotes ovarian development and increases drone fertility [12,13], boosts the immune defense [10] and increases the activity of digestive enzymes [14]. Consequently, worker bees that suffer from pollen deprivation have a shorter lifespan [15,16], start foraging earlier [17,18], have less developed hypopharyngeal glands [19], poor ovarian development [12], have lower flight efficiency [20], and have lower levels of vitellogenin and transferrin expression [21].

However, as *A. mellifera sahariensis* has been evolving for thousands of years in an arid and hostile environment, whose thermal amplitude varies from −4 °C in winter to more than 40 °C in summer, it is probable this honey bee subspecies have developed behavioral and physiological characteristics very different from *A. mellifera intermissa*, which evolves in a relatively more clement environment [22]. The objective of this work is to test this hypothesis by evaluating the physiological response of the two subspecies of bees when they are completely deprived of a source of pollen. The physiological parameters studied to evaluate this response are the level of protein in the hemolymph, the development of the hypopharyngeal glands and ovaries, and the lifespan of the bees. Apart from a few studies characterizing the *A. mellifera sahariensis* populations on morphometric and molecular aspects [2,23], very few scientific works have been devoted to the *A. mellifera sahariensis*. In this work, the physiology of the two main subspecies of *A. mellifera* endemic to North Africa is studied for the first time under controlled conditions.

2. Materials and Methods

The experiment was carried out between March and June 2020 in the apiary of the laboratory of The University of Boumerdes (UMBB).

2.1. Source of the Honeybees

The experiment was carried out on the two local subspecies of bees in Algeria. *A. mellifera intermissa* is typically used in the north of Algeria for beekeeping, and *A. mellifera sahariensis* by beekeepers in oases in southwest Algeria. The two subspecies can be differentiated by their differences in size and color. *A. mellifera sahariensis* is slightly smaller than *A. mellifera intermissa* and is yellowish-reddish, while *A. mellifera intermissa* is black

in color [5]. The bees were taken from two experimental apiaries. The first apiary of *A. mellifera intermissa* colonies is located on the university campus, and the second apiary of *A. mellifera sahariensis* colonies is located in an oasis of Ain sefra. This region is a part of the natural habitat of *A. mellifera sahariensis*. The two apiaries were monitored in the same way and treated against varroa at the appropriate time. For the purposes of the experiment, we moved ten *A. mellifera sahariensis* colonies and placed them in the experimental apiary on campus.

Three healthy colonies from each subspecies were selected. From each colony, frames containing brood close to emergence were kept in wooden cages (50 × 25 × 14 cm) separately and incubated at 34.5 °C and 75% RH. The bees were collected from the frames during the 24 h following the incubation.

2.2. Average Weight of Emerging Bees

After the emergence of the workers, a batch made up of 100 to 120 individuals randomly taken of each subspecies were weighed. The average weight of each bee (expressed in mg) was calculated based on the total number of individuals weighed.

2.3. Experimental Design

One hundred emerging bees were transferred to the Plexiglas bioassay cages (cage type Pain) [24] (12 × 10 × 4 cm) equipped with transparent and removable sides, ventilation holes and two syringes of 2.5 mL, which were adapted as feeders to provide a water and sucrose solution (50% *w/w*). A piece of wax was hung in the middle of each cage near the sugar solution and water for the bees to cluster on.

Hoarding bioassay cages were maintained at controlled conditions (34 ± 1 °C, 50–70% relative humidity) and kept in the dark to simulate conditions within the colony. Pollen balls were provided ad libitum for the control bees only; these balls were prepared by mixing pollen (fresh polyfloral harvested the previous year and stored in the freezer) with honey until a soft, cohesive paste was obtained. Water and sucrose were also provided ad libitum for all the cages. A pollen ball of 10 grams was offered to each cage; this quantity allowed the pollen to be constantly available to the bees. The quantity of pollen consumed by caged bees is determined by the difference between the weight of pollen supplied and left after consumption. The diet was provided periodically at 1 or 2 d intervals, and at these time intervals, dead bees were removed and counted. The dead bees and the total number of bees in each cage were considered in the estimation of consumption. The mortality of the bees was registered until the last bee.

Three cages each containing 100 newly emerged *A. mellifera intermissa* or *A. mellifera sahariensis* worker bees were registered for each of the following treatments.

Lot 1: *A. mellifera sahariensis* pollen-deprived (SBP–)

Lot 2: *A. mellifera sahariensis* pollen-fed (control) (SBP+)

Lot 3: *A. mellifera intermissa* pollen-deprived (TBP–)

Lot 4: *A. mellifera intermissa* pollen-fed (control) (TBP+)

For statistical analyses of data, we considered the three repetitions of each treatment as a single lot (one lot consists of three cages that received the same treatment).

2.4. Hemolymph Extraction

After confinement and feeding on the different diets, the hemolymph of 7-, 14- and 21-day-old workers was collected from a small incision at the level of the 3rd dorsal tergite, using microcapillary tubes previously washed in a 0.1% (*w:v*) phenylthiourea solution in water. The bees were placed in separate 1.5 mL tubes and kept refrigerated until their hemolymph was collected 1–2 h later. The hemolymph of 10 workers fed in each cage was conserved in microcapillary tubes at –20 °C for the later determination of total protein. After the hemolymph was collected, each bee was stored at the same temperature (–20 °C) until the further measurement of the hypopharyngeal glands (HPG) acini and ovary development.

2.5. Total Protein

The quantification of the total protein was carried out using the Bradford method [25]. This is a colorimetric measurement method, based on a reaction between proteins and a dye, Coomassie Brilliant Blue G250 (BBC), which is a red-stranded reagent in the free state that turns blue when bound to proteins, the intensity of the colour being proportional to the concentration of the proteins. The Bradford reagent (BBC) was prepared from 50 mg of Coomassie Brilliant Blue, 25 mL of 95° ethanol, 50 mL of 85% orthophosphoric acid and 500 mL with distilled water. The calibration range was prepared from a stock solution of 10 mg/mL Bovine Serum Albumin (BSA) at 1 mg/mL and a stock solution of 0.1% BSA; then, a series of 6 tubes of increasing concentration were established and incubated for 10 min at room temperature in the dark. The optical density was measured using a spectrophotometer at a wavelength of 595 nm; a calibration curve was then drawn. Samples were thawed in fresh water before a series of tubes were prepared each containing 5 µL of hemolymph made up to 100 µL by adding 95 µL of distilled water. Subsequently, a volume of 4 mL of BBC was added to both sets of tubes, mixed and incubated for 10 min at 4 °C in the dark, before running through the spectrophotometer. The values obtained were plotted on the calibration curve already drawn to determine the protein concentration.

2.6. Extraction and Measurement of Hypopharyngeal Glands (HPG)

HPG were removed with forceps through an incision in the front part of the head and put on a microscope slide in a droplet of sodium chloride solution. The development of the HPG was assessed by calculating the area of the acini according to the protocol established by DeGrandi-Hoffman (2010) [26]. A photo of the glands was taken using a Leica DM 500 microscope with a Leica DC-300 camera and Axio-vision image manager software program. For calibration, a photograph of a 1 mm line was taken at the same magnification used for observing the HPG. The area of each acinus was calculated by multiplying the length by the width and considered as a parameter for development of the acini. Six acini per bee were selected and only acini with clear borders were measured. Acini areas were averaged to obtain an estimated HPG mean size for the cage.

2.7. Ovary Assessments

The ovary development was assessed using a binocular microscope and the classification of the different developmental stages as proposed by Hess (1942) [27] and modified by Velthuis (1970) [28]. Five stages were differentiated: stage 1 is inactive thread-like ovarioles without vitellus; stage 2 is swollen ovarioles without vitellus; stage 3 is swollen ovarioles with visible vitellus but without distinct oocytes; in stage 4, the ovarioles contain distinct, but immature oocytes; and stage 5 is fully activated ovaries with distinct mature oocytes. The two first stages (sizes 1 and 2) correspond to undeveloped ovaries and the last three (sizes 3–5) to developed ovaries.

2.8. Statistical Analysis

Statistical analysis of the data was conducted using the program Statistic, IBM SPSS Statistics 28.0. Results were expressed as means \pm standard deviation. The weight of emerging bees was evaluated using a one-way ANOVA. The total protein of the hemolymph were analyzed by using a full-factorial ANOVA. The surface of the hypopharyngeal glands for the three age levels was reanalyzed using ANOVA three ways and Tukey's HDS test for the post hoc multiple comparisons, to indicate the differences. The level of significance was determined at 5% (normal distribution of the data was verified using the Kolmogorov–Smirnov test before carrying out ANOVA). A χ^2 test was performed to study the dependence of ovary development on subspecies and diet.

The survival was analyzed using the Kaplan–Meier survival estimator, and Gehan–Wilcoxon test was conducted to determine the differences. Differences in pollen consumption were investigated using Student's *t*-tests.

3. Results

3.1. Average Weight of Emerging Bees

At emergence, *sahariensis* weighed on average 133 ± 0.06 mg and *intermissa* 90 ± 0.05 mg ($F_{1,18} = 252.57$; $p < 0.001$).

