
Mémoire

Auteur : Doumont, Estelle

Promoteur(s) : Francis, Frédéric; Noël, Grégoire

Faculté : Faculté des Sciences

Diplôme : Master en biologie des organismes et écologie, à finalité spécialisée en biologie de la conservation : biodiversité et gestion

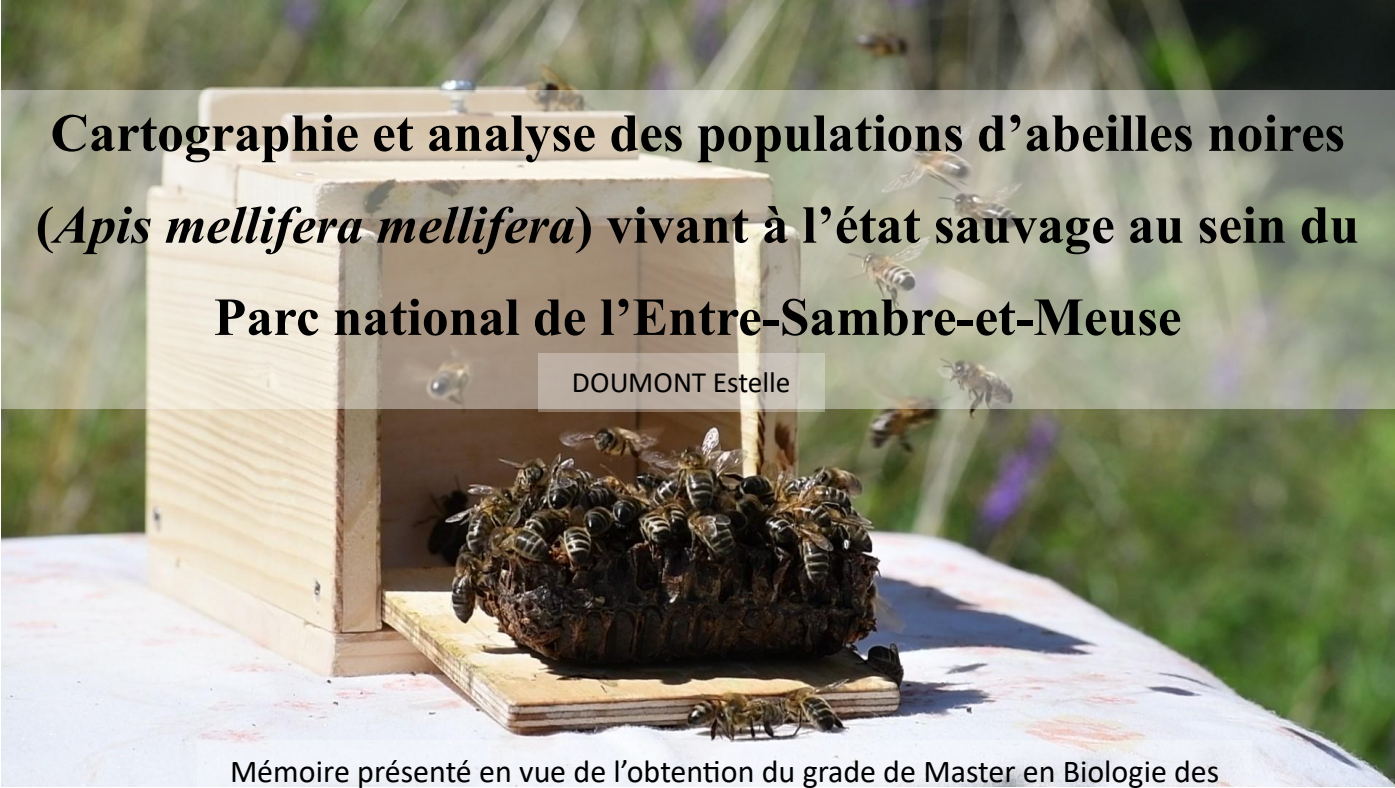
Année académique : 2023-2024

URI/URL : <http://hdl.handle.net/2268.2/20895>

Avertissement à l'attention des usagers :

Tous les documents placés en accès ouvert sur le site le site MatheO sont protégés par le droit d'auteur. Conformément aux principes énoncés par la "Budapest Open Access Initiative"(BOAI, 2002), l'utilisateur du site peut lire, télécharger, copier, transmettre, imprimer, chercher ou faire un lien vers le texte intégral de ces documents, les disséquer pour les indexer, s'en servir de données pour un logiciel, ou s'en servir à toute autre fin légale (ou prévue par la réglementation relative au droit d'auteur). Toute utilisation du document à des fins commerciales est strictement interdite.

Par ailleurs, l'utilisateur s'engage à respecter les droits moraux de l'auteur, principalement le droit à l'intégrité de l'oeuvre et le droit de paternité et ce dans toute utilisation que l'utilisateur entreprend. Ainsi, à titre d'exemple, lorsqu'il reproduira un document par extrait ou dans son intégralité, l'utilisateur citera de manière complète les sources telles que mentionnées ci-dessus. Toute utilisation non explicitement autorisée ci-avant (telle que par exemple, la modification du document ou son résumé) nécessite l'autorisation préalable et expresse des auteurs ou de leurs ayants droit.



Cartographie et analyse des populations d'abeilles noires (*Apis mellifera mellifera*) vivant à l'état sauvage au sein du Parc national de l'Entre-Sambre-et-Meuse

DOUMONT Estelle

Mémoire présenté en vue de l'obtention du grade de Master en Biologie des Organismes et Ecologie, à finalité spécialisée en Biologie de la Conservation, Biodiversité et Gestion

Co-promoteurs :
Prof. FRANCIS Frédéric
Dr. NOËL Grégoire

Organismes d'accueil :
Parc national de l'Entre-Sambre-et-Meuse,
Mellifica,
Laboratoire d'entomologie fonctionnelle et évolutive de
Gembloux

Année académique 2023-2024
Septembre 2024

REMERCIEMENTS

La rédaction de ce mémoire a été possible grâce au concours de plusieurs personnes que je souhaiterais remercier.

Je remercie le Professeur *Frédéric Francis* de m'avoir acceptée au sein du Laboratoire d'Entomologie fonctionnelle et évolutive de Gembloux. Merci au Dr. *Grégoire Noël* pour ses relectures, sa disponibilité ainsi que son encadrement.

Je tiens à remercier chaleureusement Monsieur *Hubert Guerriat*, président de Mellifica, pour m'avoir fait découvrir le monde des abeilles, et plus particulièrement l'abeille noire. Merci pour vos conseils précieux et vos remarques pertinentes.

Merci à *l'équipe du Parc national* de l'Entre-Sambre-et-Meuse qui m'a fourni les ressources dont j'avais besoin, et plus particulièrement à *Maïké Dellicour* pour sa disponibilité.

Evidemment, ce mémoire n'aurait pas vu voir le jour sans les journées passées sur le terrain à récolter des données. Pour cela je remercie vivement *Hugues*, un chasseur d'abeilles hors-pair ainsi que *Laura, Pauline, Hubert* et *mon papa* pour leur accompagnement sur des terrains parfois accidentés.

J'aimerais adresser une attention particulière à *ma famille, mon frère* et *mon papa* pour m'avoir soutenue dans mes études malgré les aléas de la vie. Merci à *Maxence* pour son soutien quotidien, ses relectures, son écoute et sa positivité. *Sarah*, merci pour tes conseils avisés lors de tes relectures ainsi que pour ton soutien indéfectible depuis tant d'années. Merci également à *Barbara* pour ses corrections orthographiques. Enfin, je remercie *ma maman* qui m'a toujours fait croire que je pouvais y arriver.

Cartographie et analyse des populations d'abeilles noires (*Apis mellifera mellifera*) vivant à l'état sauvage au sein du Parc national de l'Entre-Sambre-et-Meuse

Mémoire de Estelle Doumont, 2023-2024. Laboratoire d'entomologie fonctionnelle et évolutive de Gembloux, co-promoteurs : Prof. FRANCIS Frédéric & Dr. NOËL Grégoire

RÉSUMÉ

Le déclin global de la biodiversité et des populations de pollinisateurs constitue une préoccupation majeure en Europe. Parmi les pollinisateurs, l'abeille mellifère, *Apis mellifera Linnaeus* (1758), joue un rôle crucial tant pour les cultures agricoles que les écosystèmes naturels. Cependant, les colonies d'abeilles mellifères vivant à l'état sauvage sont encore peu étudiées, particulièrement en Belgique, malgré l'intérêt croissant pour ce sujet dans les pays voisins tels que la France, l'Allemagne et la Suisse. Ce mémoire se concentre sur l'étude des populations de la sous-espèce *Apis mellifera mellifera*, indigène en Belgique, qui vivent à l'état sauvage sur le territoire du Parc national de l'Entre-Sambre-et-Meuse.

Les objectifs principaux de cette recherche sont de localiser les colonies d'abeilles mellifères sur le territoire du Parc, d'effectuer des analyses génétiques et morphométriques afin de déterminer la sous-espèce et d'évaluer les ressources mellifères disponibles autour de ces colonies. A partir de ces informations, l'objectif final est de proposer l'emplacement de ruches-troncs dans des zones adéquates.

La méthode du bee-lining, combinée à des échanges avec des apiculteurs locaux, a été utilisée pour localiser les colonies. Les résultats ont révélé la présence de huit colonies, toutes situées en milieu rural. Parmi celles-ci, quatre colonies appartiennent à la sous-espèce *Apis mellifera mellifera*, et trois d'entre elles ont survécu sur une période de plus d'un an. Bien que le bee-lining n'ait pas permis de localiser des colonies en forêt, quatre zones potentielles de présence de colonies ont été identifiées. Des relevés floristiques par écotope ont été réalisés pour évaluer les ressources mellifères disponibles dans les zones étudiées.

L'analyse morphométrique de butineuses prélevées dans la zone d'étude a permis de localiser les sites plus riches en abeilles noires. A partir de la combinaison de ces résultats, quatre zones ont été retenues afin d'installer des ruches-troncs pour la conservation de l'abeille noire au sein du Parc national de l'Entre-Sambre-et-Meuse.

TABLE DES MATIÈRES

Remerciements	i
Résumé	ii
Table des matières	iii
Table des figures.....	vi
Table des annexes.....	vii
Préambule.....	1
Contexte	1
Etat de l'art.....	1
1. L'abeille mellifère, <i>Apis mellifera</i> Linnaeus (1758)	2
1.1. L'état des lieux de l'abeille mellifère	2
1.1.1. A l'échelle mondiale.....	2
1.1.2. En Belgique et Wallonie	3
1.2. Les sous-espèces d' <i>Apis mellifera</i>	4
1.2.1. Généralités.....	4
1.2.2. Hybridation.....	5
1.2.3. Différenciation des sous-espèces.....	5
1.2.4. L'abeille noire, <i>Apis mellifera mellifera</i>	7
1.3. Le fonctionnement d'une colonie d'abeilles mellifères	8
1.3.1. Composition de la ruche et cycle biologique	8
1.3.2. Reproduction	9
1.4. La communication chez les abeilles	10
1.5. Le comportement de butinage	10
1.6. Les ressources exploitées	11
2. Les colonies sauvages	12
2.1. L'état des lieux	12
2.2. La nidification	14
3. Objectifs.....	15
Matériel et méthode.....	16
1. Région d'étude	16
2. Recherche des colonies	17
2.1. Bee-lining	17
2.1.1. Identification de sites	17
2.1.2. Mise en place du bee-lining	17

2.2.	Communication	20
2.3.	Inventaire.....	20
3.	Évaluation de la présence d' <i>A.m.mellifera</i>	21
4.	Echantillonnage et identification	21
4.1.	Analyses génétiques	21
4.2.	Analyses morphométriques	22
4.2.1.	Principe.....	22
4.2.2.	Identification des ailes provenant de colonies.....	23
4.2.3.	Evaluation de la présence d' <i>A.m.mellifera</i> parmi les butineuses.....	23
5.	Analyses des ressources mellifères	24
	Résultats	27
1.	Recherche de colonies.....	27
1.1.	Bee-lining	27
1.2.	Communication	28
1.3.	Survie hivernale et printanière	29
2.	Identification de la sous-espèce	30
2.1.	Analyses de la composition génétique des colonies.....	30
2.2.	Analyses morphométriques	30
2.2.1.	Colonies.....	30
2.2.2.	Evaluation de la présence d' <i>A.m.mellifera</i>	31
3.	Ressources mellifères.....	32
	Discussion	34
1.	Recherche de colonies.....	34
1.1.	Cartographie	34
1.2.	Survie hivernale et printanière	35
2.	Identification de la sous-espèce	36
2.1.	Composition génétique.....	36
2.2.	Morphométrie.....	37
3.	Ressources mellifères.....	37
4.	Pistes de gestion.....	39
5.	Limites et perspectives.....	41
5.1.	Recherche de colonies	41
5.2.	Génétique	42
5.3.	Morphométrie.....	42
5.4.	Ressources mellifères	42

Conclusions	44
Bibliographie.....	46
Annexes	56

TABLE DES FIGURES

Figure 1 - Distribution naturelle approximative des différentes lignées évolutives d' <i>Apis mellifera</i> , modifiée d'après Tihelka et al. (2020).....	4
Figure 2 – Segments pris en compte dans le calcul de l'indice cubital (Albouy, 2019)	6
Figure 3 - Déplacement discoïdal (Di), montrant la position des lignes verticales et horizontales. II : Di négatif, III : Di nul, IV : Di positif (Ostroverkhova et al., 2016).....	6
Figure 4 - Cartographie du territoire d'étude illustrant les limites du Parc national ESEM, la zone de protection de l'abeille noire (<i>A.m.mellifera</i>) et les zones bioclimatiques.....	16
Figure 5 - Schéma d'une bee-box. O : côté ouvert, F : côté fermé par un plexiglas. Réalisé avec SketchUp (2024)	18
Figure 6 - Exemple de présence d'individus trop importante pour continuer un bee-lining. Auteur : Doumont Estelle.....	19
Figure 7 – A : photographie d'une aile d'une abeille échantillonnée (auteur : Doumont Estelle). B : exemple d'une image annotée automatiquement par DeepWings© (Rodrigues et al., 2022).....	23
Figure 8 - Cartographie de séances de bee-lining réalisées sur le cantonnement de Viroinval en juillet et août 2023	28
Figure 9 - Cartographie des colonies d' <i>A.mellifera</i> subsp. localisées en juillet et août 2023. Le dégradé de couleur représente le pourcentage d' <i>A.m.mellifera</i> obtenu par analyse de la composition génétique de la reine par extrapolation de l'ADN d'ouvrières.....	29
Figure 10 - Histogramme de la composition génétique de la reine de la colonie par extrapolation de l'ADN d'ouvrières. <i>A.m.caucasia</i> est synonyme de <i>A.m.caucasica</i>	30
Figure 11 - Histogramme cumulé des probabilités d'appartenance à une sous-espèce pour chaque colonie par analyse morphométrique de l'aile antérieure droite. Les probabilités illustrées sont celles fournies par Deepwings pour l'aile moyenne.	31
Figure 12 - Illustration de la répartition des lignées d' <i>A.mellifera</i> par secteur dans la zone d'étude.....	31
Figure 13 - Composition du paysage dans un rayon de deux kilomètres autour des colonies d' <i>Apis mellifera mellifera</i> (source : écotopes du projet LifeWatch 2022). A gauche : colonie n°5 (Mazée), à droite : colonies n° 2 et 3 (Oignies-en-Thiérache)	32
Figure 14 – Evolution des indices mellifères d'avril à juillet par écotope dans la région de Mazée	33
Figure 15 – Evolution des indices mellifères d'avril à juillet par écotope dans la région de Oignies-en-Thiérache	33

TABLE DES ANNEXES

Annexe 1 - Photographie d'une station de bee-lining, auteur : Doumont Estelle.....	56
Annexe 2 - QR-code renvoyant vers une vidéo présentant la méthode du Bee-lining	57
Annexe 3 - Fiche de terrain utilisée pour les séances de bee-lining. "J" correspond au phénotype jaune et "N" correspond au phénotype noir. La colonne "ID abeille" permet de noter les couleurs qui ont été utilisées pour identifier les abeilles individuellement.....	58
Annexe 4 - Ensemble des écotopes définis par LifeWatch avec le code et la couleur correspondants. Tableau adapté de (Radoux et al., s. d.).....	58
Annexe 5 - Répartition des écotopes dans chaque carré de la zone d'étude	59
Annexe 6 - A : Répartition des différents matériaux des cavités de nidification utilisées par Apis mellifera ; B : fréquence de la hauteur des cavités de nidification. C : fréquence du nombre d'entrées des cavités de nidification.	60
Annexe 7 - Evolution de l'occupation des cavités occupées en été 2023 au printemps et été 2024.....	61
Annexe 8 - Distribution des sous-espèces identifiées par morphométrie géométrique de l'aile antérieure droite par site (carré de 1,5 km de côté) étudié.	62
Annexe 9 - Cartographies détaillées des écotopes et parcelles agricoles dans les régions de Mazée et Oignies-en-Thiérache. Légende commune.	63
Annexe 10 - Répartition des différents écotopes dans les régions de Mazée et Oignies-en-Thiérache.....	65
Annexe 11 - Indices mellifères par écotope et par mois - Mazée	66
Annexe 12 - Représentation graphique des indices mellifères par écotope et par mois - Mazée	66
Annexe 13 - Indices mellifères par écotope et par mois - Oignies	67
Annexe 14 – Représentation graphique des indices mellifère par écotope et par mois - Oignies	67
Annexe 15 - Cartographie de proposition d'emplacements de ruches-troncs sur le territoire du Parc national de l'Entre-Sambre-et-Meuse.....	68

PRÉAMBULE

En janvier 2023, deux Parcs nationaux ont été désignés en Wallonie à la suite de l'appel à projet lancé en juillet 2021 par la ministre de l'Environnement : le Parc national de la Vallée de la Semois et le Parc national de l'Entre-Sambre-et-Meuse (PN ESEM). Ces Parcs nationaux ont pour objectif non seulement la protection de la nature, mais aussi la valorisation touristique. Pour atteindre ces objectifs, des fiches-actions ont été développées par chaque Parc, définissant les priorités en matière de gestion et de conservation (Service Public de Wallonie (SPW), 2022).