3.2. Food Consumption

Pollen consumption was statistically the same for bees of both the subspecies ($F_{1,4} = 0.732$; $p > 0.05$): on average, pollen consumption was 2.62 ± 0.33 mg/day for *A. mellifera intermissa* and 2.13 ± 0.61 mg/day for *A. mellifera sahariensis*.

3.3. Total Hemolymph Protein

The amount of protein in the hemolymph (HP) was influenced by the diet ($F_{1,96} = 23,005.41$; $p < 0.001$), the subspecies ($F_{1,96} = 597.62$; $p < 0.001$) and age ($F_{2,96} = 2436.39$; $p < 0.001$). The statistical interactions diet \times subspecies ($F_{1,96} = 137.57$; $p < 0.001$), subspecies \times age ($F_{2,96} = 97.16$; $p < 0.001$), diet \times age ($F_{2,96} = 1378.77$; $p < 0.001$) and subspecies \times diet \times age ($F_{2,96} = 24.40$; $p < 0.001$) were also significant (Figure 1).

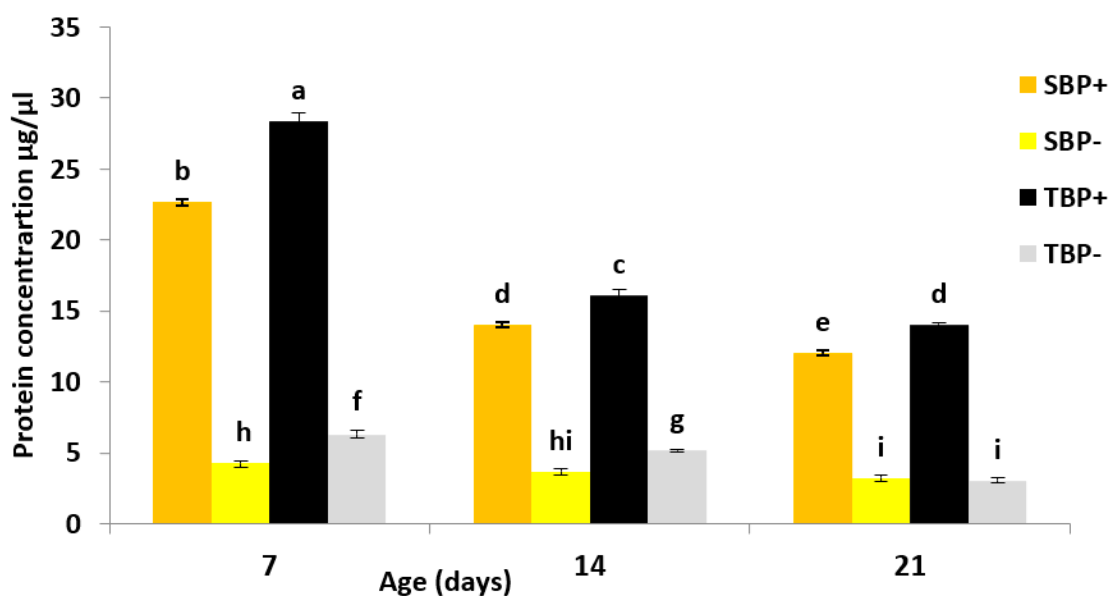


Figure 1. Mean \pm SE protein concentration in hemolymph of both the subspecies of bees at 7, 14 and 21 days. SBP+: *A. mellifera sahariensis* with pollen, SBP–: *A. mellifera sahariensis* pollen-deprived, TBP+: *A. mellifera intermissa* with pollen, TBP–: *A. mellifera intermissa* pollen-deprived. The error bars represent the standard deviation from the respective means. Bars with the same letter are not significantly different ($p < 0.05$).

At 7 days, TBP+ had a significantly higher HP content than TBP– (Tukey’s HDS test; $p < 0.001$) and SBP+ (Tukey’s HDS test; $p < 0.001$). SBP+ had significantly more HP than SBP– (Tukey’s HDS test; $p < 0.001$). In the situation of pollen deficiency, the HP content was significantly higher in TBP– than in SBP– (Tukey’s HDS test; $p < 0.001$).

At 14 days, the amount of HP decreased significantly within all lots and followed the same trend among the different batches. TBP+ had significantly more HP than TBP– (Tukey’s HDS test; $p < 0.001$) and SBP+ (Tukey’s HDS test; $p < 0.001$). SBP+ had significantly more HP than SBP– (Tukey’s HDS test; $p < 0.001$). In a situation of pollen deficiency, the amount of HP was significantly higher in TBP– than in SBP– (Tukey’s HDS test; $p < 0.001$).

At 21 days, a slight decrease was observed in the amount of HP compared to 14-day-old bees, with the same trend between the four groups. TBP+ had a significantly higher quantity of HP than TBP– (Tukey’s HDS test; $p < 0.001$) and SBP+ (Tukey’s HDS test;

$p < 0.001$). In the batches of bees deprived of pollen, more HP in SBP– than in TBP– was observed; however, the difference was not significant (Tukey's HDS test; $p > 0.05$).

3.4. Hypopharyngeal Glands' Development

The development of the HPGs was influenced by the diet ($F_{1,348} = 43.69$; $p < 0.001$), the subspecies ($F_{1,348} = 508.45$; $p < 0.001$), the age ($F_{2,348} = 278.43$; $p < 0.001$), the diet \times subspecies interactions ($F_{1,348} = 29.99$; $p < 0.001$), the subspecies \times age ($F_{2,348} = 97.05$; $p < 0.001$) and the subspecies \times diet \times age interactions ($F_{2,348} = 18.66$; $p < 0.001$). However, the effect of the diet \times age interactions was not significant ($F_{3,348} = 2.03$; $p < 0.132$) (Figure 2).

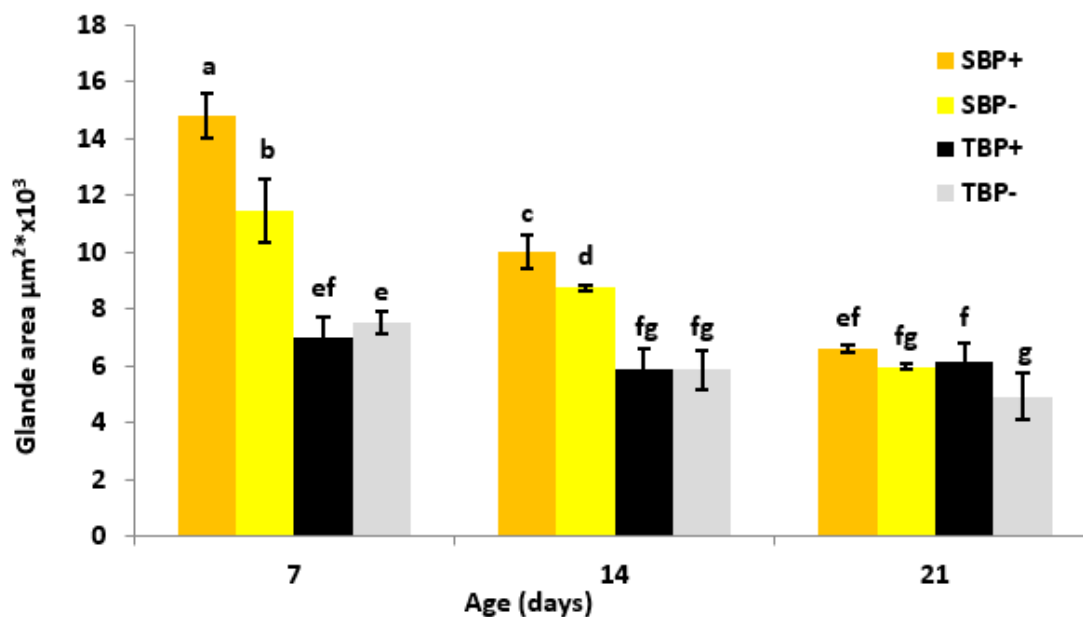


Figure 2. Mean \pm SE acini surface area of the hypopharyngeal glands of both the subspecies of bees, at 7, 14 and 21 days. SBP+: *A. mellifera sahariensis* pollen-fed, SBP–: *A. mellifera sahariensis* pollen-deprived, TBP+: *A. mellifera intermissa* pollen-fed, TBP–: *A. mellifera intermissa* pollen-deprived. The error bars represent the standard deviation for the mean area of the hypopharyngeal glands. Bars with the same letter are not significantly different ($p < 0.05$).

At 7 days of age, the HPG of SBP+ were significantly more developed than those of SBP– (Tukey's HDS test; $p < 0.001$) and TBP+ (Tukey's HDS test; $p < 0.001$). The HPGs of SBP– were significantly more developed than those of TBP– (Tukey's HDS test; $p < 0.001$). However, in *intermissa*, there was no difference between TBP+ and TBP– (Tukey's HDS test; $p > 0.05$).

At 14 days, the HPG of SBP+ were significantly more developed than those of TBP+ (Tukey's HDS test; $p < 0.001$) and SBP– (Tukey's HDS test; $p < 0.033$), whereas the HPGs of SBP– were significantly more developed than those of TBP– (Tukey's HDS test; $p < 0.001$). In *intermissa*, there was no significant difference between TBP+ and TBP– (Tukey's HDS test; $p > 0.05$).

At 21 days, HPG atrophy was observed in *sahariensis* (SBP+ and SBP–). At this age, there were no significant differences between the groups except in *intermissa* where the HPG of TBP+ were significantly more developed than those of TBP– (Tukey's HDS test; $p = 0.045$).

3.5. Ovary Development

Ovary development was greater in *intermissa* than in *sahariensis*. It also depended on the diet of the bees; whether it was rich or deficient in pollen. The result of the χ^2 test therefore indicated a dependence of ovary development on diet and subspecies ($\chi^2_{(3)} = 14.05$; $p < 0.05$) (Figure 3).

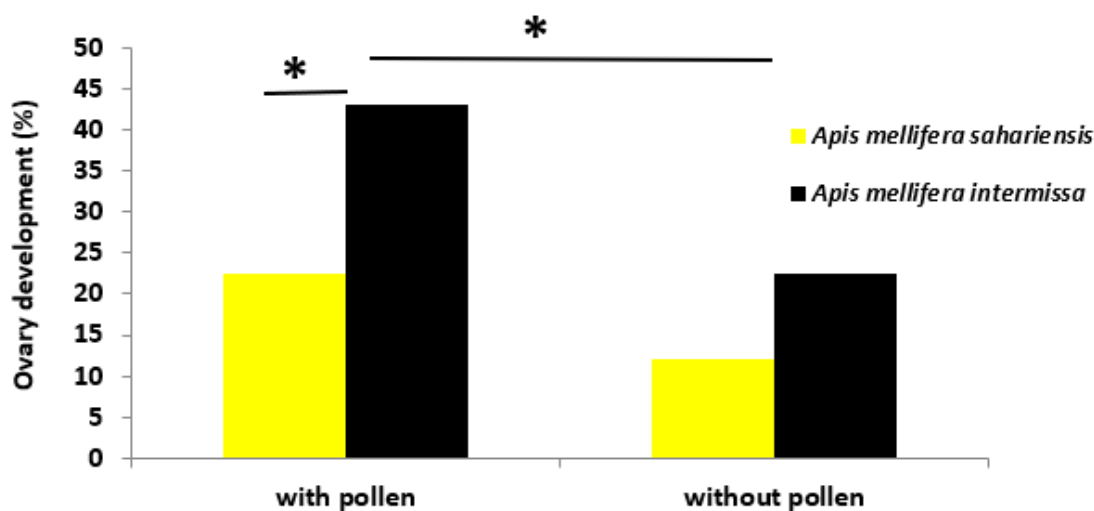


Figure 3. Ovary development rate in both subspecies of bee (*Apis mellifera intermissa* and *Apis mellifera sahariensis*), pollen-fed (control) and pollen-deprived. The asterisk (*) indicates the significance of the chi-squared (χ^2) test at a significance level of p -value < 0.05.

A protein diet had a significant effect on the development of the ovaries in *intermissa*. In TBP+, there were significantly more developed ovaries than in TBP– ($\chi^2_{(1)} = 4.804$; $p < 0.05$). The comparison between subspecies showed that TBP+ had significantly more developed ovaries than SBP+ ($\chi^2_{(1)} = 4.804$; $p < 0.028$).

On the other hand, the diet did not seem to have an influence on the ovary development of *sahariensis* since there was no significant difference in the ovary development of SBP+ and SBP– ($\chi^2_{(1)} = 2.0235$; $p > 0.05$). When they were both deprived of pollen, there was no significant difference in the ovary development of SBP– and TBP– ($\chi^2_{(1)} = 2.025$; $p > 0.05$).

3.6. Bee Survival

The survival analysis was conducted over a period of 58 days, the period that corresponded to the date from the start of the trial until the death of the last bee. The Kaplan–Meier estimation results revealed that the survival of *sahariensis* was superior to *intermissa* even with a pollen-free diet (Figure 4, Table 1). All pairwise comparisons between groups were significantly different.

SBP+/TBP+ (Wilcoxon test, $\chi^2_{(1)} = 105.65$; $p < 0.001$)

SBP–/TBP– (Wilcoxon test, $\chi^2_{(1)} = 119.61$; $p < 0.001$)

SBP+/SBP– (Wilcoxon test, $\chi^2_{(1)} = 24.286$; $p < 0.001$)

TBP+/TBP– (Wilcoxon test, $\chi^2_{(1)} = 6.803$; $p < 0.009$)

Table 1. Kaplan–Meier estimate of survival time of *Apis mellifera sahariensis* and *Apis mellifera intermissa* according to diet (pollen-fed and pollen-deprived), with confidence interval (95% CI), results expressed as (mean \pm standard error), and letters indicate significant difference test (Gehan–Wilcoxon test).

Diet	Mean Survival \pm Standard Error	
	<i>Apis mellifera sahariensis</i>	<i>Apis mellifera intermissa</i>
With pollen	27.50 \pm 0.78 a	16.76 \pm 0.41 c
Without pollen	22.31 \pm 0.50 b	15.33 \pm 0.36 d

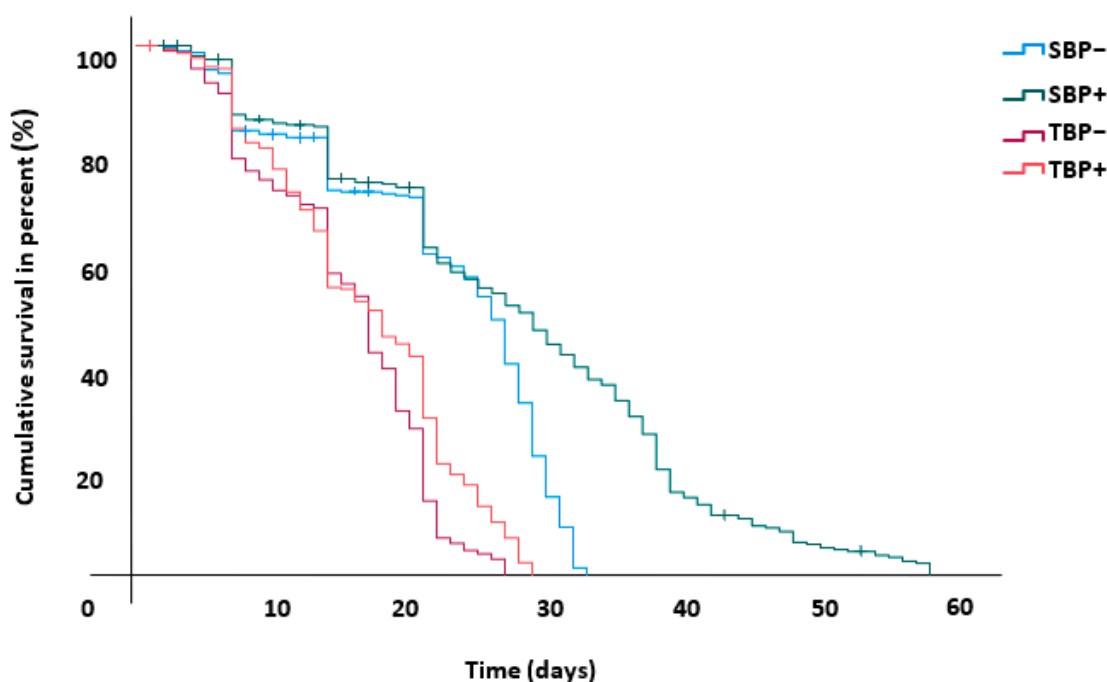


Figure 4. Cumulative survival in percent of worker bees. SBP+: *A. mellifera sahariensis* pollen-fed, SBP-: *A. mellifera sahariensis* pollen-deprived, TBP+: *A. mellifera intermissa* pollen-fed, TBP-: *A. mellifera intermissa* pollen-deprived.

4. Discussion

This study showed that pollen consumption has an influence on the amount of protein in the hemolymph of caged bees. However, it also depends on the subspecies since, when the same amount of pollen is consumed, *intermissa* has more hemolymphatic proteins than *sahariensis*. These results suggest that *intermissa* optimizes its protein diet much better than *sahariensis*. A study has shown that, for the same pollen source, the Egyptian subspecies *Apis mellifera lamarckii* has a higher protein content in its hemolymph than the two subspecies *Apis mellifera carnica* and *Apis mellifera ligustica* [29]. In that study, the authors explain this difference by the greater enzymatic secretion in the intestine. In a subsequent study carried out on pre-pupae of *Apis mellifera* [30], the researchers demonstrated the role of the enzyme acid phosphatase, which would be at the origin of the accumulation of proteins in the hemolymph and in the mobilization of proteins stored in the trophocytes to be used during metamorphosis. Another study [31] has also shown the superiority of Africanized bees in the conversion of pollen proteins into hemolymph proteins compared to European bees. It is therefore possible that *intermissa* secretes more acid phosphatase enzyme in its intestine than *sahariensis*. As the two subspecies have evolved under different floral environment, they are maybe more adapted to digest specific pollen diets, and so the diet used in our study may be more adapted to *intermissa*.