CONTEXTE

Malgré les efforts de conservation engagés par les Etats membres, l'Europe continue de faire face à un déclin de la biodiversité qu'elle abrite. Ce phénomène est notamment préoccupant pour les pollinisateurs, dont les habitats essentiels sont considérés comme étant dans un état critique. L'intensification de l'agriculture ainsi que l'utilisation de fertilisants figurent parmi les causes principales de cet état délétère (European Environment Agency, 2020).

Parmi les insectes pollinisateurs, l'abeille mellifère, *Apis mellifera* Linnaeus 1758, joue un rôle important dans le monde entier, autant pour les cultures que pour le maintien des écosystèmes naturels (Hung et al., 2018). L'abeille mellifère étant forestière, une des menaces pour sa conservation à l'état sauvage est notamment le manque de sites de nidification disponibles en raison des pratiques agricoles et sylvicoles actuelles (Albouy, 2019). Les études des populations sauvages commencent à se multiplier dans plusieurs pays européens (Albouy & M. Lang, 2023; Browne et al., 2020; FREETHEBEES, 2021; Kohl & Rutschmann, 2018) mais aucune n'a encore été réalisée en Belgique.

C'est dans ce contexte que s'inscrit ce travail, en lien direct avec la fiche action « Abeille noire et abeilles solitaires » du Parc national de l'Entre-Sambre-et-Meuse. Cette fiche action est développée en collaboration avec Mellifica, une ASBL fondée par Hubert Guerriat, qui a notamment pour but « *l'étude, la conservation, l'élevage, la sélection et la promotion de l'abeille noire européenne, Apis mellifera mellifera* » (Statuts de Mellifica, 2013, Article 3).

ÉTAT DE L'ART

Cette introduction présente l'état des connaissances actuelles concernant l'abeille mellifère, son état global et au niveau belge, ses sous-espèces, son cycle biologique ainsi que les ressources

qu'elle exploite. Enfin, un chapitre est dédié aux colonies sauvages, à leur fonctionnement et à leur nidification.

1. L'abeille mellifère, *Apis mellifera* Linnaeus (1758)

L'abeille mellifère, littéralement – l'abeille qui produit du miel –, est bien connue de tous dans les ruches des apiculteurs. Cependant, il existe aussi des colonies vivant librement à l'état sauvage, qui passent inaperçues et qui sont bien moins étudiées (Visick & Ratnieks, 2023). *Apis mellifera* possède plusieurs sous-espèces¹ (décrites au paragraphe 1.2) séparées géographiquement, adaptées à leur milieu et qui sont allopatriques² (Ruttner, 1988). En Belgique, la sous-espèce indigène est l'abeille noire, *Apis mellifera mellifera*, (De La Rúa et al., 2009; Ruttner, 1988), c'est pourquoi ce travail se focalisera sur cette sous-espèce en particulier.

1.1. L'état des lieux de l'abeille mellifère

1.1.1. A l'échelle mondiale

A l'origine, la distribution naturelle de l'abeille mellifère s'étendait sur le continent Africain, l'Europe et l'ouest de l'Asie (Jensen et al., 2005). Aujourd'hui, suite aux déplacements de l'Homme, elle présente une large distribution à travers le monde à l'exception des zones désertiques et de l'Antarctique, tant dans des ruches d'apiculteurs que dans des colonies dites « sauvages » (Albouy, 2019; Visick & Ratnieks, 2023). Du côté des ruches des apiculteurs, leur nombre approchait les 102 millions de colonies en 2021 à l'échelle mondiale. Cela représente une augmentation du nombre de ruches par rapport à 1990. Toutefois, la majorité de cette croissance est due à l'Asie (FAO, 2021 citée par Destatis, 2021)) qui possède la moitié des colonies (Visick & Ratnieks, 2023).

Bien que l'Europe soit le deuxième continent comptant le plus de colonies gérées³ (Visick & Ratnieks, 2023), il y a eu une diminution de 1.2% pour l'ouest de l'Europe entre 1990 et 2021 (FAO, 2021 dans (Destatis, 2021)).

¹ Sous-espèces : « Groupes de populations réellement ou potentiellement interfécondes qui se distinguent phylogénétiquement des autres groupes de ce type, mais qui sont compatibles avec eux sur le plan de la reproduction » (National Academies of Sciences et al., 2019)

² Allopatrique : « concerne des espèces, des races qui n'ont pas ou presque pas d'échanges génétiques du fait de leur répartition géographique » (Universalis, 2024)

³ Une colonie gérée est une colonie qui bénéficie d'une gestion par un apiculteur

Dans le cadre de ce travail, il faut comprendre colonies « sauvages » comme « vivant à l'état sauvage », c'est-à-dire sans intervention de la part de l'Homme, dont le nid se trouve ailleurs que dans une ruche (Browne et al., 2020; Requier et al., 2019). On ne parle pas de colonie sauvage à proprement dit car il n'est pas possible de déterminer s'il s'agit de colonies férales⁴ ou de colonies purement sauvages. Rutschmann (2022) souligne d'ailleurs qu'il n'est toujours pas possible de dire si les colonies vivant à l'état sauvage sont stables ou si elles persistent grâce aux essaims des apiculteurs.

1.1.2. En Belgique et Wallonie

En Wallonie, les populations d'abeilles mellifères sont considérées comme en déclin depuis les années 90 et ce pour plusieurs raisons : des hivers rudes, l'intensification de l'agriculture, l'utilisation de produits phytopharmaceutiques ainsi que les maladies, le parasite *Varroa destructor*⁵ étant considéré comme la principale cause de mortalité. Ce parasite est arrivé dans les années 80 en Belgique (CARI, 2015). Selon le dernier rapport sur l'état de l'environnement wallon, l'état des populations d'abeilles mellifères dans les ruchers était toujours considéré comme légèrement défavorable en 2014 (Direction de l'état environnemental, 2018).

L'Agence fédérale pour la sécurité de la chaîne alimentaire (AFSCA) estimait le nombre d'apiculteurs belges à 10 000 en 2022⁶ (AFSCA, 2023). Toutefois, le nombre de ruches a diminué d'environ 10% en 2023 (SPW ARNE, communication personnelle, 2024). Le taux de mortalité des colonies reste important et est estimé à 17% pour la Belgique pour l'hiver 2022-2023 et à 14% pour la Wallonie (San Martin, 2023). Le taux de mortalité est considéré comme « normal » quand il est de l'ordre de 10% (Fayet, 2022).

⁴ Féral : « se dit d'une espèce domestique retournée à l'état sauvage » (Éditions Larousse, s. d.-b)

⁵ *Varroa destructor* est un parasite dont le cycle de reproduction se déroule dans le couvain (Guerriat, 2017)

⁶ Ces chiffres ne représentent pas l'entièreté des apiculteurs, mais seulement ceux qui se sont inscrits à l'AFSCA (Fayet, 2022)

1.2. Les sous-espèces d'*Apis mellifera*

1.2.1. Généralités

Les phénomènes d'isolement géographique lors des périodes glaciaires ont mené à l'apparition de différentes sous-espèces d'*A.mellifera*, regroupées dans des lignées évolutives⁷ (De La Rúa et al., 2009; Han et al., 2012; Ruttner, 1988). Ces lignées évolutives ont été établies sur base morphologique dans un premier temps et ont été confirmées par des analyses génétiques (De La Rúa et al., 2009; Ruttner, 1988).

A. mellifera possède au moins quatre lignées évolutives principales, dont la distribution est illustrée sur la Figure 1 : la lignée **O** dont la distribution se limite au Proche-Orient, la lignée **A** pour les sous-espèces d'Afrique, la lignée **C** pour le pourtour de la Méditerranée et la lignée **M** pour l'ouest et le nord de l'Europe (De La Rúa et al., 2009; Ruttner, 1988) auxquelles s'ajoute parfois la lignée **Y** contenant une seule sous-espèce, *A.m.jemenitica*, présente de l'Afrique centrale à la péninsule Arabique (Alqarni et al., 2011; Ilyasov et al., 2020) et la lignée **S** de Syrie et du Liban (Tihelka et al., 2020). La recolonisation de l'Europe par l'abeille mellifère s'est faite il y a 10 000 ans, après la dernière période glaciaire, avec la lignée **M** (Jensen et al., 2005).



Figure 1 - Distribution naturelle approximative des différentes lignées évolutives d'*Apis mellifera*, modifiée d'après Tihelka et al. (2020)

Selon Ilyasov et al. (2020), l'abeille mellifère compte 33 sous-espèces dont 13 sont présentes en Europe, reflet des conditions de vie contrastées à travers le monde (Albouy, 2019).

En Wallonie, deux sous-espèces sont majoritairement utilisées en apiculture : l'abeille noire (lignée **M**) et l'abeille carniolienne, *Apis mellifera carnica* (lignée **C**) ainsi que l'abeille Buckfast⁸, décrite ci-après. Toutefois, il est également possible de retrouver des gènes de *A.m.caucasica* et *A.m.ligustica* (Fayet, 2022).

⁷ Une lignée évolutive contient les descendants d'un ancêtre commun (Baum, 2008)

⁸ La race Buckfast est un mélange stable de plusieurs sous-espèces

1.2.2. Hybridation

L'abeille mellifère est parfois faussement appelée « abeille domestique », alors qu'elle n'est qu'à moitié domestiquée⁹, en raison de son système d'accouplement qui rend la sélection compliquée (cf. paragraphe 1.3.2, page 9) (Büchler et al., 2014; Seeley, 2020). Les différentes sous-espèces sont interfécondes (Albouy, 2019), ce qui peut mener à de l'hybridation lorsque des sous-espèces non indigènes sont introduites dans l'aire naturelle d'une autre (Requier et al., 2019). Ces croisements modifient alors le pool génétique des populations locales et conduisent à une perte de leur identité génétique (Büchler et al., 2014).

En plus des sous-espèces ayant évolué sans fécondation contrôlée, une souche synthétique, appelée l'abeille « Buckfast », a été créée en 1917 par le frère Adam à l'abbaye de Buckfast. Cette souche, issue du croisement de diverses sous-espèces, a été créée dans le but d'obtenir une abeille douce et productive. Le frère Adam a continué sa sélection pendant 70 ans, en croisant ces abeilles avec des reines d'*Apis mellifera ligustica* (lignée C) dans un premier temps, puis avec différentes sous-espèces provenant d'Europe (*A.m.mellifera*, *A.m.ligustica*, *A.m.cecropia*), d'Asie (*A.m.anatoliaca*) et d'Afrique (*A.m.sahariensis* et *A.m.monticola*) (Albouy, 2019; Okuyama et al., 2018). Actuellement, l'abeille Buckfast est fortement utilisée par de nombreux apiculteurs, y compris en Wallonie (Fayet, 2022).

1.2.3. Différenciation des sous-espèces

Les sous-espèces d'*A.mellifera* se distinguent les unes des autres par différentes caractéristiques, que ce soit moléculaires, comportementales ou encore de par leur morphologie (Requier et al., 2019).

Génétiquement, les analyses peuvent notamment se baser sur la méthode des allozymes, sur l'ADN mitochondrial ou sur l'ADN nucléaire (Albouy, 2019; Ruttner et al., 1990). La méthode des allozymes s'appuie sur la variabilité des isoenzymes : chez l'abeille mellifère, au moins six enzymes sont polymorphiques. Les analyses réalisées sur l'ADN se basent notamment sur le polymorphisme des nucléotides ou sur les microsatellites. Concernant l'ADN mitochondrial, diverses méthodes peuvent être utilisées, par exemple, l'étude du polymorphisme de longueur des fragments de restriction (RFLP), du polymorphisme des

⁹ Espèce domestique : « transformation d'une espèce sauvage en espèce soumise à une exploitation par l'homme, en vue de lui fournir des produits ou des services » (Éditions Larousse, s. d.-a) ; « On appelle "domestique" un être vivant dont on contrôle le cycle de reproduction et que l'on considère, à cet égard, comme dépendant d'un humain ou d'un groupe d'humains. » (Muséum national d'histoire naturelle, 2023)

produits de PCR¹⁰ avec des amorces spécifiques ou aléatoires (RAPD¹¹) ou le séquençage d'ADN mitochondrial avec recherche de polymorphismes nucléotidiques (SNPs¹²). Les mêmes techniques peuvent s'appliquer pour l'analyse de l'ADN nucléaire, en ajoutant le séquençage du génome entier par la méthode NGS¹³ (Ilyasov et al., 2020).

Les analyses morphométriques utilisées pour identifier à quelle sous-espèce un individu appartient se basent soit sur les mesures des parties du corps de l'insecte, soit sur la forme de l'aile pour laquelle trois approches sont possibles : la morphométrie de l'aile classique, la méthode DAWINO (Discriminant Analysis with Numerical Output¹⁴) ou la morphométrie géométrique (Meixner et al., 2013).

L'indice cubital et le déplacement discoïdal peuvent être mesurés sur l'aile antérieure d'une ouvrière. L'indice cubital (Figure 2) est le rapport entre la longueur du segment de veine A sur le segment B.

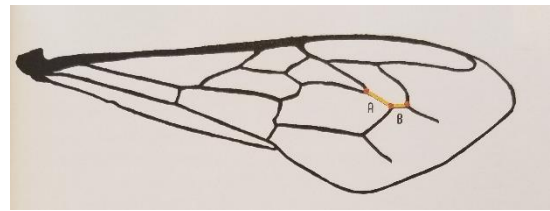


Figure 2 – Segments pris en compte dans le calcul de l'indice cubital (Albouy, 2019)

Le déplacement discoïdal (Di) est la position relative de la droite perpendiculaire à la ligne reliant les extrémités horizontales R1-R2 de la cellule radiale de l'aile (cellule supérieure) et qui passe par le point B, par rapport au point postérieur F de la cellule discoïdale (Figure 3). Si le point F se trouve plus du côté du bout de l'aile, il est positif (IV). S'il se situe plus proche du thorax (II), l'indice est négatif et s'il se positionne à peu près sur la ligne, il est nul (III).