This enzyme could also play a role in the mobilization of body proteins to store them in the hemolymph since even in a situation of pollen deficiency *intermissa* has more hemolymphatic proteins than *sahariensis*.

Once stored in the bee's hemolymph, nutrients (proteins, carbohydrates, lipids and vitamins) as well as hormones are distributed according to various physiological needs [32,33]. These proteins play an essential role in the functioning of the hypopharyngeal glands [12,19,26,34]. This study shows that, even if deprived of pollen, *sahariensis* has more developed hypopharyngeal glands than *intermissa* fed with pollen. This trend is observed at 7 and 14 days. This is an age class that corresponds to that of nurses [35]. Field experiments have shown that *sahariensis* produces more royal jelly than *intermissa* (unpublished data). These results could support the hypothesis that *sahariensis* gives priority to the development

of the hypopharyngeal glands in order to nourish the brood in an optimal way. This priority would even be to the detriment of the body reserves of the pollen-deficient nurse bee.

According to [13], bees fed a high protein diet have more developed ovaries. This is in agreement with our results, which clearly show that pollen fed bees have the highest proportion of developed ovaries than those fed only with sugar syrup.

However, ovarian development does not depend solely on a diet rich in protein since [36] also demonstrates the role of carbohydrates in ovarian development; the author indicated that a diet with a protein/carbohydrate ratio of (1:3) results in better ovarian development. Even without a protein diet, a greater proportion of developed ovaries is recorded in *intermissa*. It therefore seems that ovarian development does not only depend on diet but also depends on subspecies. When the queen and brood are experimentally removed, *intermissa* develops its ovaries more rapidly (5.6 days) than the African subspecies *scutellata* (9.5 days) or European *carnica* (30 days) [37]. Likewise, *intermissa* lays more eggs than *scutellata* or *carnica*. The racial aspect is therefore important in the development of the workers ovaries [38].

In our experiment under controlled conditions, the bees of both subspecies consumed the same amount of pollen. The importance of this protein intake in the development of the *sahariensis* hypopharyngeal glands and the *intermissa* ovary development is shown. This protein supply is also important in the lifespan of bees [7,39]. *sahariensis* is much more affected by pollen deficiency than *intermissa*. Indeed, when the bees are pollen deprived, the life expectancy of *intermissa* and *sahariensis* is shortened by just over 8.5% and 18.83%, respectively. On the other hand, when the bees are pollen fed, the average life expectancy of *sahariensis* is extended by 5.55 days compared to *intermissa*. It is important to note that even when deprived of pollen, *sahariensis* lives longer than pollen-fed *intermissa*. This difference in life expectancy between the two subspecies could have its origin during the larval development of the bee. Indeed, we found that at emergence, *sahariensis* weighed more than *intermissa*. This weight difference could be due to a good diet during the larval phase. This hypothesis is confirmed by the propensity of *sahariensis* to promote the development of its hypopharyngeal glands to the detriment of its ovaries.

Numerous studies have also shown that the phospholipoglycoprotein vitellogenin, known as female-specific egg yolk proteins, accumulates in body reserves and in the hypopharyngeal glands and has a positive effect on the longevity of workers [40–44]. In a recent study carried out on honey bee workers [45], it is demonstrated that telomerase activity and the production of the hormone vitellogenin are positively correlated with body mass and fat cell size. Telomeres, which are involved in the process of survival and aging in eukaryotes [46], bind the ends of chromosomes. They are shortened under the effect of oxidative stress and during cell division [47]. It is possible that, in the case of *sahariensis*, the oxidative stress is minimal enough not to negatively affect its life expectancy.

These results obtained under controlled conditions made it possible for the first time to highlight certain physiological characteristics of the two subspecies of bees endemic to North Africa.

The two subspecies evolve in two different environments. *Intermissa* lives in regions characterized by a Mediterranean climate where honey flora is abundant almost all year round. The opulence that benefits *intermissa* means that this subspecies uses nutrients to promote excessive reproduction [38], while the desert environment of *sahariensis* is very hostile.

Moreover, it could be said that, in this environment, *sahariensis* do not have interest to engage in ovary development for workers as it can be a loss of energy for the whole colony.

The *sahariensis* subspecies seems to be endowed with physiological qualities allowing it to face a hostile environment. Long periods of scarcity are recurrent in the Sahara and *sahariensis* has learned to live in this environment. Optimal feeding of the larvae as well as longevity of the workers could be a response to this hostility of the nature.

Author Contributions: Conceptualization, H.K., K.L.-M. and A.M.; methodology, H.O.-M., K.L.-M. and A.M.; software, H.K. and K.A.; validation, K.L.-M. and A.M.; formal analysis, H.K. and K.A.; investigation, H.K.; data curation, H.K. and K.A.; writing—original draft preparation, H.K., K.A., H.O.-M., K.L.-M. and A.M.; writing—review and editing, H.K., K.A., H.O.-M., K.L.-M. and A.M.; visualization, H.K. and H.O.-M.; supervision, K.L.-M. and A.M.; project administration, A.M.; funding acquisition, A.M. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: Financial support has been provided by Partnership for Research and Innovation in the Mediterranean Area PRIMA (grant number 1812/PLANT-B), a programme supported by the European Union and Ministry of Higher Education and Scientific Research DGRSDT (DO1NO1UN35012018001).

Institutional Review Board Statement: Not applicable.

Informed Consent Statement: Not applicable.

Data Availability Statement: Data are available upon request from the corresponding author.

Acknowledgments: The authors thank Yves Le Conte, Pier Paolo Danieli, Aya Hamiri and the anonymous reviewers for valuable remarks of the manuscript, and many helpful suggestions. The authors also thank PRIMA FOUNDATION and DGRSDT for financing this work.

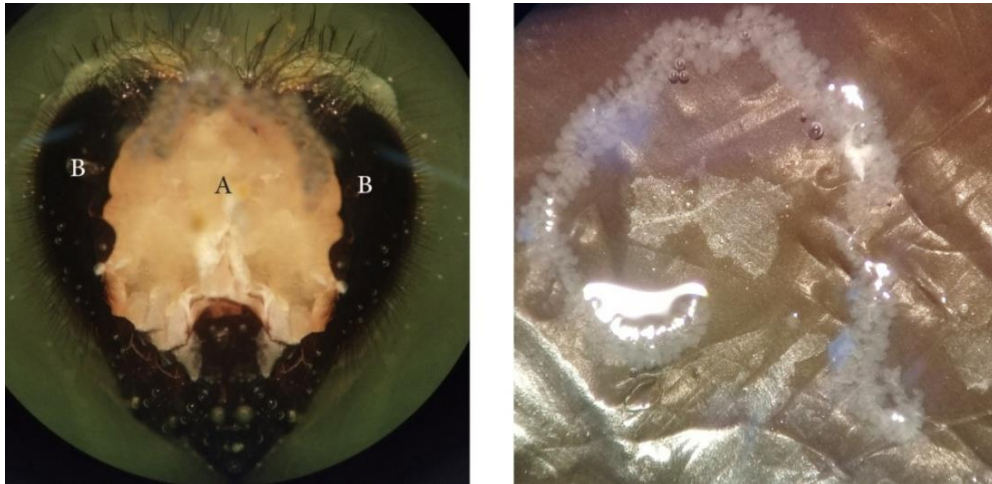
Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

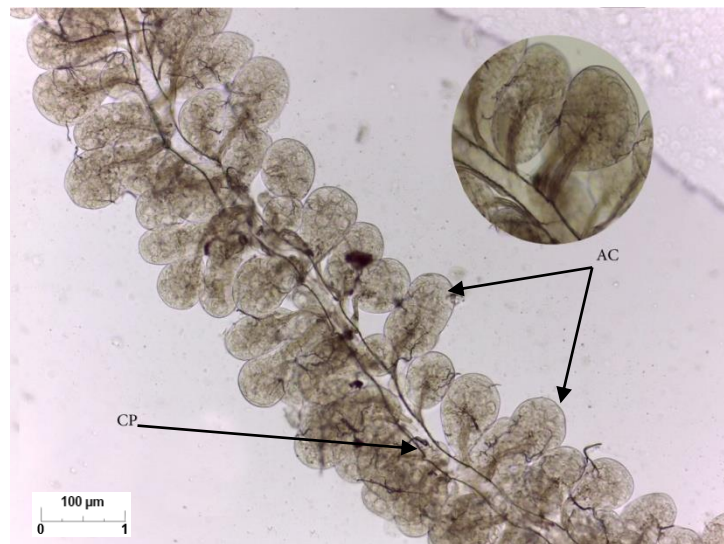
- Han, F.; Wallberg, A.; Webster, M.T. From where did the western honeybee (*Apis mellifera*) originate? *Ecol. Evol.* **2012**, *2*, 1949–1957. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Ruttner, F. *Biogeography and Taxonomy of Honey Bees*; Springer: Heidelberg, Germany, 1988.
- Sheppard, W.S.; Meixner, M.D. *Apis mellifera pomonella*, a new honey bee subspecies from Central Asia. *Apidologie* **2003**, *34*, 367–375. [[CrossRef](#)]
- Haccour, P. Recherches sur l'abeille saharienne au Maroc. *Belg. Apic* **1961**, *25*, 13–18.
- Mallek, S.; Ladjali, K.; Mohammedi, A. *Les Menaces Naturelles et Anthropiques Mettant en Peril l'Existence de l'Abeille Saharienne en Algerie*; Bulletin de la Société d'Histoire Naturelle d'Afrique du Nord, USTHB: Alger, Algeria, 2018; Volume 74, pp. 165–196.
- Le Conte, Y.L.; Navajas, M. Climate change: Impact on honey bee populations and diseases. *Rev. Sci. Tech.* **2008**, *27*, 499–510.
- Haydak, M.H. Honey bee nutrition. *Annu. Rev. Entomol.* **1970**, *15*, 143–156. [[CrossRef](#)]
- Vaudo, A.D.; Tooker, J.F.; Patch, H.M.; Biddinger, D.J.; Coccia, M.; Crone, M.K.; Fiely, M.; Francis, J.S.; Hines, H.M.; Hodges, M.; et al. Pollen protein: Lipid Macronutrient ratios may guide broad patterns of bee species floral preferences. *Insects* **2020**, *11*, 132. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Frias, B.E.; Barbosa, C.D.; Lourenço, A.P. Pollen nutrition in honey bees (*Apis mellifera*): Impact on adult health. *Apidologie* **2015**, *47*, 15–25. [[CrossRef](#)]
- Di Pasquale, G.; Salignon, M.; Le Conte, Y.; Belzunces, L.P.; Decourtye, A.; Kretzschmar, A.; Suchail, S.; Brunet, J.-L.; Alaux, C. Influence of pollen nutrition on honey bee health: Do pollen quality and diversity matter? *PLoS ONE* **2013**, *8*, e72016. [[CrossRef](#)]
- DeGrandi-Hoffman, G.; Corby-Harris, V.; Carroll, M.; Toth, A.L.; Gage, S.; Watkins deJong, E.; Graham, H.; Chambers, M.; Meador, C.; Obernesser, B. The importance of time and place: Nutrient composition and utilization of seasonal pollens by european honey bees (*Apis mellifera* L.). *Insects* **2021**, *12*, 235. [[CrossRef](#)]
- Pernal, S.F.; Currie, R.W. Pollen quality of fresh and 1-year-old single pollen diets for worker honey bees (*Apis mellifera* L.). *Apidologie* **2000**, *31*, 387–409. [[CrossRef](#)]
- Hoover, S.E.R.; Higo, H.A.; Winston, M.L. Worker honey bee ovary development: Seasonal variation and the influence of larval and adult nutrition. *J. Comp. Physiol. B* **2006**, *176*, 55–63. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Ricigliano, V.A.; Fitz, W.; Copeland, D.C.; Mott, B.M.; Maes, P.; Floyd, A.S.; Dockstader, A.; Anderson, K.E. The impact of pollen consumption on honey bee (*Apis mellifera*) digestive physiology and carbohydrate metabolism. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* **2017**, *96*, e21406. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Janmaat, A.F.; Winston, M.L. The Influence of pollen storage area and *Varroa jacobsoni* Oudemans parasitism on temporal caste structure in honey bees (*Apis mellifera* L.). *Insectes Soc.* **2000**, *47*, 177–182. [[CrossRef](#)]
- Kunert, K.; Crailsheim, K. Seasonal changes in carbohydrate, lipid and protein content in emerging worker honeybees and their mortality. *J. Apic. Res.* **1988**, *27*, 13–21. [[CrossRef](#)]
- Mattila, H.R.; Otis, G.W. Effects of pollen availability and Nosema infection during the spring on division of labor and survival of worker honey bees (*Hymenoptera: Apidae*). *J. Econ. Entomol.* **2006**, *35*, 708–717. [[CrossRef](#)]
- Rueppell, O.; Page, R.E.; Fondrk, M.K. Male behavioural maturation rate responds to selection on pollen hoarding in honeybees. *Anim. Behav.* **2006**, *71*, 227–234. [[CrossRef](#)]
- Schmickl, T.; Crailsheim, K. Costs of environmental fluctuations and benefits of dynamic decentralized foraging decisions in honey bees. *Adapt. Behav.* **2004**, *12*, 263–277. [[CrossRef](#)]

20. Crailsheim, K.; Stolberg, E. Influence of diet, age and colony condition upon intestinal proteolytic activity and size of the hypopharyngeal glands in the honeybee (*Apis mellifera* L.). *J. Insect Physiol.* **1989**, *35*, 595–602. [[CrossRef](#)]
21. Brodschneider, R.; Crailsheim, K. Nutrition and health in honey bees. *Apidologie* **2010**, *41*, 278–294. [[CrossRef](#)]
22. Louveaux, J.; Albisetti, M.; Delangue, M.; Theurkauff, M. Les modalités de l'adaptation des abeilles (*Apis mellifica*) au milieu naturel. *Ann. Abeille* **1966**, *9*, 323–350. [[CrossRef](#)]
23. Shaibi, T.; Moritz, R.F.A. 10,000 Years in isolation? honeybees (*Apis mellifera*) in saharan oases. *Conserv. Genet.* **2010**, *11*, 2085–2089. [[CrossRef](#)]
24. Pain, J. Note technique nouveau modèle de cage expérimentales pour le maintien d'abeilles en captivité. *Ann. Abeille* **1966**, *9*, 71–76. [[CrossRef](#)]
25. Bradford, M.M. A Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* **1976**, *72*, 248–254. [[CrossRef](#)]
26. DeGrandi-Hoffman, G.; Chen, Y.; Huang, E.; Huang, M.H. The effect of diet on protein concentration, hypopharyngeal gland development and virus load in worker Honey Bees (*Apis mellifera* L.). *J. Insect Physiol.* **2010**, *56*, 1184–1191. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
27. Hess, G. Ueber den Einfluss der Weisellosigkeit und des Fruchtbarkeitsvitamins E auf die Ovarien der Bienenarbeiterin: Ein Beitrag zur Frage der Regulationen im Bienenstaat. Ph.D. Thesis, Eidgenössischen Technischen Hochschule Zürich, Zürich, Switzerland, 1942.
28. Velthuis, H.H.W. Ovarian development in *Apis mellifera* worker bees. *Entomol. Exp. Appl.* **1970**, *13*, 377–394. [[CrossRef](#)]
29. Zakaria, M.E. Factors affecting on the food metabolism in some honey bee races. *J. Appl. Sci. Res.* **2007**, *3*, 311–316.
30. Poiani, S.B.; da Cruz-Landim, C. Stored products and presence of acid phosphatase in fat body cells at pre-pupal worker stage of *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 (Hymenoptera, Apidae). *Micron* **2012**, *43*, 475–478. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
31. Cappelari, F.A.; Turcatto, A.P.; Morais, M.M.; De Jong, D. Africanized honey bees more efficiently convert protein diets into hemolymph protein than do Carniolan bees (*Apis mellifera carnica*). *Genet. Mol. Res.* **2009**, *8*, 1245–1249. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
32. Chan, Q.W.T.; Howes, C.G.; Foster, L.J. Quantitative comparison of caste differences in honeybee hemolymph. *Mol. Cell Proteom.* **2006**, *5*, 2252–2262. [[CrossRef](#)]
33. Vierstraete, E.; Verleyen, P.; Baggerman, G.; D'Hertog, W.; Van den Bergh, G.; Arckens, L.; De Loof, A.; Schoofs, L. A proteomic approach for the analysis of instantly released wound and immune proteins in *Drosophila melanogaster* hemolymph. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2004**, *101*, 470–475. [[CrossRef](#)]
34. Free, J.B. Hypopharyngeal gland development and division of labour in honey-bee (*Apis mellifera* L.) Colonies. *Proc. R. Entomol. Soc. Lond. Ser. Gen. Entomol.* **1961**, *36*, 5–8. [[CrossRef](#)]
35. Knecht, D.; Kaatz, H.H. Patterns of larval food production by hypopharyngeal glands in adult worker honey bees. *Apidologie* **1990**, *21*, 457–468. [[CrossRef](#)]
36. Pirk, C.W.W.; Boodhoo, C.; Human, H.; Nicolson, S.W. The importance of protein type and protein to carbohydrate ratio for survival and ovarian activation of caged honeybees (*Apis mellifera scutellata*). *Apidologie* **2010**, *41*, 62–72. [[CrossRef](#)]
37. Ruttner, F.; Hesse, B. Rassenspezifische unterschiede in ovaentwicklung und eiablage von weisellosen arbeiterinnen der honigbiene *Apis mellifera* L. *Apidologie* **1981**, *12*, 159–183. [[CrossRef](#)]
38. Hepburn, H.R.; Radloff, S.E. *Honeybees of Africa*; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany, 1998; ISBN 978-3-642-08389-1.
39. Gregorc, A.; Sampson, B.; Knight, P.R.; Adamczyk, J. Diet quality affects honey bee (Hymenoptera: Apidae) mortality under laboratory conditions. *J. Apic. Res.* **2019**, *58*, 492–493. [[CrossRef](#)]
40. Fluri, P.; Lüscher, M.; Wille, H.; Gerig, L. Changes in weight of the pharyngeal gland and haemolymph titres of juvenile hormone, protein and vitellogenin in worker honey bees. *J. Insect Physiol.* **1982**, *28*, 61–68. [[CrossRef](#)]
41. Seehuus, S.-C.; Norberg, K.; Krekling, T.; Fondrk, K.; Amdam, G.V. Immunogold localization of vitellogenin in the ovaries, hypopharyngeal glands and head fat bodies of honeybee workers, *Apis mellifera*. *J. Insect Sci.* **2007**, *7*, 1–14. [[CrossRef](#)]
42. Seehuus, S.-C.; Norberg, K.; Gimsa, U.; Krekling, T.; Amdam, G.V. Reproductive protein protects functionally sterile honey Bee workers from oxidative stress. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2006**, *103*, 962–967. [[CrossRef](#)]
43. Amdam, G.V.; Norberg, K.; Omholt, S.W.; Kryger, P.; Lourenço, A.P.; Bitondi, M.M.G.; Simões, Z.L.P. Higher vitellogenin concentrations in honey bee workers may be an adaptation to life in temperate climates. *Insect. Soc.* **2005**, *52*, 316–319. [[CrossRef](#)]
44. Amdam, G.V.; Simões, Z.L.P.; Arne, H.; Norberg, K.; Schröder, K.; Mikkelsen, Ø.; Kirkwood, T.B.L.; Omholt, S.W. Hormonal control of the yolk precursor vitellogenin regulates. *Exp. Gerontol.* **2004**, *39*, 767–773. [[CrossRef](#)]
45. Koubová, J.; Sáblová, M.; Brejcha, M.; Kodrlik, D.; Čapková Frydrychová, R. Seasonality in telomerase activity in relation to cell size, DNA replication, and nutrients in the fat body of *Apis mellifera*. *Sci. Rep.* **2021**, *11*, 592. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
46. Stindl, R.; Stindl, W. Vanishing honey bees: Is the dying of adult worker bees a consequence of short telomeres and premature aging? *Med. Hypotheses* **2010**, *75*, 387–390. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
47. von Zglinicki, T. Oxidative stress shortens telomeres. *Trends Biochem. Sci.* **2002**, *27*, 339–344. [[CrossRef](#)]