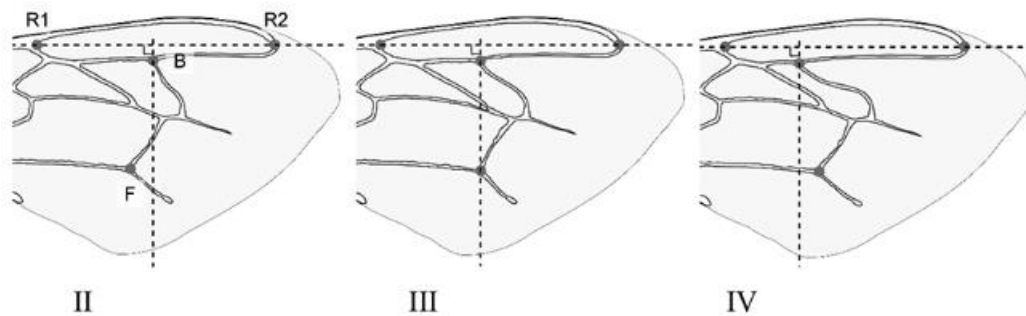


Figure 3 - Déplacement discoïdal (Di), montrant la position des lignes verticales et horizontales. II : Di négatif, III : Di nul, IV : Di positif (Ostroverkhova et al., 2016)

Outre les mesures alaires, la longueur de la pilosité ainsi que celle du probocis peuvent renseigner sur la sous-espèce (Albouy, 2019; Ruttner et al., 1990).

¹⁰ PCR : Polymerase chain reaction (amplification en chaîne par polymérase)

¹¹ RAPD : Random amplified polymorphic DNA (amplification aléatoire d'ADN polymorphe)

¹² SNP : Single nucleotide polymorphism (polymorphisme d'un seul nucléotide)

¹³ NGS : Next generation sequencing (séquençage de nouvelle génération)

¹⁴ Analyse discriminante avec sortie numérique

1.2.4. L'abeille noire, *Apis mellifera mellifera*

Apis mellifera mellifera est la sous-espèce indigène de l'ouest de l'Europe et donc en Belgique (Albouy, 2019; Ruttner et al., 1990). Première abeille décrite par Linné (Ruttner et al., 1990), elle fait partie de la lignée évolutive M, au même titre que *A.m.iberiensis* (Ilyasov et al., 2020) et présente la plus grande aire de répartition parmi les sous-espèces européennes (Albouy, 2019; De La Rúa et al., 2009; Ruttner, 1988). Cependant, elle est très fortement menacée par les phénomènes d'hybridation avec d'autres sous-espèces, que ce soit dans leur zone de contact naturelle ou en raison des introductions de sous-espèces non indigènes pour l'apiculture (Carreck, 2008). Suite à cela, une introgression génétique¹⁵ rapide peut être observée avec les sous-espèces commerciales de la lignée C, tels que *A.m.carnica* et *A.m.ligustica* (Jensen et al., 2005). Ces hybridations peuvent entraîner une modification génétique de la lignée d'*A.m.mellifera* qui perd alors ses adaptations au milieu (Requier et al., 2019). De ce fait, il reste actuellement peu de colonies d'abeilles noires pures en Europe (Pinto et al., s. d. dans Albouy, 2019). Pourtant, il est démontré qu'il est essentiel de conserver la diversité génétique des populations natives, qui montrent des meilleurs taux de survie et moins de pathogènes que les sous-espèces importées (Tihelka et al., 2020). En outre, le développement des colonies des différents écotypes peut varier selon la disponibilité des ressources florales de l'environnement, ce qui souligne l'importance du maintien des souches locales adaptées à la flore (Louveaux et al., 1966 cité par Büchler et al., 2014).

L'abeille noire est une abeille originellement forestière (Albouy, 2019). Elle est décrite comme étant une sous-espèce résistante aux conditions climatiques froides avec une bonne capacité d'hivernage (Ruttner et al., 1990), résultat de son adaptation lors des périodes glaciaires. Avec l'abeille carniolienne, l'abeille noire fait partie des sous-espèces européennes les plus résistantes. Elles peuvent maintenir une différence de température de 60°C entre le cœur de la ruche et l'extérieur (Albouy, 2019). La limite nord de sa répartition correspond approximativement à la limite de la forêt feuillue, en particulier à celle du noisetier, car plus au nord, l'offre de sites de nidification est insuffisante (Albouy, 2019; Ruttner et al., 1990).

L'abeille noire se caractérise morphologiquement par sa pigmentation foncée, une taille assez grande mais également, comme cela a été mentionné précédemment, par la nervation alaire (Meixner et al., 2007). Chez l'abeille noire, l'indice cubital (Figure 2) est généralement

¹⁵ En génétique, l'introgression est une hybridation par introduction de caractéristiques héréditaires d'une espèce dans le génome d'une autre espèce (Universalis, s. d.)

inférieur à 2 (car le segment *A*, celui du numérateur, est plus court) tandis que chez les carnioliennes et italiennes, l'indice d'une colonie est en moyenne supérieur à 2,4. L'aile d'abeille noire se caractérise par un indice discoïdal négatif ou nul (Figure 3) tandis qu'il est positif chez *A.m.carnica* et *A.m.ligustica*. Toutefois, il est précisé que ces valeurs sont plus fiables pour une moyenne sur l'ensemble d'une colonie que pour un individu seul (Ruttner et al., 1990).

Le paragraphe suivant aborde en détail le fonctionnement d'une colonie d'abeilles mellifères, son cycle biologique, la reproduction, la communication, leur comportement de butinage et les ressources exploitées.

1.3. Le fonctionnement d'une colonie d'abeilles mellifères

1.3.1. Composition de la ruche et cycle biologique

L'abeille mellifère fait partie des insectes eusociaux (Fayet, 2012). En effet, parmi les 30 000 à 50 000 individus, une ruche est composée d'une reine, de mâles, nommés « faux-bourdon », et d'une majorité d'ouvrières, qui ont chacun des rôles différents (Guerriat, 2017; Seeley, 2017).

Le cycle biologique de l'abeille mellifère est constamment influencé tout au long de l'année par divers facteurs tels que le cycle de ponte de la reine, le cycle du couvain¹⁶, la population d'abeilles, le rythme de prise de poids de la colonie grâce aux apports alimentaires, ainsi que les fluctuations dans la récolte de pollen. Le cycle annuel des colonies d'*Apis mellifera* peut être divisé en cinq phases : (1) hivernale, (2) prévernale, (3) vernale, (4) estivale et (5) estivo-automnale (Guerriat, 2017).

La phase hivernale se déroule entre la fin octobre et début mars. Bien que la colonie soit au ralenti, elle continue de fonctionner même en hiver : les individus se regroupent en grappe serrée tout en maintenant une température supérieure à 10°C qui représente le seuil d'engourdissement. C'est grâce à la contraction de leur musculature commandant le battement des ailes que de la chaleur est produite. Les abeilles consomment les réserves de miel¹⁷ faites pendant l'été pour passer l'hiver (Guerriat, 2017).

¹⁶ Couvain : ensemble des stades de développement de l'abeille (oeuf, larve, nymphe) dans les alvéoles (Guerriat, 2017)

¹⁷ Le miel est le résultat d'une prédigestion du nectar dont la teneur en eau est fortement abaissée afin d'augmenter sa conservation (Albouy, 2019)

Après le solstice d'hiver, la reine se remet à pondre et la température de la colonie s'élève à 35°C pour assurer le développement du nouveau couvain. C'est la phase prévernale, entre début mars et fin avril.

À la fin du printemps, lors de la phase vernale, la colonie atteint sa taille maximale, en même temps que se déroule la miellée de printemps. Si la colonie juge qu'il n'y a plus suffisamment d'espace dans la cavité actuelle, elle a la possibilité de procéder à un essaim : un tiers demeure dans la colonie d'origine, tandis que les deux tiers s'envolent avec la vieille reine afin de fonder une nouvelle colonie (Seeley, 2017). Le tiers des ouvrières restant dans l'ancienne colonie élève alors une nouvelle reine. La miellée de printemps précède une période de disette, le trou de miellée. Ensuite la phase estivale prend place avec la miellée d'été, la colonie continue de croître jusqu'au solstice d'été, après lequel la ruche décroît. En fin de saison, les abeilles d'été laissent place aux abeilles d'hiver, qui vivent en moyenne plus longtemps (Guerriat, 2017).

1.3.2. Reproduction

Lors d'une journée chaude et ensoleillée au printemps, les faux-bourçons provenant de 200 à 300 colonies se réunissent en un lieu communément appelé congrégation à mâles afin de s'accoupler avec une reine vierge (Guerriat, 2017; Seeley, 2017).

Lors de sa première année, la reine va effectuer son vol nuptial vers ces congrégations à mâles et s'accouplera avec 15 à 20 d'entre eux, ce qui représente un stock d'environ cinq millions de spermatozoïdes dans la spermathèque (Seeley, 2017). Le mélange de gènes qui découle du mode d'accouplement de l'abeille domestique mène donc à une des formes les plus parfaites de panmixie¹⁸ (Baudry et al., 1998).

Cette réserve de gamètes mâles servira à la reine pour pondre tout au long de sa vie. Au moment de la ponte, la reine peut choisir de relâcher des spermatozoïdes ou non, ce qui déterminera le sexe de l'abeille à venir : les œufs fécondés donneront des femelles et les non fécondés donneront des mâles (Seeley, 2017). Ensuite, la taille de l'alvéole dans laquelle l'œuf est déposé déterminera s'il s'agit d'une ouvrière ou d'une abeille reproductrice, c'est-à-dire une autre reine. Les larves qui éclosent dans les grandes alvéoles royales sont nourries avec de la gelée royale, permettant un développement plus important afin de donner une reine (Guerriat, 2017; Seeley, 2017).

¹⁸ La panmixie parfaite est une panmixie définie par six conditions qui sont l'absence de migration, l'absence de croisement entre générations différentes, l'absence de mutation, l'absence de sélection, l'absence de choix du conjoint et l'effectif infini de la population (Aquaportail, 2023)

Le rôle de la reine dans la ruche est donc la reproduction et la répression de nouvelles reines. Les mâles ne participent qu'à la reproduction et ne jouent aucun rôle dans le fonctionnement de la ruche. Les ouvrières, quant à elles, s'assurent du bon maintien de la colonie, du nourrissage, de la construction et du butinage (Guerriat, 2017; Seeley, 2017).

Concernant l'abeille noire, le cycle de ponte dans le sud de la Belgique est assez typique. D'après Guerriat (2017), l'importance du couvain est relativement faible en début de saison, mais elle augmente rapidement pour atteindre un pic fin mai-début juin. Ensuite, le couvain diminue promptement en juillet et devient rare en septembre (Guerriat, 2017).

1.4. La communication chez les abeilles

Les abeilles communiquent entre elles notamment via des danses. Lorsqu'une abeille fait la découverte d'une source de nourriture intéressante, elle le communique aux autres ouvrières en exécutant une danse frétilante sur les rayons de la colonie. Si la source de nourriture est proche, l'abeille réalise une danse en rond en partant un coup à droite et puis à gauche. Si le patch floral se trouve au-delà de 150 mètres, la danse prend alors la forme d'un huit. L'angle formé entre le parcours rectiligne de la danse et la verticale de la ruche informe sur la direction de la source de nourriture, la fréquence de frétillement de la butineuse donne l'information de la distance et l'odeur permet d'identifier le type de nourriture/l'espèce florale (Guerriat, 2017; Seeley, 2022). La distance communiquée prend en compte les différents obstacles rencontrés sur le trajet. Ce système de danse est également utilisé lors de l'essaimage afin de localiser un nouveau site propice à l'installation de la colonie (Guerriat, 2017; Seeley, 2017).

1.5. Le comportement de butinage

L'abeille mellifère s'avère être une butineuse généraliste, ce qui en fait une espèce pollinisatrice clé et permet d'assurer une pollinisation durant toute la bonne saison grâce à la taille importante des colonies (Albouy, 2019).

Les abeilles mellifères peuvent butiner en commun. Toutefois, si une colonie a découvert une ressource avant une autre, la première défend cette ressource afin d'en avoir le monopole. Si la découverte a lieu en même temps, il peut y avoir une tolérance tant que l'offre en nourriture est suffisante, sinon de l'agressivité apparaît entre les différentes colonies (Benest (1976) *cité par* Albouy (2019)).

Les ouvrières endossent plusieurs rôles tout au long de leur vie dans la colonie. Le rôle de butineuse est souvent le dernier avant de mourir d'épuisement ou d'être victime d'un prédateur. Pour produire un kilogramme de miel, cela nécessite le travail d'environ 200 ouvrières (Albouy, 2019). La distance parcourue par les butineuses varie selon les ressources disponibles. Plus la réserve en nectar est importante, plus la distance parcourue est petite. Les éclaireuses mettent plus d'efforts dans la recherche de nouvelles zones de butinage à proximité de la ruche et ont donc plus de chances de trouver une petite surface de butinage (100 m²) proche de la ruche qu'éloignée (Guerriat, 2017). Selon Balayer (1990), pour remplir son jabot à sa capacité maximale, une butineuse doit visiter entre 150 et 400 fleurs, récoltant ainsi entre 20 et 30 milligrammes de nectar. Le rayon de butinage moyen est estimé à 1500 mètres depuis la colonie (Couvillon et al., 2015; Steffan-Dewenter & Kuhn, 2003).

En période de disette, ou lorsqu'une colonie a été abandonnée à la fin de l'hivernage, les individus d'une colonie vont parfois piller les ressources rassemblées par une autre (Arndt & Tautz, 2021).

1.6. Les ressources exploitées

Les abeilles ont besoin d'eau, de nectar et de pollen. Elles peuvent également se servir de miellat¹⁹ et former de la propolis avec des résines végétales. Le nectar est une solution sucrée composée notamment d'acides aminés et organiques, de minéraux, de vitamines, de protéines, etc. Le taux de sucre varie de 10 à 75% de matière sèche et peut prendre la forme en majorité de saccharose, glucose ou fructose selon l'espèce végétale, avec quelques autres sucres en plus faibles quantités (Albouy, 2019; Guerriat, 2017).

Les plantes visitées par les abeilles sont dites mellifères. Du point de vue apicole, c'est une plante qui est visitée par les abeilles pour ses productions utiles à la vie de la colonie. En biologie, une plante mellifère est une plante qui produit de façon abondante du nectar et/ou du pollen de façon régulière et soutenue dans le temps par rapport à d'autres plantes (Reeb & Silberfeld, 2021). La concentration en sucre du nectar est connue pour plusieurs espèces, ce qui permet d'estimer la quantité de nectar et le poids en sucre sécrété par jour et par fleur, bien que le sol, le climat ou encore l'altitude peuvent influencer la quantité de nectar produite pour d'autres plantes (Guerriat, 2017; Pritsch, 2020).

¹⁹ Miellat : substance rejetée par certains insectes après ingestion de sève élaborée (Pritsch, 2020)

Aujourd'hui, avec les changements opérés par l'Homme sur les paysages européens, les abeilles butinent principalement dans les milieux ouverts qui sont prédominants. Cependant, la composante ligneuse (arbres et arbustes) joue un rôle majeur pour les abeilles mellifères, surtout en période d'élevage du couvain. En effet, 57% des récoltes des abeilles en avril proviennent de cette composante ligneuse, puis 47% en mai et juin (Albouy, 2019).

Seuls certains végétaux sont exploités lors de la collecte du pollen, qui est maximale lors de la période vernale, fin mai dans le sud de la Belgique. En considérant qu'une ruche élève au minimum 100 000 individus, cela nécessite à peu près 30 kg de pollen et 60 kg de miel (Guerriat, 2017). Le nectar, transformé en miel, est stocké dans les alvéoles de la ruche et apporte une réserve de glucides. Le pollen, quant à lui, apporte des protéines, mais joue également un rôle essentiel dans la formation d'une réserve de graisses et de protéines, assurant ainsi la survie des ouvrières nées en fin d'été et en automne pendant la période hivernale (Pritsch, 2020).

Le paragraphe suivant traite des colonies vivant à l'état sauvage, de leur état actuel et de leur nidification.