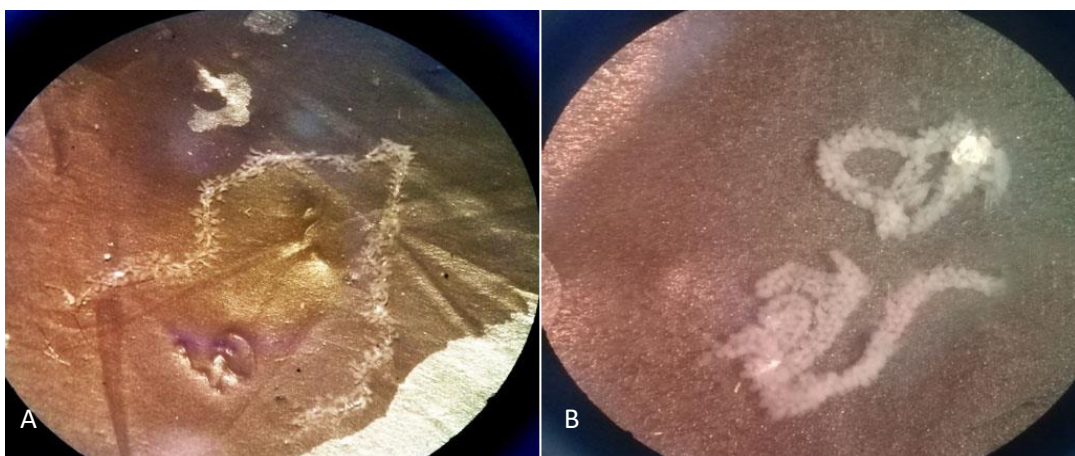
Annexe graphique : Illustrations photographiques des manipulations



Glandes hypopharyngiennes. B : Yeux composés (Photos originale)



Glandes hypopharyngiennes observée sous un microscope photonique x400 (AC) : Acini. (CP) : Canal principal. (Photos originales)



(A) Glande hypopharyngienne non développée à la naissance. (B) : Glande hypopharyngienne développée à 7 jours (Photos originales).

Annexe statistique : Données statistiques complémentaires

I. Effets de la carence en pollen sur la physiologie des ouvrières d'*A. m. sahariensis* et *A. m. intermissa*

Protéines

Tests des effets intersujets

Variable dépendante: protéines

Source	Somme des carrés de Type III	df	Carré moyen	F	Sig.
Modèle corrigé	7131,698 ^a	15	475,447	2609,362	<,001
Constante	15369,387	1	15369,387	84350,789	<,001
Race	158,634	1	158,634	870,621	<,001
Diète	3739,526	1	3739,526	20523,394	<,001
Age	1299,467	3	433,156	2377,259	<,001
Race * Diète	22,059	1	22,059	121,063	<,001
Race * Age	43,065	3	14,355	78,784	<,001
Diète * Age	1850,560	3	616,853	3385,436	<,001
Race * Diète * Age	18,387	3	6,129	33,637	<,001
Erreur	23,323	128	,182		
Total	22524,408	144			
Total corrigé	7155,021	143			

a. R-deux = ,997 (R-deux ajusté = ,996)

Lipides

Tests des effets intersujets

Variable dépendante: lipide

Source	Somme des carrés de type III	ddl	Carré moyen	F	Signification
Modèle corrigé	50757,222 ^a	15	3383,815	601,112	,000
Constante	95764,987	1	95764,987	17012,001	,000
race	44159,162	1	44159,162	7844,576	,000
régime	1539,516	1	1539,516	273,485	,000
Age	2112,206	3	704,069	125,073	,000
race * régime	1388,556	1	1388,556	246,668	,000
race * Age	502,690	3	167,563	29,766	,000
régime * Age	542,270	3	180,757	32,110	,000
race * régime * Age	512,821	3	170,940	30,366	,000
Erreur	720,545	128	5,629		
Total	147242,754	144			
Total corrigé	51477,767	143			

a. R-deux = ,986 (R-deux ajusté = ,984)

Sucres

Tests des effets intersujets

Variable dépendante: sucre

Source	Somme des carrés de type III	ddl	Carré moyen	F	Signification
Modèle corrigé	154,988 ^a	15	10,333	245,059	,000
Constante	6801,783	1	6801,783	161318,953	,000
race	11,258	1	11,258	266,999	,000
régime	13,939	1	13,939	330,588	,000
Age	59,163	3	19,721	467,730	,000
race * régime	18,547	1	18,547	439,893	,000
race * Age	8,237	3	2,746	65,116	,000
régime * Age	14,929	3	4,976	118,022	,000
race * régime * Age	28,916	3	9,639	228,598	,000
Erreur	5,397	128	,042		
Total	6962,168	144			
Total corrigé	160,385	143			

a. R-deux = ,966 (R-deux ajusté = ,962)

Développement des glandes hypopharyngiennes

Tests des effets intersujets

Variable dépendante: HGP

Source	Somme des carrés de Type III	dff	Carré moyen	F	Sig.
Modèle corrigé	6248,936 ^a	15	416,596	216,976	<,001
Constante	42917,456	1	42917,456	22352,702	,000
Race	1051,838	1	1051,838	547,829	<,001
Diète	65,768	1	65,768	34,254	<,001
Age	4527,007	3	1509,002	785,934	<,001
Race * Diète	37,630	1	37,630	19,599	<,001
Race * Age	449,126	3	149,709	77,973	<,001
Diète * Age	30,090	3	10,030	5,224	,001
Race * Diète * Age	87,477	3	29,159	15,187	<,001
Erreur	890,886	464	1,920		
Total	50057,277	480			
Total corrigé	7139,821	479			

a. R-deux = ,875 (R-deux ajusté = ,871)

Développement oviares

Tests du khi-carré

	Valeur	df	Signification asymptotique (bilatérale)	Sig. exacte (bilatérale)	Sig. exacte (unilatérale)
Khi-deux de Pearson	2,025 ^a	1	,155	,235	,118
Correction pour continuité ^b	1,406	1	,236		
Rapport de vraisemblance	2,053	1	,152	,235	,118
Test exact de Fisher				,235	,118
N d'observations valides	180				

a. 0 cellules (0,0%) ont un effectif théorique inférieur à 5. L'effectif théorique minimum est de 10,00.

b. Calculée uniquement pour une table 2x2

Survie

Kaplan-Meier

Moyennes et médianes pour la durée de survie

Race	Moyenne ^a				Médiane	
	Estimation	Erreur standard	Intervalle de confiance à 95 %		Estimation	Erreur standard
			Borne inférieure	Borne supérieure		
ASP-	22,313	,508	21,316	23,309	26,000	,527
ASP+	27,509	,785	25,970	29,049	28,000	1,402
ATP-	15,337	,364	14,623	16,051	17,000	,438
ATP+	16,760	,411	15,955	17,565	17,000	,722
Global	20,498	,305	19,900	21,096	21,000	,267

Moyennes et médianes pour la durée de survie

Race	Médiane ^a	
	Intervalle de confiance à 95 %	
	Borne inférieure	Borne supérieure
ASP-	24,967	27,033
ASP+	25,253	30,747
ATP-	16,141	17,859
ATP+	15,585	18,415
Global	20,476	21,524

a. L'estimation est limitée à la plus grande durée de survie si elle est censurée.

Comparaisons globales

	Khi-carré	ddl	Sig.
Breslow (Generalized Wilcoxon)	132,026	1	<,001
Tarone-Ware	158,088	1	<,001

Le vecteur des pondérations de tendance est -3, -1, 1, 3. Il s'agit de la valeur par défaut.

II. Effets de la chaleur sur la physiologie d'*A. m. sahariensis* et *A. m. intermissa* durant le stade nymphal et adulte.

a) Stress thermique durant le stade nymphal

Taux d'émergence

Source	Somme des carrés de type III	ddl	Carré moyen	F	Signification
Modèle corrigé	122133,689 ^a	7	17447,670	5328,568	,000
Constante	87638,796	1	87638,796	26765,136	,000
trait	122133,689	7	17447,670	5328,568	,000
Erreur	209,559	64	3,274		
Total	209982,044	72			
Total corrigé	122343,249	71			

Poids

Tests des effets intersujets

Variable dépendante: Poids

Source	Somme des carrés de Type III	df	Carré moyen	F	Sig.
Modèle corrigé	10,810 ^a	7	1,544	1200,961	<,001
Constante	15,794	1	15,794	12282,847	<,001
Race	2,155	1	2,155	1676,120	<,001
Température	7,515	3	2,505	1948,180	<,001
Race * Température	1,139	3	,380	295,356	<,001
Erreur	,041	32	,001		
Total	26,645	40			
Total corrigé	10,851	39			

a. R-deux = ,996 (R-deux ajusté = ,995)

Protéines

Tests des effets intersujets

Variable dépendante: Protéines

Source	Somme des carrés de Type III	df	Carré moyen	F	Sig.
Modèle corrigé	565,674 ^a	7	80,811	2144,466	<,001
Constante	537,233	1	537,233	14256,526	<,001
Race	24,221	1	24,221	642,738	<,001
Température	387,754	3	129,251	3429,938	<,001
Race * Température	153,699	3	51,233	1359,570	<,001
Erreur	,603	16	,038		
Total	1103,511	24			
Total corrigé	566,277	23			

a. R-deux = ,999 (R-deux ajusté = ,998)

Développement des glandes hypopharyngiennes

Tests des effets intersujets

Variable dépendante: HGP

Source	Somme des carrés de Type III	df	Carré moyen	F	Sig.
Modèle corrigé	1327,288 ^a	7	189,613	715,195	<,001
Constante	1738,834	1	1738,834	6558,661	<,001
Race	167,572	1	167,572	632,062	<,001
Température	1085,642	3	361,881	1364,968	<,001
Race * Température	74,074	3	24,691	93,133	<,001
Erreur	8,484	32	,265		
Total	3074,606	40			
Total corrigé	1335,772	39			

a. R-deux = ,994 (R-deux ajusté = ,992)

b) Stress thermique durant le stade adulte

Protéines

Tests des effets intersujets

Variable dépendante: protéine

Source	Somme des carrés de type III	ddl	Carré moyen	F	Signification
Modèle corrigé	21591,423 ^a	23	938,758	4967,668	,000
Constante	36662,720	1	36662,720	194009,863	,000
race	106,519	1	106,519	563,670	,000
temp	3176,939	3	1058,980	5603,853	,000
age	15117,673	2	7558,836	39999,455	,000
race * temp	172,420	3	57,473	304,134	,000
race * age	575,103	2	287,551	1521,649	,000
temp * age	2175,968	6	362,661	1919,112	,000
race * temp * age	266,802	6	44,467	235,308	,000
Erreur	36,283	192	,189		
Total	58290,426	216			
Total corrigé	21627,706	215			

a. R-deux = ,998 (R-deux ajusté = ,998)

Développement des glandes hypopharyngiennes

Tests des effets intersujets

Variable dépendante: HGP

Source	Somme des carrés de Type III	df	Carré moyen	F	Sig.
Modèle corrigé	23511,524 ^a	23	1022,240	1679,158	,000
Constante	41299,345	1	41299,345	67839,379	,000
Race	1907,338	1	1907,338	3133,043	<,001
Température	2919,365	3	973,122	1598,475	,000
Age	12122,099	2	6061,049	9956,038	,000
Race * Température	702,436	3	234,145	384,613	<,001
Race * Age	804,120	2	402,060	660,435	<,001
Température * Age	3676,848	6	612,808	1006,614	,000
Race * Température * Age	1379,317	6	229,886	377,617	<,001
Erreur	423,712	696	,609		
Total	65234,581	720			
Total corrigé	23935,236	719			

a. R-deux = ,982 (R-deux ajusté = ,982)

Développement ovaires

Tableau croisé température * ovaires

		Effectif		
		ovaires		Total
		D	ND	
température	34	38	142	180
	38	18	162	180
	39	6	84	90
	40	0	30	30
Total		62	418	480

Tests du khi-carré

	Valeur	ddl	Signification asymptotique (bilatérale)
khi-carré de Pearson	19,682 ^a	3	,000
Rapport de vraisemblance	22,737	3	,000
N d'observations valides	480		

Survie Kaplan-Meier

Moyennes et médianes pour la durée de survie

groupe	Estimation	Erreur standard	Moyenne ^a		Médiane	
			Intervalle de confiance à 95 %		Estimation	Erreur standard
			Borne inférieure	Borne supérieure		
AS 34C°	33,575	,729	32,147	35,003	35,000	1,011
AS 38C°	22,189	,341	21,520	22,857	22,000	,492
AS 39C°	12,781	,215	12,359	13,203	13,000	,216
AS 40C°	7,791	,119	7,558	8,023	7,000	,125
AT 34C°	18,884	,408	18,083	19,684	21,000	,335
AT 38C°	15,720	,317	15,098	16,342	16,000	,251
AT 39C°	9,050	,204	8,651	9,450	11,000	,151
AT 40C°	6,135	,109	5,921	6,349	7,000	,107
Global	16,285	,241	15,813	16,757	13,000	,312

Moyennes et médianes pour la durée de survie

groupe	Médiane	
	Intervalle de confiance à 95 %	
	Borne inférieure	Borne supérieure
AS 34C°	33,019	36,981
AS 38C°	21,035	22,965
AS 39C°	12,577	13,423
AS 40C°	6,755	7,245
AT 34C°	20,343	21,657
AT 38C°	15,508	16,492
AT 39C°	10,703	11,297
AT 40C°	6,791	7,209
Global	12,389	13,611

a. L'estimation est limitée à la plus grande durée de survie si elle est censurée.

Comparaisons globales

	Khi-carré	ddl	Sig.
Log Rank (Mantel-Cox)	2569,237	7	,000
Breslow (Generalized Wilcoxon)	1860,035	7	,000
Tarone-Ware	2166,307	7	,000

Test d'égalité des distributions de survie pour les différents niveaux de groupe.

III. Effets du stress combiné de la carence en pollen et de la chaleur sur la physiologie des ouvrières d'*A. m. sahariensis* et *A. m. intermissa*

Protéines

Tests des effets intersujets

Variable dépendante: Protéines

Source	Somme des carrés de type III	ddl	Carré moyen	F	Signification
Modèle corrigé	6295,280 ^a	11	572,298	2164,371	,000
Constante	14425,679	1	14425,679	54556,384	,000
Race	321,478	1	321,478	1215,795	,000
Stress	4315,195	1	4315,195	16319,609	,000
Age	859,568	2	429,784	1625,397	,000
Race * Stress	1,176	1	1,176	4,449	,038
Race * Age	28,271	2	14,136	53,460	,000
Stress * Age	755,834	2	377,917	1429,242	,000
Race * Stress * Age	13,757	2	6,879	26,014	,000
Erreur	25,384	96	,264		
Total	20746,343	108			
Total corrigé	6320,664	107			

a. R-deux = ,996 (R-deux ajusté = ,996)

Lipides

Tests des effets intersujets

Variable dépendante: Protéines

Source	Somme des carrés de type III	ddl	Carré moyen	F	Signification
Modèle corrigé	30547,186 ^a	11	2777,017	863,508	,000
Constante	74664,921	1	74664,921	23216,920	,000
Race	15144,661	1	15144,661	4709,204	,000
Stress	372,095	1	372,095	115,702	,000
Age	867,167	2	433,583	134,822	,000
Race * Stress	10110,083	1	10110,083	3143,712	,000
Race * Age	741,196	2	370,598	115,237	,000
Stress * Age	339,778	2	169,889	52,827	,000
Race * Stress * Age	2972,207	2	1486,103	462,101	,000
Erreur	308,733	96	3,216		
Total	105520,840	108			
Total corrigé	30855,919	107			

a. R-deux = ,990 (R-deux ajusté = ,989)