2. Les colonies sauvages

2.1. L'état des lieux

Le statut d'*Apis mellifera* à l'état sauvage sur la liste de l'Union Internationale pour la Conservation de la Nature (UICN) est en « données manquantes » (European Commission - Directorate General for the Environment & IUCN (International Union for Conservation of Nature), 2014), principalement car la liste rouge de l'UICN couvre uniquement les espèces sauvages et qu'il est parfois difficile de distinguer les populations sauvages et domestiques chez l'abeille mellifère (IUCN (International Union for Conservation of Nature), 2015). Toutefois, des études menées dans plusieurs pays d'Europe ont démontré que des colonies vivant en liberté étaient toujours présentes sur le continent (Albouy & M. Lang, 2023; Browne et al., 2020; FREETHEBEES, 2021; Kohl & Rutschmann, 2018). Selon Seeley (2017), les colonies nouvellement formées par un essaim sont dites fondatrices alors que les colonies ayant déjà passé un hiver sont dites établies.

En Europe, la densité de colonies vivant à l'état sauvage serait de 0.26 colonies par km² selon Visick & Ratnieks (2023), soit quatre fois moins que celle des ruches, ce qui représente

la plus faible densité à l'échelle mondiale. En effet, l'Europe est la seule région qui montre une plus faible densité de colonies sauvages par rapport aux ruchers d'apiculteurs selon cette même étude. Une des menaces pour la survie des colonies sauvages serait notamment la disponibilité de ressources, comme le montre l'étude de Seeley (2017) à Ithaca, mais aussi l'offre de cavités de nidification (Visick & Ratnieks, 2023), en raison du système de sylviculture européen (Requier et al., 2020) et la compétition avec la densité des ruchers (Requier et al., 2019 cités par Visick & Ratnieks, 2023). Ces différents freins pourraient expliquer la densité de colonies sauvages plus faible en Europe. Cependant, celle-ci a peut-être été sous-estimée à cause de l'importance de la surface d'échantillonnage (Visick & Ratnieks, 2023).

Toutefois, en tenant compte de la potentielle offre de sites de nidification, Requier et al. (2020) estiment que plus de 80 000 colonies sauvages pourraient s'établir dans les forêts européennes, soit 2% des colonies gérées. Selon la même étude, il y aurait potentiellement une densité de 0.8 colonie par millier d'hectares de forêts et entre 170 et 180 colonies dans les forêts du sud de la Belgique, en faisant de cette région un des trente hot-spots pour les colonies sauvages (Requier et al., 2020).

Le maintien des colonies sauvages pourrait favoriser les populations naturellement résistantes aux pathogènes. Ces colonies peuvent alors être considérées comme des réservoirs de résistance face aux pressions de l'environnement biotique (Requier et al., 2019). Leur nombre influence la sélection naturelle (Visick & Ratnieks, 2023), et leur présence pourrait également avoir un impact positif sur les colonies vivant dans les ruches d'apiculteurs par le transfert de caractères d'adaptation lors des vols nuptiaux dans les congrégations à mâles (Requier et al., 2019).

En Irlande, Browne et al. (2020) ont inventorié 182 colonies sauvages entre 2015 et 2018. Parmi les 60 colonies suivies entre l'automne 2015 et le printemps 2019, 56 (~93%) ont passé la première année dont 21 qui ont vécu deux à deux ans et demi (~35%) et 22 qui ont survécu trois ans ou plus. C'est à la fin de l'hiver/début du printemps que les colonies ont péri en majorité. En Allemagne, Kohl et al. (2022) ont observé un taux de survie annuel d'environ 11% dans les forêts. Très récemment, au nord des Alpes suisses, 275 colonies ont été cartographiées entre 2020 et 2023 grâce à la participation citoyenne en grande partie (Piaget, 2023).

2.2. La nidification

Avant l'intervention humaine, l'habitat naturel de l'abeille mellifère était la forêt (Arndt & Tautz, 2021; Kohl & Rutschmann, 2018), où elle a la capacité de construire son nid dans diverses cavités naturelles existantes, telles que des trous dans les troncs d'arbres (typiquement, des cavités créées par le Pic noir, *Dryocopus martius*), des crevasses dans des rochers, voire à l'air libre dans les pays chauds. Aujourd'hui, il est possible de trouver des colonies d'abeilles mellifères en dehors des forêts, dans les façades de bâtiments ou autres constructions (Arndt & Tautz, 2021; Guerriat, 2017; Kohl & Rutschmann, 2018; Visick & Ratnieks, 2023), notamment dans les anciennes constructions en pierre, telles que les châteaux et églises. Les faux-plafonds et doubles cloisons des maisons, les poteaux électriques, voire des statues en fonte constituent également des sites potentiels de nidification. Différents auteurs soulignent la capacité de l'abeille mellifère à s'adapter à diverses possibilités de nidification (Albouy, 2019).

Lorsque les abeilles essaient, plusieurs facteurs sont pris en considération par la colonie pour évaluer la qualité de la nouvelle habitation : la dimension de la cavité, la hauteur et la taille de l'ouverture, la distance par rapport au sol, l'exposition au soleil, ainsi que la présence de rayons (Seeley, 2017).

Selon Seeley (2017), les abeilles ne montrent pas de préférence concernant l'essence d'arbres. Selon son étude, les cavités mesuraient en moyenne 20 centimètres de diamètre pour 1,50 mètre de hauteur, représentant 45 litres et pouvant aller jusqu'à 12 litres, ce qui est bien inférieur aux ruches utilisées par les apiculteurs. L'entrée principale de la colonie se présente généralement sous la forme d'un seul nœud (ou fente), avec une ouverture de 10 à 30 cm² dirigée vers le sud, vers le bas de la cavité et d'une hauteur moyenne de 6,50 mètres.

Les principales raisons de ces préférences sont la thermorégulation (taille et exposition de la cavité) et la défense de la colonie (taille, hauteur d'entrée). De plus, l'essaim semble préférer les cavités contenant déjà des rayons, afin de faire une économie d'énergie en évitant la construction de nouveaux rayons. Selon Arndt & Tautz (2021), la cavité doit en plus être sèche avec une ouverture d'envol convenable. En Irlande et en Suisse, la majorité des colonies inventoriées se trouvaient dans des cavités de bâtiments mais d'autres se sont établies dans des arbres ou encore des cavités artificielles type ruche-tronc (Browne et al., 2020; Piaget, 2023). Une ruche-tronc est un tronc évidé recouvert traditionnellement d'une fine plaque de schiste (Giorgi, 2018).

Selon une étude menée par Loftus et al. (2016), les sites de nidification de petite taille utilisés par les abeilles mellifères à l'état sauvage, ainsi que la tendance à l'essaimage, permettraient une meilleure résistance aux attaques de *Varroa destructor*. Cela est dû à la plus petite portion de couvain disponible, à la rupture de ponte de la reine et au fait que l'essaim emporte une partie de la population de varroas (Loftus et al., 2016).

3. Objectifs

Après analyse de la littérature et au vu du manque d'étude concernant les abeilles mellifères vivant à l'état sauvage, notamment en Belgique, il s'est avéré important de se pencher sur l'état de leurs populations. L'objectif principal de ce travail de fin d'études est donc d'évaluer l'état des populations d'*Apis mellifera mellifera* vivant à l'état sauvage au sein du territoire du Parc national de l'Entre-Sambre-et-Meuse.

Pour cela, le premier objectif est de **(O1)** localiser les colonies d'abeilles mellifères présentes sur le territoire, de les cartographier et **(O2)** de les échantillonner afin d'identifier à quelle sous-espèce la colonie appartient. Ensuite, l'objectif suivant est **(O3)** d'évaluer les ressources mellifères présentes autour de ces colonies. A partir de ces informations, l'objectif final est **(O4)** de proposer l'emplacement de ruches-troncs dans des zones offrant des ressources florales suffisantes afin d'offrir des possibilités de nidification aux colonies d'abeilles mellifères, et plus particulièrement à l'abeille noire, dans le cadre de la fiche action « Abeille noire et abeilles solitaires » du PN ESEM.

Les hypothèses de travail sont que **(1)** il existe toujours des colonies d'abeilles mellifères vivant à l'état sauvage sur le territoire du PN, **(2)** qu'elles sont fortement hybridées, **(3)** que les ressources mellifères sont suffisantes pour les besoins d'une colonie sur plus d'un an.

MATÉRIEL ET MÉTHODE

1. Région d'étude

Ce mémoire prend place au sein du territoire du Parc national de l'Entre-Sambre-et-Meuse (Figure 4) qui se situe en Wallonie et traverse trois régions naturelles que sont la Fagne, la Calestienne et l'Ardenne (comprenant Ardenne et Thiérache). Il s'étend sur les communes de Viroinval, Couvin, Chimay, Froidchapelle et Momignies. Le PN couvre une surface de plus de 22 000 hectares et abrite divers habitats, notamment des prairies de fauche, des pelouses calcaires et des forêts (Bureau de projet du Parc national, 2022, 2024).

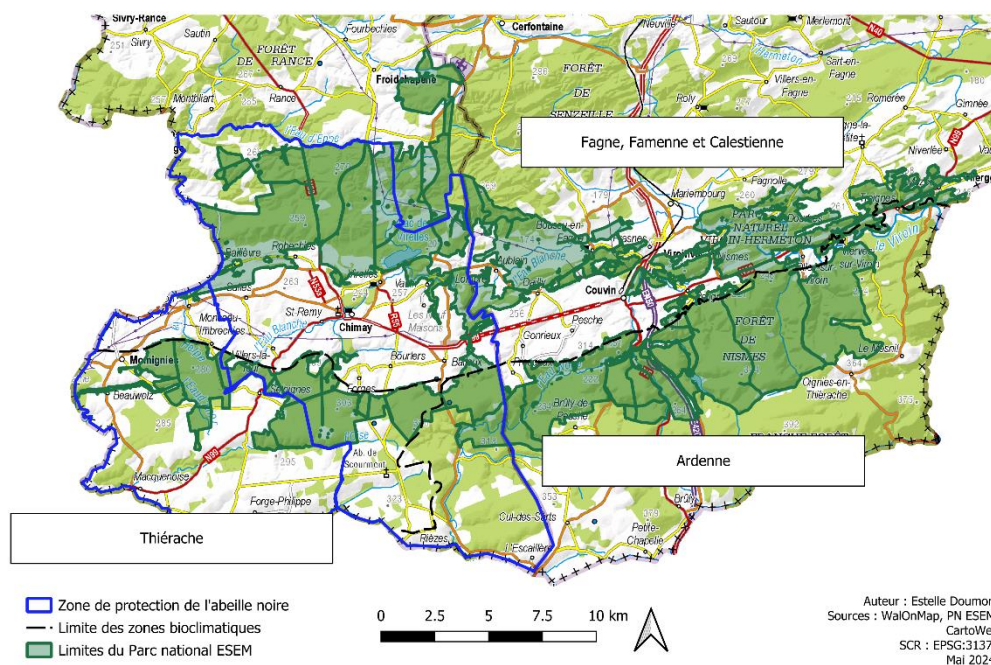


Figure 4 - Cartographie du territoire d'étude illustrant les limites du Parc national ESEM, la zone de protection de l'abeille noire (*A.m.mellifera*) et les zones bioclimatiques

Les communes de Momignies et Chimay (Figure 4) ont établi un règlement communal stipulant que seule l'abeille noire (*A.m.mellifera*) peut être utilisée en apiculture sur leur territoire (Mellifica ASBL, 2024; Règlement sur la conservation de l'abeille noire indigène, 2004, Article 3). Il n'y a pas de règlement pour les autres communes.

2. Recherche des colonies

La première partie de ce travail consiste à localiser les colonies d'abeilles mellifères présentes dans le sud de l'Entre-Sambre-et-Meuse et plus spécifiquement sur le territoire du Parc national ESEM. Pour ce faire, la méthode du bee-lining, détaillée ci-dessous, a été utilisée. Nous avons également fait appel à la connaissance des apiculteurs locaux et citoyens afin de localiser les colonies.

2.1. Bee-lining

2.1.1. Identification de sites

Avant d'initier un bee-lining, des zones ouvertes d'un rayon minimal de 30 mètres ont été localisées sur le territoire du Parc national²⁰ afin d'installer une station de bee-lining. Ces zones ont été pointées à l'aide du Système d'Information Géographique (SIG) QGIS 3.32.0 Lima (Projet Open Source Geospatial Foundation, 2024) et de la couche de l'Orthophoto de l'été 2022 provenant de [WalOnMap](#) (Service Public de Wallonie (SPW), 2023b). Ces zones doivent être dégagées afin que l'observateur puisse suivre du regard une abeille qui s'envole de la station de bee-lining sans la perdre des yeux (Seeley, 2022). Une vérification sur le terrain a ensuite été effectuée afin d'évaluer la présence de végétation mellifère et de butineuses d'abeille mellifère. Les sites retenus sont ceux qui présentent à la fois des fleurs, des abeilles et qui sont suffisamment dégagés de végétation.

2.1.2. Mise en place du bee-lining

Le bee-lining, littéralement « ligne d'abeilles », ou couloir de vol, est une méthode qui est utilisée afin de localiser des nids d'abeilles mellifères. Elle a été initialement décrite par Columelle, agronome romain, il y a 2000 ans et rationalisée par Visscher et Seeley pour leur étude (Albouy, 2019; Visscher & Seeley, 1989). La démarche employée pour ce travail est tirée du livre « Following the Wild Bees » (Seeley, 2022).

²⁰ Ce travail a été effectué par Hugues Dethier, stagiaire du PN ESEM et Mellifica de juin à août 2023

Le bee-lining nécessite l'utilisation d'une bee-box (Figure 5), une boîte en bois dotée d'un clapet ouvert d'un côté (O) et fermée de l'autre par du plexiglas (F). Ce dernier est également muni d'un clapet en bois, assurant l'obscurité à l'intérieur. Une cloison amovible se trouve au centre de la bee-box.

Ainsi, lorsqu'une abeille est capturée (côté O), il suffit de soulever la cloison et d'ouvrir le clapet (F) afin de laisser la lumière pénétrer, ce qui attire l'abeille dans le deuxième compartiment. De cette manière, une fois que l'abeille se trouve dans la chambre noire, d'autres individus peuvent être capturés tout en maintenant les premiers prisonniers.

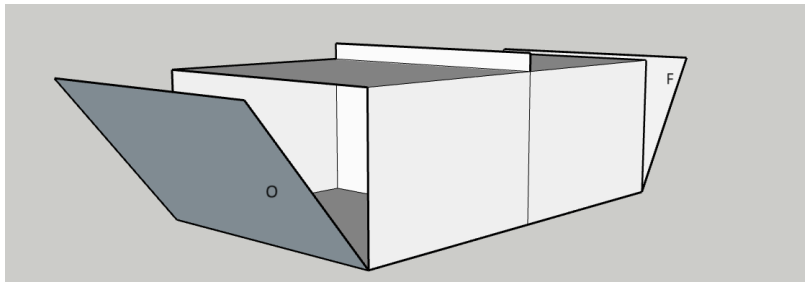


Figure 5 - Schéma d'une bee-box. O : côté ouvert, F : côté fermé par un plexiglas. Réalisé avec SketchUp (2024)

Le bee-lining repose sur la fidélité des abeilles à un site de butinage, surtout lorsque les ressources deviennent rares, et sur leur capacité à recruter d'autres ouvrières pour exploiter une nouvelle source de nourriture (Rutschmann, 2022; Seeley, 2022). Le bee-lining commence en capturant environ six abeilles butinant sur des fleurs. Après dix minutes, il faut arrêter la recherche de butineuses et mettre en place le reste du bee-lining (Seeley, 2022). La bee-box est placée dans un endroit où la vue est dégagée, sur une table de couleur ou recouverte d'un tissu coloré pour mieux attirer les abeilles. Un morceau d'un ancien rayon de cire, de préférence foncé, signe de son ancienneté, est rempli de sirop de sucre additionné de quelques gouttes d'extrait d'anis et disposé dans la bee-box. L'anis va permettre aux abeilles de mieux repérer la station de bee-lining. La cloison est alors relevée afin que les abeilles puissent se nourrir du sirop. Pour plonger complètement la bee-box dans l'obscurité, un drap est placé sur celle-ci. Après cinq minutes, les abeilles peuvent être relâchées. Il faut alors prendre note de l'heure et observer leur comportement, en particulier pour détecter tout vol de repérage, tout en prêtant attention à la direction qu'elles prennent. Le vol de repérage est caractérisé par un vol en cercle s'élargissant graduellement en prenant de la hauteur. Une fois toutes les abeilles envolées, le rayon de cire rempli de sirop est placé à l'extérieur de la boîte, sur le clapet ouvert (O) (Annexe 1 & 2).

La méthode du bee-lining est efficace en-dehors des périodes de miellée²¹. Si les abeilles capturées ont trouvé l'offre de nourriture intéressante, elles vont revenir à la bee-box pour se délecter du sirop et vont éventuellement recruter d'autres ouvrières. Quand plusieurs abeilles font des allers-retours régulièrement, la bee-line peut être établie car elles empruntent un trajet plus direct (Kohl & Rutschmann (2018), thèse de Rutschmann (2022); Seeley, 2022). À ce moment-là, l'expérimentateur peut commencer à marquer quelques abeilles sur le thorax et/ou l'abdomen à l'aide d'un marqueur à l'eau (type Posca) afin de les identifier individuellement. Les abeilles ainsi marquées sont reprises dans un tableau reprenant leur phénotype (abdomen noir ou jaune), l'heure du départ et du retour au rayon de cire ainsi que la direction empruntée (Annexe 3).

Le bee-lining est abandonné si :

- La capture de minimum deux abeilles en moins de dix minutes n'est pas possible ;
- Il n'y a pas de recrutement d'ouvrières après plus d'une demi-heure ;
- Il y a trop d'abeilles sur la station de bee-lining, rendant le suivi individuel impossible (Figure 6).

Lorsque suffisamment de données d'allers-retours et d'azimut ont été récoltées, quelques abeilles, en majorité celles marquées d'un point de couleur, sont enfermées dans la bee-box afin d'établir une nouvelle bee-line se situant entre 100 et 300 mètres du premier point de capture, dans la direction empruntée par les abeilles. Cela permettra de faire une triangulation des données pour délimiter une zone potentielle où se trouverait la colonie.

Le temps de l'aller-retour permet d'estimer la distance séparant la station de bee-lining et la localisation de la colonie grâce à l'équation tirée des recherches de Seeley (2022), également reprise par Rutschmann (2022) :



Figure 6 - Exemple de présence d'individus trop importante pour continuer un bee-lining. Auteur : Doumont Estelle

²¹ Miellée : pour une espèce mellifère donnée, intervalle de temps pendant lequel la sécrétion de nectar sera suffisamment abondante pour donner lieu à une production de miel excédentaire (Reeb & Silberfeld, 2021)

$$X = 243 * t - 627,75$$

Où X représente la distance en mètres et t le temps en minutes.

Rutschmann (2022) et Seeley (2022) utilisent le temps minimum obtenu lors du bee-lining pour tracer l'azimut, correspondant à la distance maximale. Pour obtenir une distance d'au moins un mètre, le temps doit être de minimum 2 minutes et 35 secondes. Cependant, lors de certaines sessions de bee-lining, des temps inférieurs ont été obtenus, sans trouver de colonies aux alentours directs. Il a donc été décidé de prendre le temps le plus court mais supérieur à 2min35.

Les données du bee-lining sont alors intégrées dans une cartographie via le logiciel QGIS 3.32.0 Lima en utilisant l'outil « point de projet (cartésien) ». Une flèche, dont la longueur est équivalente à la distance calculée pour le temps minimal, est tracée dans la direction de l'azimut repris.

2.2. Communication

Étant donné l'ampleur de la zone d'étude et le temps nécessaire pour effectuer un bee-lining, le Parc national et Mellifica ont publié des communiqués de presse sur le projet pour lancer un appel à la recherche de colonies d'abeilles mellifères. De plus, les apiculteurs affiliés à Mellifica ont été contactés afin de savoir s'ils avaient connaissance de colonies d'abeilles vivant à l'état sauvage. Plusieurs études soulignent d'ailleurs l'importance de la participation citoyenne aux activités scientifiques, notamment dans le cadre de la recherche de colonies d'abeilles mellifères proches des villes (Bila Dubaić et al., 2021; Piaget, 2023).

2.3. Inventaire

Une fois la colonie trouvée, les caractéristiques du nid sont reprises : l'environnement où il se trouve (zone boisée, agricole, zone bâtie rurale, péri-urbaine, urbaine) et le type de site de nidification : cavité dans les arbres, le sol, les structures humaines (bâtiments, statue creuse, nichoirs, etc.), le matériau et la nidification à l'air libre (Albouy, 2019). Concernant les cavités dans les arbres, il convient de déterminer l'essence (au minimum le genre) si possible ainsi que la localisation de la cavité (dans le tronc principal, secondaire ou dans une branche), le statut sanitaire de l'arbre (vivant – dépérissant – mort) et sa circonférence. Le nombre d'entrées, la hauteur de l'entrée par rapport au sol et l'orientation sont également relevés.

Selon les recommandations d'Albouy (2019), les colonies ont été visitées à la fin de l'hiver/début du printemps, avant le début de l'essaimage, afin de vérifier si la colonie a passé l'hiver et si le site de nidification existe toujours. En été, un relevé est également effectué pour vérifier la survie printanière de la colonie ou l'établissement d'une nouvelle si la cavité a été rendue libre. Il n'y a pas eu de visite avant l'hivernage pour vérifier la survie estivale. Les visites doivent être faites lors d'une journée chaude, supérieure à 16°C, sans pluie ni vent fort. Les résultats sont présentés graphiquement grâce aux packages R *ggplot2* (Wickham, 2016) du logiciel RStudio (Posit team, 2024) et *patchwork* (Pedersen, 2024).

3. Évaluation de la présence d'*A.m.mellifera*

Une approche complémentaire à l'inventaire des colonies a été mise en place afin d'évaluer la présence d'*A.m.mellifera* dans une zone ciblée du Parc national. Il s'agit d'une zone de 27 km² (Figure 8, page 28), principalement forestière et située autour du barrage du Ry de Rome, qui a été sélectionnée en raison de sa position stratégique entre une colonie répertoriée et une station de bee-lining prometteuse.

Cette zone a été quadrillée en carrés de 1,5 km de côté, reflétant le rayon de butinage moyen des ouvrières (Janssens et al., 2006). Dans 11 des 12²² carrés, dix butineuses ont été prélevées pour une analyse morphométrique visant à identifier les sous-espèces présentes, et en particulier à évaluer la présence d'*A.m.mellifera*. Cette méthode permettra de cibler plus précisément les emplacements potentiels pour l'installation de ruches-troncs en fonction de la densité d'abeilles noires détectée. S'il est possible de capturer environ 6 butineuses en moins de 10 minutes dans le carré, un bee-lining est mis en place.

4. Échantillonnage et identification

4.1. Analyses génétiques

Afin d'évaluer la composition génétique de la reine de la colonie, une vingtaine d'ouvrières ont été prélevées dans chacune des colonies. Après mise à mort par exposition au froid, elles ont été placées dans une solution tampon et envoyées au laboratoire de génétique Labogena via le centre de recherche Apinov. Pour extraire les données génétiques, Labogena séquence le génome entier de l'ensemble de l'échantillon d'ouvrières en utilisant le génotypage

²² Aucune butineuse n'a pu être échantillonnée dans le carré 12 dans les limites du Parc national.

sur puce à ADN. Ensuite, ils utilisent des modèles permettant de reconstruire le génotype de la reine à partir du séquençage de cet échantillon d'ouvrières (Eynard et al., 2022). Labogena prend en compte les séquences de trois sous-espèces : *A.m.mellifera*, *A.m.ligustica*, *A.m.caucasia*.

4.2. Analyses morphométriques

4.2.1. Principe

Outre les analyses génétiques, des analyses morphométriques ont été conduites afin d'identifier la sous-espèce à laquelle appartient un individu. Selon Meixner et al. (2013), il est recommandé de collecter 15 abeilles et d'en analyser au moins 10 pour des études morphométriques. Cependant, le nombre peut être réduit à 5 pour l'analyse des ailes d'ouvrières d'une même colonie, car c'est un trait morphométrique stable.

Afin de pouvoir les analyser, les ailes sont montées sur une lame de microscope. Le montage des ailes suit les travaux de Meixner et al. (2013). Chaque aile est rincée dans une solution d'éthanol décroissante (70 % puis 20%) ainsi que dans de l'eau distillée avant d'être placée à plat sur une lame de microscope sèche en prenant soin de ne pas la tordre. Plusieurs ailes peuvent être placées sur une seule lame, dans la même direction. Elles sont ensuite recouvertes par une lamelle fixée avec du papier collant.

Ensuite, les ailes ont été photographiées une à une à l'aide du binoculaire (García et al., 2022; Rodrigues et al., 2022) Euromex Nexius Zoom, combiné à la caméra Euromex HD-Ultra, à une résolution de 96 ppp²³.

²³ Pixels par pouce

Afin d'identifier la sous-espèce, les photographies d'ailes ont été passées dans DeepWings©, un logiciel open-source basé sur du machine learning (Rodrigues et al., 2022). Le logiciel utilise la méthode de la géométrie morphométrique de l'aile pour l'identification. Elle se base sur les coordonnées des 19 points de repère formés par les jonctions des veines de l'aile pour déterminer les variations dans la forme de l'aile, comme illustré sur la Figure 7 (García et al., 2022; Rodrigues et al., 2022).

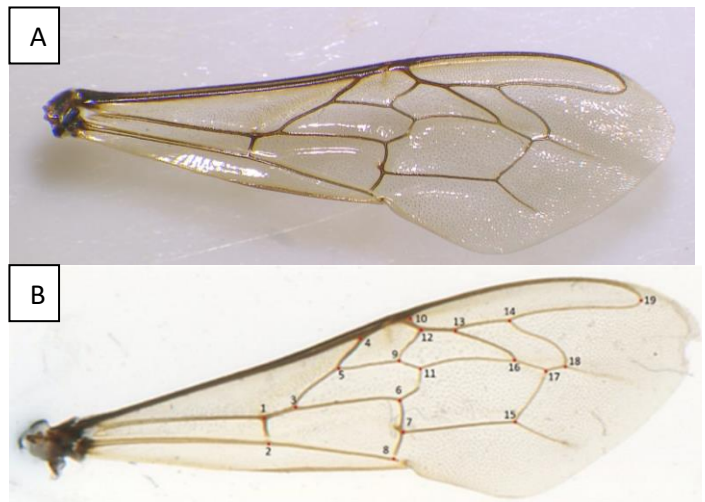


Figure 7 – A : photographie d'une aile d'une abeille échantillonnée (auteur : Doumont Estelle). B : exemple d'une image annotée automatiquement par DeepWings© (Rodrigues et al., 2022)

Le logiciel permet d'automatiser l'identification en pointant automatiquement ces 19 points de repère (Figure 7). Il a une précision de 95.8% pour 5 sous-espèces importantes qui ont été choisies pour leur valeur commerciale ou leur statut de conservation : *A.m.mellifera*, *A.m.iberiensis*, *A.m.ligustica*, *A.m.caucasia*, *A.m.carnica*. Le modèle a été entraîné avec la banque de données utilisée par Ruttner (Ruttner, 1988) pour identifier les sous-espèces d'*Apis mellifera* et met 14 secondes pour analyser 10 images (Rodrigues et al., 2022).

Le logiciel renvoie les trois probabilités de prédiction les plus élevées pour chaque aile individuellement, ainsi que pour une moyenne estimée des ailes à partir d'un lot d'ailes intégrées en même temps dans le logiciel (García et al., 2022; Rodrigues et al., 2022).

4.2.2. Identification des ailes provenant de colonies

L'aile antérieure droite de dix individus par colonie a été prélevée et placée sur une lame. Les photographies d'ailes provenant d'une même colonie ont ensuite été insérées simultanément dans le logiciel qui renvoie une aile moyenne représentant la colonie (García et al., 2022; Rodrigues et al., 2022).

4.2.3. Evaluation de la présence d'*A.m.mellifera* parmi les butineuses

Chaque aile d'abeille capturée a été prélevée et analysée individuellement, soit au moins 10 ailes par carré. La probabilité d'identification d'une aile individuelle est plus faible que pour une moyenne d'ailes provenant d'une même colonie. Dès lors, des analyses préliminaires sur les probabilités d'identification pour la meilleure prédiction (top 1) ont été effectuées afin

d'établir un seuil. Les résultats montrent que près de 75 % (73,5 %) de l'ensemble des observations présentent une probabilité d'au moins 80 %. Cependant, en appliquant ce seuil, moins de 70 % des individus sont pris en compte dans trois des carrés, avec un cas où seulement la moitié des individus (5 sur 11) reste représentée. Par conséquent, il est plus judicieux de privilégier l'analyse des lignées évolutives, car la probabilité d'identification de la lignée par le logiciel est de 100 %.

5. Analyses des ressources mellifères

En raison du manque de connaissances sur la disponibilité de ressources mellifères dans le paysage européen, notamment en milieu forestier (Rutschmann, 2022), il est pertinent d'évaluer ces ressources dans les zones où les colonies d'*A.mellifera* sont présentes. La sous-espèce d'intérêt dans ce travail étant *Apis mellifera mellifera*, seules les colonies présentant un haut pourcentage d'*A.m.mellifera* d'un point de vue génétique ont été retenues pour la réalisation du relevé floristique dans les alentours.

Afin d'évaluer les ressources mellifères présentes autour des colonies, un cercle d'un rayon de 2 km est défini autour de la colonie, ce qui représente le périmètre dans lequel 80% du butinage a lieu (Couvillon et al., 2015; Danner et al., 2014 cités par Rutschmann et al., 2023). En raison de l'importance de la surface à inventorier et du temps imparti, les ressources mellifères sont évaluées ici par zone homogène. Pour cela, la couche « écotopes » du projet LifeWatch²⁴ Belgium a été utilisée afin de les identifier. Un écotope est défini comme étant « *le plus petit élément de paysage écologiquement distinct dans un système de cartographie et de classification des paysages* » (Radoux et al., 2019). Chaque écotope est décrit en fonction de son pourcentage d'utilisation du sol ainsi que d'une série de variables, comprenant des données topographiques, contextuelles, climatiques et relatives à la dynamique des écosystèmes, établies à partir d'images aériennes et satellitaires (*The Belgian LifeWatch Infrastructure | Lifewatch regional portal*, s. d.). Au total, 19 écotopes ont été identifiés par LifeWatch (Annexe 4).

Pour Mazée, l'entièreté de la surface n'a pas pu être prise en compte car les données des écotopes provenant du projet LifeWatch sont disponibles uniquement pour la Belgique et non pour la France, or le rayon de 2 kilomètres allait au-delà de la frontière. Dès lors, c'est une

²⁴ LifeWatch ERIC : consortium européen d'infrastructure de recherche établi par la Commission européenne en 2017. LifeWatch Belgium est financé par la fédération Wallonie-Bruxelles (*The Belgian LifeWatch Infrastructure | Lifewatch regional portal*, s. d.)

surface de 10,16 km² au lieu de 12,36 km² qui est prise en compte ici. Pour Oignies, l'ensemble de la surface est étudié.

Dans la liste des écotopes, les numéros 130 (prairie monospécifique productive permanente), 210 (eau), 200 (sol nu), 190 (densément artificialisé) et 195 (artificialisé à plus de 25%) ont été écartés (Annexe 4) car jugés non pertinents pour l'analyse de ressources mellifères.

Ensuite, un point par écotope a été placé de façon aléatoire afin d'y effectuer un inventaire floristique à l'aide de la fonction « points aléatoires dans des polygones » de QGIS. Une fois sur le terrain, un rayon de 12 mètres est délimité autour du point GPS. Le choix s'est porté sur un rayon de 12 mètres dans le but de tenir compte à la fois de la strate herbacée et arborescente, comme cela est pratiqué pour l'Inventaire Forestier Wallon Permanent (Alderweireld et al., s. d.). Afin que les points ne soient pas placés sur une route, un tampon de 24 mètres autour des routes a été appliqué par SIG au préalable.