Sucres

Tests des effets intersujets

Variable dépendante: Protéines

Source	Somme des carrés de type III	ddl	Carré moyen	F	Signification
Modèle corrigé	76,171 ^a	11	6,925	525,975	,000
Constante	4917,904	1	4917,904	373550,010	,000
Race	20,300	1	20,300	1541,929	,000
Stress	,020	1	,020	1,505	,223
Age	13,521	2	6,761	513,519	,000
Race * Stress	20,901	1	20,901	1587,575	,000
Race * Age	4,013	2	2,007	152,418	,000
Stress * Age	10,899	2	5,450	413,944	,000
Race * Stress * Age	6,516	2	3,258	247,475	,000
Erreur	1,264	96	,013		
Total	4995,339	108			
Total corrigé	77,435	107			

a. R-deux = ,984 (R-deux ajusté = ,982)

Développement des glandes hypopharyngiennes

Tests des effets intersujets

Variable dépendante: Poids

Source	Somme des carrés de type III	ddl	Carré moyen	F	Signification
Modèle corrigé	3290,169 ^a	11	299,106	150,310	,000
Constante	21052,646	1	21052,646	10579,603	,000
Trait	3290,169	11	299,106	150,310	,000
Erreur	692,495	348	1,990		
Total	25035,309	360			
Total corrigé	3982,663	359			

a. R-deux = ,826 (R-deux ajusté = ,821)

Développement ovaires

Tableau croisé ovaires * trait

			trait				Total
			AS-38	AS+34	AT-38	AT+34	
ovaires	D	Effectif	13 _a	13 _a	19 _{a, b}	25 _b	70
		Effectif théorique	17,5	17,5	17,5	17,5	70,0
		% dans ovaires	18,6%	18,6%	27,1%	35,7%	100,0%
	ND	Effectif	77 _a	77 _a	71 _{a, b}	65 _b	290
		Effectif théorique	72,5	72,5	72,5	72,5	290,0
		% dans ovaires	26,6%	26,6%	24,5%	22,4%	100,0%
Total	Effectif	90	90	90	90	360	
	Effectif théorique	90,0	90,0	90,0	90,0	360,0	
	% dans ovaires	25,0%	25,0%	25,0%	25,0%	100,0%	

Tests du khi-carré

	Valeur	ddl	Signification asymptotique (bilatérale)
khi-carré de Pearson	7,023 ^a	3	,071
Rapport de vraisemblance	6,884	3	,076
N d'observations valides	360		

a. 0 cellules (0,0%) ont un effectif théorique inférieur à 5. L'effectif théorique minimum est de 17,50.

Survie

Kaplan-Meier

groupe	Estimation	Erreur standard	Moyenne ^a		Médiane Estimation
			Intervalle de confiance à 95 %		
			Borne inférieure	Borne supérieure	
AS-38	18,958	,339	18,294	19,622	20,000
AS+ 34	32,884	,803	31,311	34,457	35,000
AT-38	14,373	,311	13,763	14,983	15,000
AT+ 34	17,943	,505	16,953	18,933	18,000
Global	21,087	,359	20,383	21,791	20,000

Comparaisons globales

	Khi-carré	ddl	Sig.
Log Rank (Mantel-Cox)	563,713	3	,000
Breslow (Generalized Wilcoxon)	371,770	3	,000

RESUME

La présente thèse examine les effets de la carence en pollen et du stress thermique sur la physiologie et le comportement des deux sous-espèces d'abeilles endémiques en Algérie, *Apis mellifera intermissa* et *Apis mellifera sahariensis*. L'objectif principal était de comprendre comment ces deux sous-espèces réagissent face à ces facteurs de stress, et de déceler les éventuelles variations interspécifiques.

La méthodologie a nécessité la conduite de trois expériences en condition de laboratoire, où le couvain et les ouvrières des deux-sous-espèces étaient exposés à trois types de stress (la carence en pollen, le stress thermique et la combinaison des deux stress). Les paramètres mesurés incluaient quelques facteurs physiologiques comme la composition biochimique de l'hémolymphe, le poids des individus soumis au stress, le développement de leurs glandes hypopharyngiennes et des ovaires, leur durée de vie ainsi que le taux d'émergence du couvain.

Les résultats ont montré que chaque sous-espèce réagissait différemment face aux trois types de stress. Par rapport à *A. m. intermissa*, *A. m. sahariensis* démontrait une bonne tolérance à la carence en pollen, au stress thermique et aux deux stress présents à la fois. La plupart des indicateurs physiologiques (le développement des glandes hypopharyngiennes, le poids des individus, le taux d'émergence du couvain et la survie) étaient en faveur d'*A. m. sahariensis*, tandis qu'*A. m. intermissa* montrait clairement qu'elle avait une propension à développer ses ovaires quelles que soient les conditions expérimentales.

En conclusion, ce travail offre une perspective essentielle qui permet d'améliorer notre compréhension des mécanismes physiologiques d'adaptation des abeilles aux changements climatiques, tout en soulignant la nécessité d'adopter une approche plus appropriée pour la sauvegarde et la valorisation des deux sous-espèces.

Mots clés : *Apis mellifera intermissa*, *Apis mellifera sahariensis*, carence en pollen, couvain, taux d'émergence, glandes hypopharyngiennes, ovaires, hémolymphe, stress thermique, survie.

ABSTRACT

This work investigates the effects of pollen deprivation and heat stress on the physiology and behavior of two bee subspecies endemic to Algeria, *Apis mellifera intermissa* and *Apis mellifera sahariensis*. The main objective was to understand how these two subspecies react to these stress factors and to detect any interspecific variation.

The methodology consisted of carrying out three experiments under laboratory conditions in which the brood and workers of both subspecies were exposed to three types of stress (pollen deprivation, heat stress and a combination of the two). The parameters measured included a number of physiological factors such as the biochemical composition of the haemolymph, the weight of the stressed individuals, the development of their hypopharyngeal glands and ovaries, their lifespan and the rate of brood emergence.

The results showed that each subspecies responded differently to the three types of stress. Compared to *A. m. intermissa*, *A. m. sahariensis* showed good tolerance to pollen deprivation, heat stress and both stresses simultaneously. Most of the physiological indicators (hypopharyngeal gland development, individual weight, brood emergence rate and survival) were in favor of *A. m. sahariensis*, while *A. m. intermissa* showed a clear tendency to develop ovaries regardless of the experimental conditions.

In conclusion, this work offers an essential perspective that will improve our understanding of the physiological mechanisms by which bees adapt to climate change, while highlighting the need to adopt a more appropriate approach to the conservation and development of the two subspecies.

Keywords: *Apis mellifera intermissa*, *Apis mellifera sahariensis*, pollen deficiency, brood, emergence rate, hypopharyngeal glands, ovaries, haemolymph, thermal stress, survival.

ملخص

يهدف هذا البحث إلى دراسة تأثير نقص الغذاء (حبوب اللقاح) والإجهاد الحراري المرتفعة على بعض الخصائص الفيزيولوجية والسلوكية لدى سلالتين النحل المستوطنة في الجزائر، النحل التلي (*Apis mellifera intermissa*) و النحل الصحراوي (*Apis mellifera sahariensis*) و تحديد و فهم استجابة كل سلالة. تضمنت المنهجية تعريض العمال البالغة و الحضنة من كلا النوعين السلالتين لثلاثة أنواع من الإجهاد (نقص حبوب اللقاح، الحرارة المرتفعة، والضغط المشترك لكل منهما) في ثلاث تجارب مخبرية خاضعة للرقابة. تضمنت المعايير التي تم قياسها المؤشرات الفسيولوجية (التركيب الكيميائي لهمولف ، نمو الغدد تحت البلعومية، نمو المبايض ، الوزن ، معدل التفقيص ومدى الحياة). بينت النتائج أن استجابة و تفاعل كل سلالة مختلفة فيما بينها لأنواع الإجهاد الثلاثة. بالمقارنة مع النحل التلي، فإن النحل الصحراوي يتميز بمقاومة جيدة لكل من نقص حبوب اللقاح، الحرارة المرتفعة و كذا تأثيرهما المشترك. بالإضافة ، أظهرت النتائج كذلك تفوق السلالة الصحراوية من حيث نمو الغدد تحت البلعومية، الوزن، معدل تفقيص الحضنة ومدى الحياة. في حين تفوق النحل التلي كان متفوقاً من حيث نسبة تطور المبايض.

في الختام ، يقدم هذا العمل مساهمة كبيرة في فهمنا للآليات الفسيولوجية للتكيف النحل مع تغير الظروف المناخية ، مع ضرورة اتخاذ تدابير أكثر تنمائية مع الخصائص الفيزيولوجية لكل السلالتين من أجل الحفاظ عليهما وتثمينهما.

الكلمات المفتاحية: *Apis mellifera intermissa* ، *Apis mellifera sahariensis* ، نقص حبوب اللقاح ، التفقيص، الغدد تحت البلعومية ، همولف، المبايض ، الإجهاد الحراري ، مدى الحياة.