Les inventaires ont eu lieu entre le 15 avril et le 14 juillet 2024 à intervalle mensuel. Pour chaque zone d'étude, 10 écotopes ont été identifiés en plus de ceux volontairement mis à l'écart. Toutefois, les points de relevés tombant dans des parcelles agricoles ainsi que ceux inaccessibles (propriétés privées, terrains impraticables, ...) ont été écartés. De ce fait, 7 sites ont été suivis pour Oignies et 4 sites pour Mazée.

Chaque espèce végétale, dans le rayon de 12 mètres, présentant un intérêt mellifère ou apportant une information sur le milieu, est recensée et un coefficient de recouvrement de Braun-Blanquet lui est attribué. Par la suite, les espèces dont le recouvrement est inférieur à 1% sont exclues de l'analyse. Pour prendre en compte la période de floraison, les informations phénologiques de chaque espèce sont issues de la Flore bleue de Belgique (Lambinon & Verloove, 2015). Seules les espèces dont la floraison a lieu entre avril et juillet ainsi que les essences susceptibles de constituer une ressource de miellat sont conservées.

Pour l'analyse des données récoltées, les coefficients de Braun-Blanquet ont été modifiés comme illustrés dans le Tableau 1. Afin d'obtenir une indication chiffrée du potentiel mellifère de chaque écotope, un indice mellifère a été déterminé en multipliant les indices mellifères « pollen » et « nectar » de Pritsch (2020) par le coefficient de recouvrement modifié. Les indices repris par Pritsch (2020) vont de 1 (offre en nectar/pollen faible) à 4 (très bonne offre). Concernant le miellat, les espèces susceptibles d'en contenir se voient attribuer un indice « 1 », contre « 0 » pour les autres espèces. Cet indice est alors multiplié par le coefficient de

recouvrement modifié. Enfin, les indices nectar, pollen et miellat obtenus sont sommés pour chaque site correspondant à un écotope.

Afin de tenir compte des cultures agricoles dans chaque zone, une brève description du paysage agricole sera fournie grâce à la couche du parcellaire agricole anonyme 2022 (Service Public de Wallonie (SPW), 2023a).

Les représentations graphiques ont été réalisées à l'aide des packages R *ggplot2* (Wickham, 2016), *dplyr* (Wickham et al., 2023), *gridExtra* (Auguie, 2017) et *cowplot* (Wilke, 2024).

Tableau 1 - Conversion du coefficient de recouvrement

Pourcentage de recouvrement	Braun-Blanquet (Gillet, 1998; Meddour, 2011)	Nouvel indice
< 1 %	+, r	Exclu
1 à 5 %	1	1
5 à 15 %	2a	2
15 à 25 %	2b	3
25 à 50 %	3	4
50 à 75 %	4	5
> 75%	5	6

RÉSULTATS

1. Recherche de colonies

L'effort de recherche des colonies s'est étendu du 17 juillet au 30 août 2023.

1.1. Bee-lining

Sur 82 zones ouvertes identifiées et vérifiées, 21 ont été jugées intéressantes pour initier un bee-lining et six zones ont été exploitées pour cette pratique. En parallèle de ces zones identifiées, des bee-lining ont été effectués dans la zone d'étude d'évaluation de la présence d'*A.m.mellifera*. Au total, 14 bee-lining ont été initiés et la présence de quatre colonies est suspectée. Les colonies potentielles seraient situées à plus de deux kilomètres des ruchers dont la localisation approximative est connue²⁵. L'environnement de cette zone est forestier, avec un mélange de forêt mixte, feuillue et de conifères (Annexe 5), ponctuée de quelques clairières.

La première colonie serait située dans le carré 4 (Figure 8). En effet, cinq bee-lining effectués (1, 2, 3, 4 et 14) dans cette zone pointent dans une direction similaire. Selon l'équation de bee-lining, une colonie serait située à environ quarante mètres de la station 3 (Figure 8). Le résultat du bee-lining n° 14 (Figure 8, carré 3) corrobore cette observation. Les traces de pas indiqués sur la Figure 8 représentent les déplacements effectués avec des abeilles provenant de la station de nourrissage précédente dans le but de réaliser une triangulation. Les flèches représentent les azimuts et sont proportionnelles à la distance estimée grâce à l'équation de bee-lining (cf. page 19).

Les bee-lining ns° 9 et 10 suggèrent également la présence d'une colonie dans le carré 6 à ± 230 mètres. Les bee-lining ns° 8 et 12 indiquent une direction mais la distance n'a pas pu être déterminée précisément. Ainsi, deux colonies sont potentiellement présentes dans les carrés 8 et 11 (Figure 8). Les autres essais de bee-lining ne fournissent pas de nouvelles informations quant à la présence de colonies d'abeilles mellifères dans les alentours.

²⁵ Les ruchers ont été localisés à 1 km près par les apiculteurs.

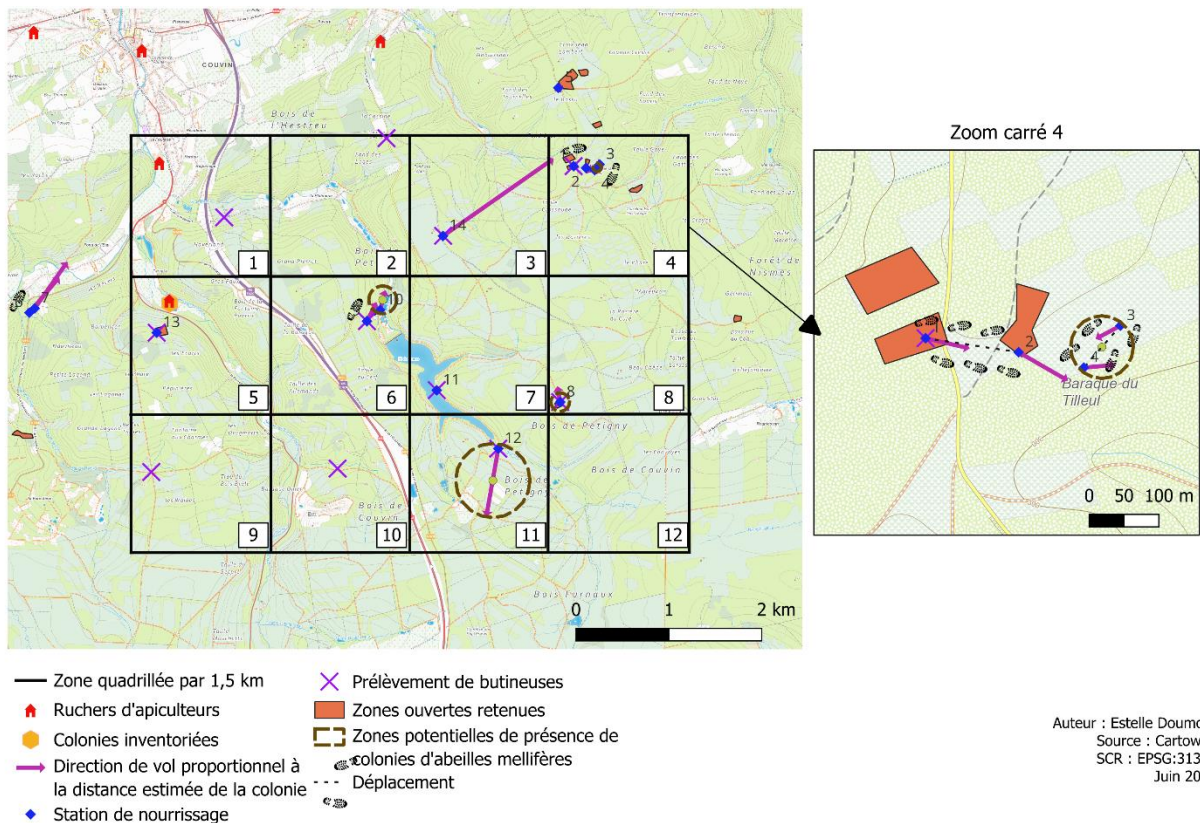


Figure 8 - Cartographie de séances de bee-lining réalisées sur le cantonnement de Viroinval en juillet et août 2023

1.2. Communication

La communication avec les apiculteurs et citoyens a permis de localiser huit colonies dans l'Entre-Sambre-et-Meuse dont sept sont sur le territoire du Parc national (Figure 9). L'ensemble des colonies se trouve en zone bâtie rurale, dans des constructions anthropiques (maisons, édifices religieux, statues et poteaux électriques), à l'exception d'une colonie qui se trouvait dans un tronc d'arbre dont la portion contenant la colonie a été coupée et placée dans un jardin.

L'entrée des colonies se situe entre 0 et 12 mètres (moyenne = $5,19 \pm 1,13$ mètres), avec trois colonies se trouvant entre 4 et 6 mètres. Sept des huit colonies n'utilisent qu'une seule entrée. Les matériaux les plus couramment utilisés sont la brique (37,5%) et la pierre (25%) (Annexe 6). Toutes les orientations sont représentées, sauf l'exposition ouest.

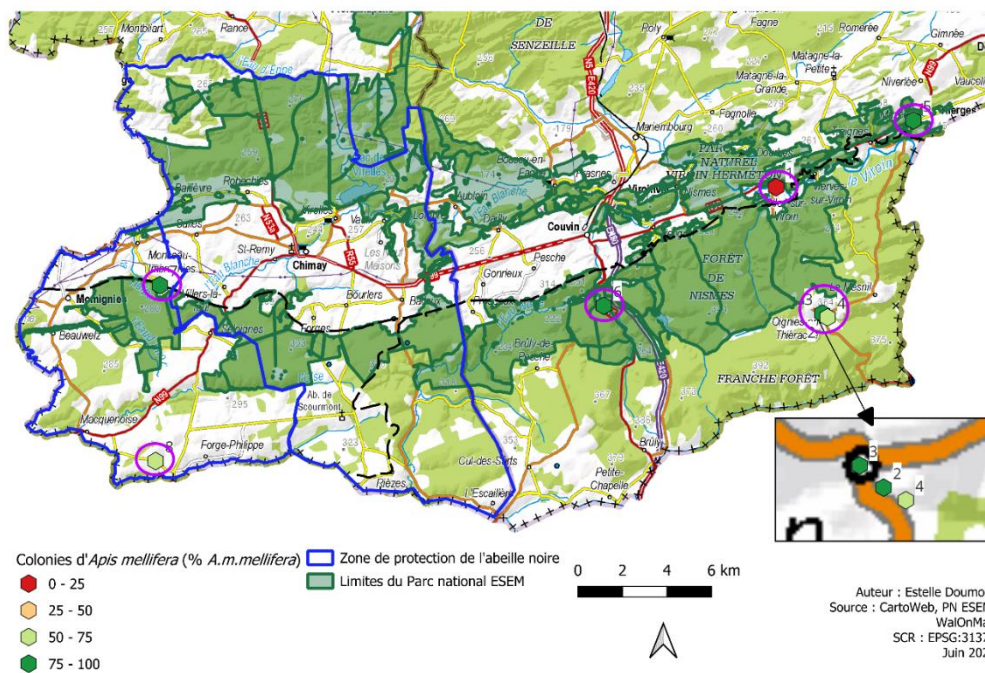


Figure 9 - Cartographie des colonies d'*A.mellifera* subsp. localisées en juillet et août 2023. Le dégradé de couleur représente le pourcentage d'*A.m.mellifera* obtenu par analyse de la composition génétique de la reine par extrapolation de l'ADN d'ouvrières

1.3. Survie hivernale et printanière

Parmi les huit colonies, la moitié a survécu à l'hiver et était encore active début avril, dont une (la n°7) qui a été mise en ruche. Lors de l'inventaire estival 2024, les trois colonies restantes (sans la n°7) étaient toujours présentes. De plus, trois des cavités laissées vides après l'hiver étaient de nouveau occupées (Annexe 7) et deux nouvelles colonies ont été localisées dans la même construction que la colonie n°3.

2. Identification de la sous-espèce

2.1. Analyses de la composition génétique des colonies

Sept des colonies répertoriées sont à plus de 50% de la sous-espèce *A.m.mellifera* (Figure 10). Quatre colonies le sont à plus de 99% (2, 3, 5 et 7) et les trois autres montrent des signes d'hybridation avec *A.m.ligustica* et *A.m.caucasica* pour un faible pourcentage. La colonie n°1 est identifiée comme étant de la sous-espèce *A.m.ligustica*.

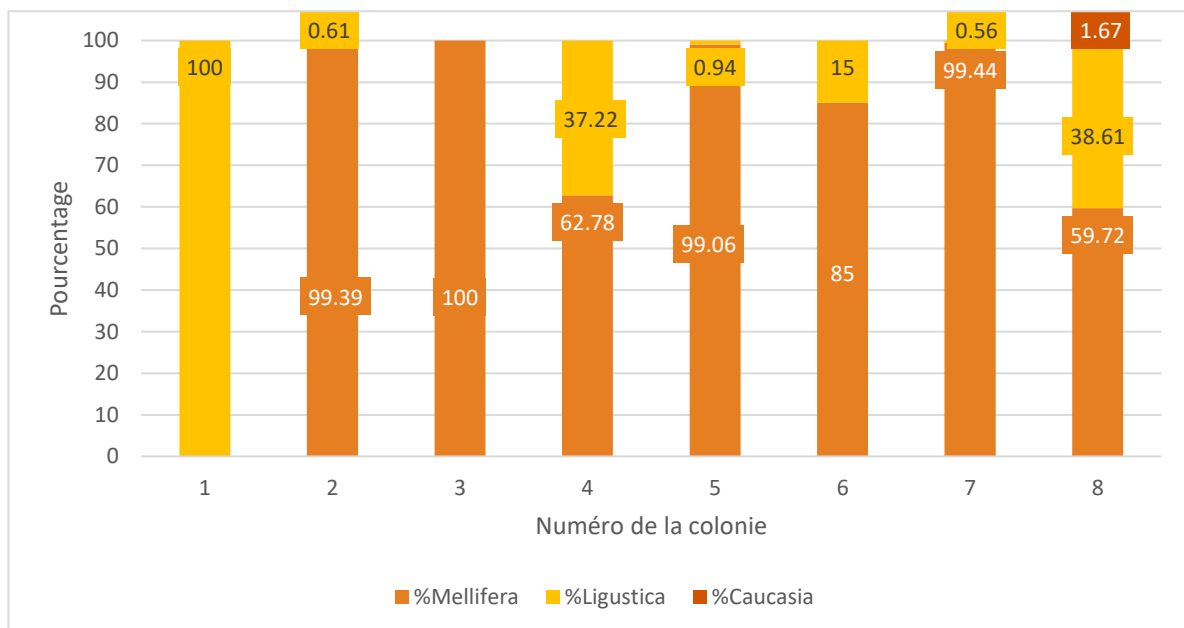


Figure 10 - Histogramme de la composition génétique de la reine de la colonie par extrapolation de l'ADN d'ouvrières. *A.m.caucasia* est synonyme de *A.m.caucasica*

2.2. Analyses morphométriques

2.2.1. Colonies

Les analyses de morphométrie des ailes indiquent également que les colonies numéros 2, 3, 5 et 7 sont de la sous-espèce *A.m.mellifera* avec une probabilité supérieure à 95% (Figure 11). La colonie n°8 est aussi identifiée comme étant *A.m.mellifera* avec une haute probabilité (99.62%).

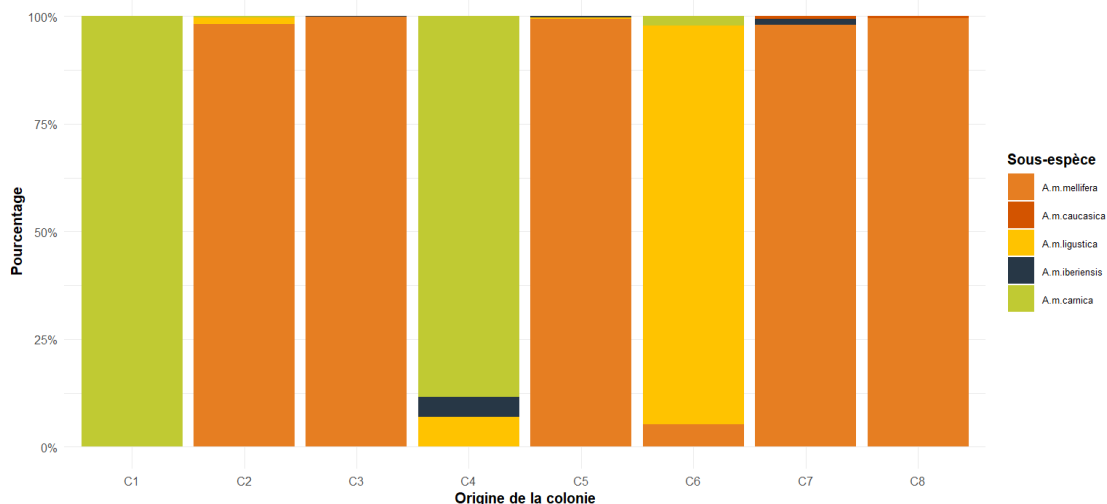


Figure 11 - Histogramme cumulé des probabilités d'appartenance à une sous-espèce pour chaque colonie par analyse morphométrique de l'aile antérieure droite. Les probabilités illustrées sont celles fournies par Deepwings pour l'aile moyenne.

2.2.2. Evaluation de la présence d'A.m.mellifera

Concernant l'identification des butineuses échantillonnées dans la zone quadrillée, les carrés montrant le plus d'abeilles mellifères de lignée M sont les numéros 1 et 10, bien que les ns^o4, 5, 7 et 8 (Figure 12) contiennent également une majorité de butineuses prélevées appartenant à la lignée M, soit 6 carrés sur 11. La présence de ruchers d'apiculteurs est à noter dans les carrés 1 et 5. Le graphique de la répartition des sous-espèces par carré se trouve en Annexe 8.

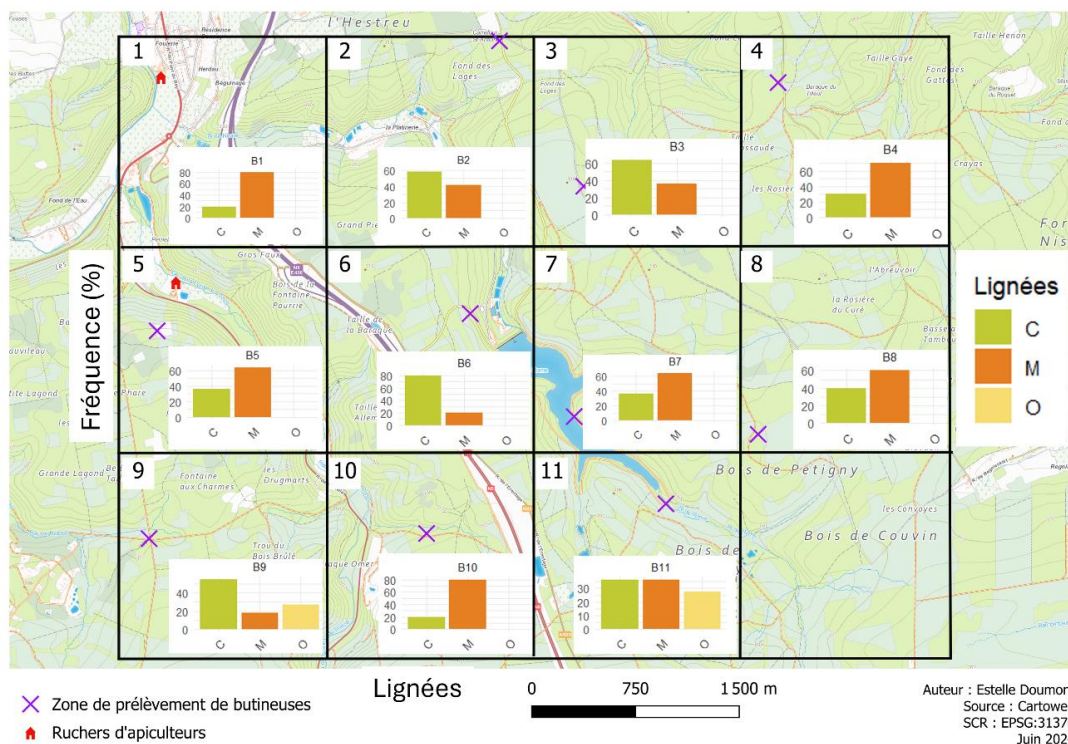


Figure 12 - Illustration de la répartition des lignées d'A.mellifera par secteur dans la zone d'étude

3. Ressources mellifères

La composition du paysage dans un rayon de deux kilomètres est illustrée pour les colonies n°5 (Mazée), 2 et 3 (Oignies-en-Thiérache) sur la Figure 13. Une cartographie plus détaillée se trouve dans l'Annexe 9.

Mazée

Le paysage dans la région de Mazée est dominé par l'écotopie « périodiquement herbacé » (~30%), correspondant aux parcelles agricoles, suivi par les forêts feuillues (23%) et les prairies productives monospécifiques permanentes (~17%), également représentées par des parcelles agricoles (Annexe 9 & 10). Les parcelles dédiées à l'agriculture représentent près de 56% du paysage étudié, divisées en 24 cultures différentes dont 9 (21%) sont potentiellement mellifères.

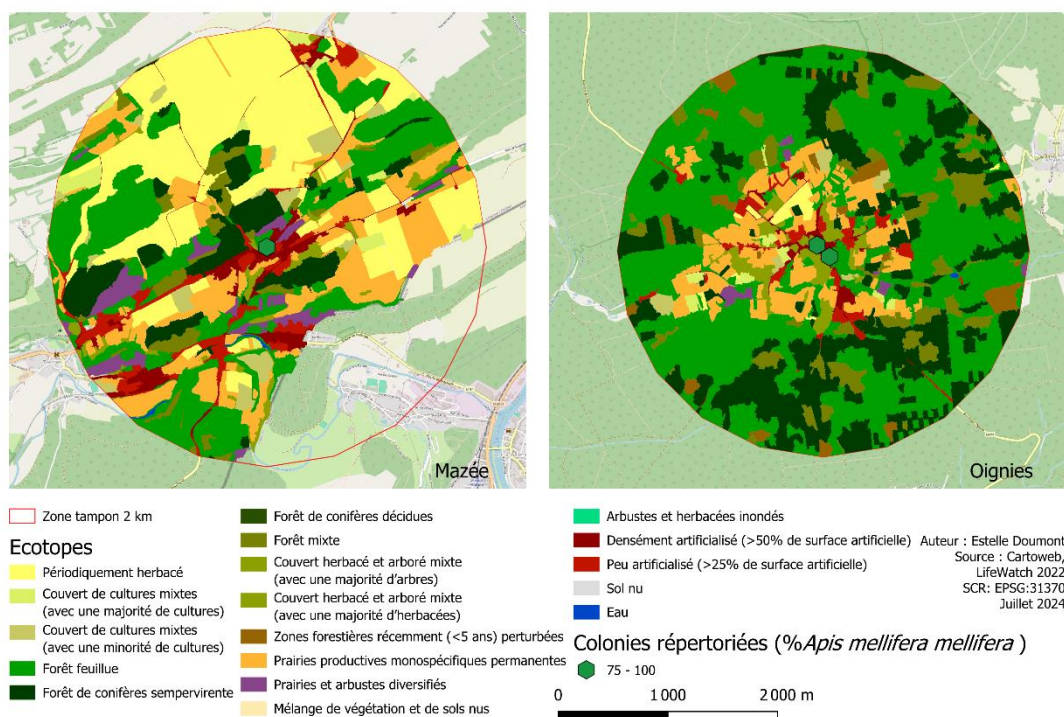


Figure 13 - Composition du paysage dans un rayon de deux kilomètres autour des colonies d'*Apis mellifera mellifera* (source : écotopes du projet LifeWatch 2022). A gauche : colonie n°5 (Mazée), à droite : colonies n° 2 et 3 (Oignies-en-Thiérache)

Parmi les écotopes analysés dans le paysage de Mazée, la forêt mixte présente des indices nectar et pollen plus élevés pour les mois de mai (15, 20), juin (18, 16) et juillet (14, 12), suivie par la forêt feuillue, qui montre un indice plus élevé pour le mois d’avril (7, 10) (Figure 14 et Annexe 11 & 12). Au début du printemps, les écotopes de « forêt feuillue » et de « prairies et arbustes diversifiés » montrent des indices mellifères plus importants pour le pollen et le nectar. Le miellat est maximal dans la forêt mixte (6).

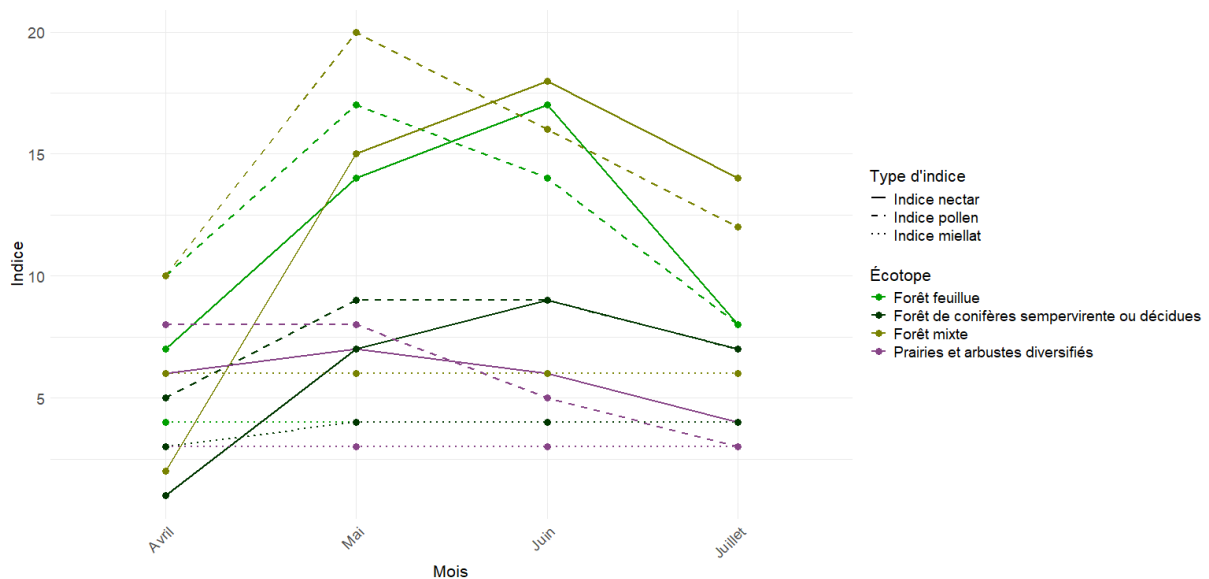


Figure 14 – Evolution des indices mellifères d’avril à juillet par écotope dans la région de Mazée

Oignies

A Oignies, le paysage est composé à près de la moitié par de la forêt feuillue (47%) et à près d’un quart par des forêts de conifères (23.5%) (Annexe 9 & 10). Les parcelles agricoles représentent environ 8% de la surface étudiée et les cultures en place en 2022 n’étaient pas mellifères.

Parmi les écotopes présents dans le paysage de Oignies, l’écotope « couvert de cultures mixtes (avec une majorité de cultures) » se démarque des autres écotopes dans le paysage et correspond en réalité à une prairie à chevaux. Les indices pour le nectar et le pollen sont respectivement (Annexe 13 & 14) :

- Avril : 16, 17
- Mai : 34, 37
- Juin : 42, 45
- Juillet : 40, 42

Ensuite, les écotopes « Prairies et arbustes diversifiés », « Forêt feuillue » et « Zones forestières récemment perturbées » présentent des indices supérieurs à 10 (sauf pour la forêt mixte en juillet). Le miellat est lui supérieur dans l'écotope « Forêt mixte » (6). L'ensemble de ces indices est représenté graphiquement sur la Figure 15.

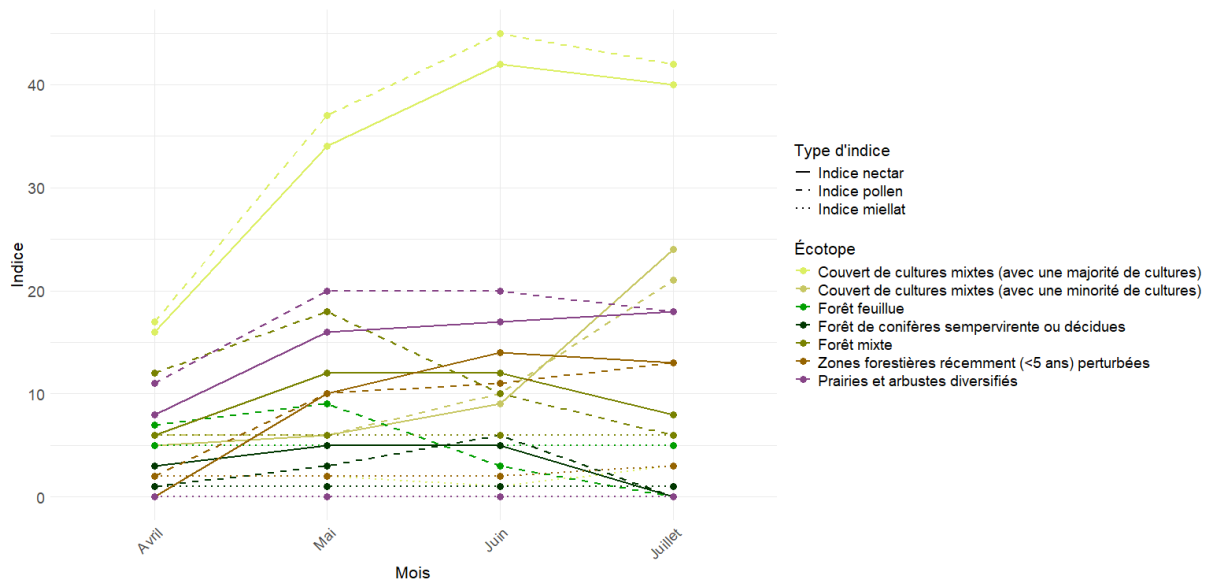


Figure 15 – Evolution des indices mellifères d'avril à juillet par écotope dans la région de Oignies-en-Thiérache

Pour les deux zones, les indices sont tous plus faibles au mois d'avril et augmentent aux mois de mai et juin pour le nectar.

DISCUSSION

1. Recherche de colonies

1.1. Cartographie

La recherche de colonies d'abeilles mellifères (**O1**) par la méthode du bee-lining n'a pas encore permis de localiser de colonies dans les forêts du Parc national de l'Entre-Sambre-et-Meuse. Cependant, les résultats obtenus indiquent que quatre colonies sont potentiellement présentes dans la zone d'étude (Figure 8). Bien que des ouvrières provenant des ruchers d'apiculteurs puissent également fréquenter les stations de nourrissage, l'éloignement des ruchers d'apiculteurs connus ainsi que l'estimation de la distance obtenue par le bee-lining suggèrent que les abeilles observées proviennent vraisemblablement de colonies vivant à l'état sauvage, soit déjà établies, soit fondatrices. En effet, les ruchers d'apiculteurs les plus proches se situent à plus de deux kilomètres de la zone définie, alors que le rayon de butinage moyen des abeilles est estimé à 1500 mètres (Couvillon et al., 2015; Steffan-Dewenter & Kuhn, 2003). De plus, les distances calculées sont bien inférieures à ce rayon.

Certains bee-lining n'ont pas pu être menés à terme en raison d'un nombre trop important d'ouvrières présentes sur le rayon de cire en même temps. Toutefois, ce résultat offre la possibilité qu'une colonie se trouve dans un environnement proche de la station de nourrissage.

Les travaux de Rutschmann indiquent que lors de l'essaimage, les éclaireuses communiquent des sites se trouvant à moins de 470 mètres dans la moitié des cas et que la distance entre les colonies des forêts et les ruchers est en moyenne de 2 600 mètres (Kohl & Rutschmann (2018), *thèse de Rutschmann (2022)*; Steffan-Dewenter & Kuhn, 2003). Ces informations renforcent l'hypothèse que la (les) colonie(s) potentiellement présente(s) dans cette forêt sont des colonies déjà établies ou provenant d'une autre colonie férale.

D'après les données d'Observations.be (2024), le Pic noir, dont les loges fournissent des cavités de nidification potentielles pour les abeilles, est présent dans cette forêt. De plus, les recherches de Colmant (2016) sur l'occupation des loges de pic confirment la présence de colonies d'abeilles mellifères dans les forêts de l'Entre-Sambre-et-Meuse (+- 1% des observations).

Les bee-lining ns°9 et 10, bien qu'indiquant la présence potentielle d'une colonie, ne permettent pas d'établir une zone plus précise car les abeilles quittaient la station de nourrissage via la route, qui offre potentiellement un couloir de vol plus dégagé au milieu de la forêt.

A côté de ces bee-lining qui ont permis d'identifier une zone de nidification potentielle, les autres bee-lining n'ayant pas pu être menés à terme ou n'ayant pas fonctionnés peuvent s'expliquer par plusieurs facteurs. En effet, l'absence ou un faible nombre d'ouvrières à la station de nourrissage peut traduire l'absence de colonies dans un périmètre proche. Une autre explication pourrait être qu'une autre source de nourriture plus intéressante se trouve à proximité, et que la session de bee-lining tombe en même temps qu'une période de miellée.

Bien que le bee-lining n'ait pas permis de localiser de colonies, les huit colonies identifiées dans les villages grâce aux informations fournies par les citoyens confirment l'hypothèse que les abeilles mellifères s'établissent en dehors des ruchers et peuvent perdurer sur le territoire du Parc national. Les résultats obtenus concernant les cavités utilisées sont en accord avec des études précédentes réalisées dans d'autres pays européens (Arndt & Tautz, 2021; Bila Dubaić et al., 2021; Browne et al., 2020; Piaget, 2023; Rutschmann et al., 2023). L'utilisation de constructions anthropiques chauffées est bénéfique pour les colonies, en particulier pendant l'hiver, permettant ainsi d'économiser de l'énergie (Bila Dubaić et al., 2021).

Les colonies sont géographiquement proches car l'entièreté du territoire n'a pas pu être couverte et elles ont été localisées grâce à des discussions avec des apiculteurs de la région. Cela ne veut pas dire qu'il n'y a pas de colonies présentes ailleurs dans le Parc national.

1.2. Survie hivernale et printanière

La survie de 3 colonies sur 7 (~40%), dont 2 appartiennent à l'abeille noire, est un résultat encourageant. De plus, pour les prochaines années d'étude, ces colonies pourront être considérées comme « établies ». Le nombre de colonies étudiées dans ce mémoire étant limité, la comparaison avec d'autres études, comme celles de Browne et al. (2020) et Kohl et al. (2022), est peu pertinente. Néanmoins, les taux de survie annuels observés, allant de plus de 90% dans la première étude à 11% dans la seconde, montrent qu'il est encore difficile d'arriver à un consensus.

De plus, l'occupation des cavités par de nouveaux essaims de cette année 2024 souligne leur importance pour l'établissement de colonies. Cette occupation peut notamment s'expliquer par

la présence des rayons de l'ancienne colonie n'ayant pas passé l'hiver, qui semble être un critère pris en considération par les élaireuses à la recherche d'une nouvelle cavité (Seeley, 2017).

La survie des colonies prouve qu'elles ont pu récolter suffisamment de ressources dans les environs pour subvenir à leurs besoins et confirme l'hypothèse 3 de ce travail. La disparition d'une colonie pourrait traduire des ressources insuffisantes. En effet, un manque de nourriture pourrait affaiblir les ouvrières, potentiellement par compétition : plusieurs colonies peuvent se trouver dans un rayon de butinage similaire, créant une potentielle compétition (Benest (1976) citée par Albouy (2019)). Cependant, la disparition d'une colonie peut avoir d'autres causes, notamment les infestations par des parasites tels que *Varroa destructor*, ou encore par des attaques de prédateurs comme *Vespa velutina* (AFSCA, 2023; Bertrand, 2013; De La Rúa et al., 2009; Fayet, 2022). L'usage de pesticides dans les cultures environnantes peut également nuire aux colonies (De La Rúa et al., 2009). Dans le cas d'hivers rudes, les colonies peuvent être mises à mal. Toutefois, l'hiver 2023-2024 en Belgique a été relativement doux (Institut Royal Météorologique de Belgique (IRM), 2024a), cette hypothèse peut dès lors être écartée. Ce printemps 2024 a été chaud mais peu ensoleillé et très humide (Institut Royal Météorologique de Belgique (IRM), 2024b), ce qui pourrait impacter les récoltes pourtant essentielles pour la reprise du couvain à cette saison. Enfin, la taille de la cavité est peut-être insuffisante pour stocker suffisamment de miel, bien que selon Seeley (2017), elles peuvent aller jusqu'à 12 litres et la petite taille d'une cavité permet de mieux résister aux attaques de *Varroa destructor* (Loftus et al., 2016).

2. Identification de la sous-espèce

2.1. Composition génétique

Les résultats de la composition génétique des colonies (**O2**) sont encourageants pour la conservation des populations d'abeille noire dans le sud de l'Entre-Sambre-et-Meuse. En effet, une des hypothèses de ce travail était que les populations d'abeilles mellifères étaient fortement hybridées. Cependant, parmi les huit colonies étudiées, la moitié sont composées à plus de 99 % de la sous-espèce *A.m.mellifera*. De plus, trois de ces colonies se trouvent en dehors de la zone de protection de l'abeille noire. Bien qu'il soit courant que les apiculteurs de cette région élèvent des abeilles noires (Fayet, 2022), ce résultat est particulièrement intéressant en raison de la distance parcourue par la reine d'abeille mellifère lors de son vol nuptial qui peut atteindre plusieurs kilomètres (Page, 2013).

2.2. Morphométrie

Les analyses morphométriques réalisées sur les ailes des ouvrières des colonies confirment les résultats génétiques pour les colonies 2, 3, 5 et 7. Cependant, la colonie n°8 présente une discordance entre les deux types d'analyse : elle est identifiée par la génétique comme un mélange de *mellifera*, *ligustica* et *caucasica*, tandis que les analyses morphométriques l'indiquent comme appartenant à la sous-espèce *A.m.mellifera* avec une probabilité approchant les 100%. Cette discordance pourrait s'expliquer par le fait que l'hybride *Buckfast* n'est pris en compte ni dans les analyses génétiques, ni dans les analyses morphométriques. Étant majoritairement composé d'abeille noire et d'abeille italienne, il est possible que la colonie n°8 soit un hybride *Buckfast*. En effet, il est apparu que les analyses génétiques peuvent confondre les *ligustica* et les *Buckfast*. Pour les colonies 1 et 4, la dissonance pourrait s'expliquer par la proximité génétique entre les *carnica* et les *ligustica* (Boardman et al., 2019). En effet, lors des analyses, il semblerait que le laboratoire agrège les données de *A.m.carnica* et *A.m.ligustica* (Eynard et al., 2022). Ainsi, il est judicieux de se référer aux résultats des analyses morphométriques concernant la distinction entre ces deux sous-espèces. La colonie 1 serait alors de la sous-espèce *A.m.carnica* et la colonie n°4 un hybride *carnica/mellifera*.

Concernant les analyses des butineuses par morphométrie, l'analyse des lignées plutôt que des sous-espèces n'est pas un problème. En effet, la lignée M dont fait partie *A.m.mellifera* compte également *A.m.iberiensis*, qui sont très proches phylogénétiquement et morphologiquement (Miguel et al., 2011). Dès lors, il est possible que le logiciel confonde les deux sous-espèces, d'autant plus qu'*A.m.iberiensis* n'est *a priori* pas présente en Wallonie (Fayet, 2022).

3. Ressources mellifères

Les deux zones étudiées pour les ressources mellifères (**O3**) offrent un paysage bien différent : la zone d'étude de Mazée présente un territoire majoritairement agricole alors qu'à Oignies les forêts dominent. À Mazée, l'écotopie « forêt mixte » offre le plus de ressources mellifères de mai à juillet tandis qu'à Oignies l'écotopie « couvert de cultures mixtes (avec une majorité de cultures) » le dépasse de loin. Les indices maximaux sont observés en mai et juin dans les deux écotopes, ce qui coïncide avec le moment où les besoins des colonies sont maximaux. Toutefois, ces écotopes ne représentent qu'une faible partie du paysage dans les deux zones d'étude (Annexe 10). Globalement, les indices nectar sont maximaux en juin.

Concernant le pollen, la période des maximas varie selon l'écotope. Comme l'indice mellifère utilisé ici reste fixe pour chaque mois, la différence observée est expliquée par les périodes de floraison des espèces, par leur recouvrement ainsi que par la diversité de la flore présente en fonction des mois. Les sites présentant les plus hauts indices mellifères sont d'ailleurs ceux avec le plus de diversité floristique.

Cette première étude servira de balise pour pouvoir proposer quelques emplacements de ruches-troncs dans un but de conservation des populations d'abeilles mellifères à l'état sauvage ; les résultats indiquent donc que les colonies peuvent vivre dans un paysage fortement agricole ou encore dans un paysage forestier.

Ainsi, bien que les forêts ne montrent pas toujours le plus haut indice mellifère, elles sont prédominantes dans le paysage du Parc national de l'Entre-Sambre-et-Meuse (Bureau de projet du Parc national, 2022) et montrent toutefois un intérêt pour les besoins des abeilles mellifères. La survie de deux colonies dans le village de Oignies, présentant pourtant un paysage majoritairement forestier (+75%), témoigne que les ressources sont suffisantes pour plusieurs colonies qui doivent se partager ces ressources. Cela démontre également que les paysages ouverts ne sont pas indispensables pour la survie des colonies.

Les habitats semi-naturels sont essentiels pour les abeilles (Rutschmann, 2022; Steffan-Dewenter & Kuhn, 2003). L'avantage des forêts, particulièrement les forêts feuillues et mixtes, est qu'elles offrent une diversité de ressources tout au long de l'année (Albouy, 2019). Elles sont une source de pollen importante au printemps (Albouy, 2019; Rutschmann et al., 2023), permettant d'apporter des protéines au couvain (Pritsch, 2020). De plus, bien que ce ne soit pas la ressource la plus attrayante pour les abeilles, le miellat peut venir compléter leurs besoins.

Les cultures agricoles peuvent apporter des ressources en nectar pour les pollinisateurs via par exemple des cultures de protéagineux (fabacées), et du pollen par des cultures de maïs (Danner et al., 2014). Toutefois, un paysage agricole offre des ressources abondantes pendant quelques semaines et puis est suivi d'une période de disette, ce qui déstabilise l'élevage du couvain (Albouy, 2019).

Enfin, il est important de noter que la diversité de paysages est essentielle afin que les abeilles bénéficient de ressources suffisantes tout au long de l'année, particulièrement en été qui est une période durant laquelle les abeilles doivent parcourir de plus grandes distances afin de combler leurs besoins en nourriture (Couvillon et al., 2014)

4. Pistes de gestion

Le dernier objectif de ce mémoire (O4) est de proposer l'emplacement de ruches-troncs sur le territoire du Parc national de l'Entre-Sambre-et-Meuse.

Etant donné la grandeur du territoire du Parc national, la zone n'a pas pu être étudiée de façon exhaustive lors de l'été 2023 pour localiser des colonies d'abeilles mellifères vivant à l'état sauvage. Dès lors, les recommandations suivantes pour l'emplacement de ruches-troncs sont basées sur les résultats obtenus dans la zone étudiée, c'est-à-dire majoritairement autour du Barrage du Ry de Rome à Couvin.

Plusieurs critères doivent être pris en compte afin de proposer des emplacements adéquats pour l'établissement de colonies d'*A.mellifera*, plus particulièrement de la sous-espèce *mellifera*, l'abeille noire. Ces critères sont :

- La piste de la présence de colonies d'abeilles mellifères grâce aux séances de bee-lining. En effet, il y a plus de chances qu'une colonie s'établisse dans la ruche-tronc si une colonie se trouve à proximité (Kohl & Rutschmann, 2018). De cette façon, les essaims provenant de la colonie existante pourront s'y établir. Les carrés ns° 4, 6, 8 et 11 sont concernés.
- La présence d'*A.m.mellifera* à proximité : la fiche-action du Parc national ESEM vise la protection et la conservation de l'abeille noire, indigène chez nous. Placer des ruches-troncs dans les endroits où l'abeille noire est présente augmentera les chances qu'un essaim de cette sous-espèce s'y établisse. En excluant les carrés 1 et 5 qui contiennent des ruches d'apiculteurs, cela correspond aux carrés ns°10, 4, 7 et 8.
- La présence de ressources mellifères suffisantes : bien que l'abeille mellifère se montre être une bonne pollinisatrice pouvant voler plusieurs kilomètres pour récolter pollen et nectar, il est préférable d'offrir des ressources à proximité du nid. Ainsi, les butineuses doivent dépenser moins d'énergie. De plus, placer les colonies éloignées des cultures permet d'éviter des intoxications par les pesticides utilisés en agriculture qui sont néfastes pour les pollinisateurs. Les différents sites présentent tous des écotopes majoritairement forestiers, mais les carrés 3, 4, 7, 8 et 9 contiennent très peu voire pas d'artificialisation (Annexe 5).

- La présence d'un point d'eau : outre les besoins en nectar et en pollen, l'eau est un élément essentiel pour les insectes. Ainsi, la présence d'un point d'eau à proximité de la colonie s'avère être un critère crucial (Albouy, 2019). La zone d'étude se trouvant autour d'un barrage, ce critère n'est pas discriminant dans ce cas-ci.

En combinant ces différents critères, les ruches-troncs peuvent être placées autour du Barrage du Ry de Rome préférentiellement dans les carrés 4 et 8. Toutefois, afin de multiplier l'offre de sites de nidification pour les abeilles mellifères, les carrés 7 et 10 qui abritent proportionnellement plus d'abeilles mellifères de lignée M peuvent également abriter une ruche-tronc (Annexe 15).

En parallèle de la pose de ruches-troncs, il serait pertinent d'investiguer les cavités disponibles dans les forêts du Parc national pour l'établissement d'abeilles mellifères. Par exemple, les ruches-troncs pourraient également être posées dans les forêts avec peu de dendro-microhabitats.

De plus, il est nécessaire d'avoir une gestion forestière raisonnée, en laissant par exemple plusieurs arbres d'intérêt biologique (arbres à cavités, de grands diamètres, etc.) dans les forêts, permettant aux abeilles ainsi qu'à d'autres espèces d'y trouver refuge.

5. Limites et perspectives

5.1. Recherche de colonies

Premièrement, la recherche de colonies d'abeilles mellifères par la méthode du bee-lining s'avère être fastidieuse, dépendante de la météo et très chronophage. Pour ces raisons, il a fallu se concentrer sur une zone réduite du territoire. Dès lors, les résultats obtenus ne permettent pas d'estimer une densité de colonies vivant à l'état sauvage sur l'entièreté du territoire du Parc national. De plus, bien que les apiculteurs soient tenus de se déclarer à l'AFSCA, seuls 50% d'entre eux respectent cela actuellement (Fayet, 2022) et la localisation de leurs ruchers n'est pas toujours connue, rendant les analyses des bee-lining proche des villages compliquées.

Bien que le bee-lining soit une technique de recherche non-biaisée, localiser une colonie en forêt une fois une zone potentielle délimitée peut s'avérer difficile. Pour remédier à cela, une solution pourrait être, comme l'a fait Rutschmann (2022), d'investiguer les cavités de Pic noir (*Dryocopus martius*) connues afin d'évaluer leur occupation. Les poteaux électriques pourraient aussi être inventoriés car il est connu que les colonies d'*A.mellifera* s'y établissent régulièrement (Albouy, 2019; Rutschmann, 2022).

Une autre limite à la recherche de colonies d'abeilles mellifères dans un vaste territoire en un court laps de temps est le nombre d'agents de terrain disponibles pour réaliser ce travail. Dans cette étude, nous étions deux pendant un mois et demi, ce qui ne permettait d'initier qu'un seul bee-lining à la fois. Une piste d'amélioration pour ce point-là serait de faire appel à la participation citoyenne, comme l'équipe de *Free the bees* l'a fait en Suisse (Piaget, 2023), par exemple pour l'inspection de loges de Pic noir ou de poteaux électriques.

Concernant les colonies d'abeilles mellifères qui ont été localisées, ceci est le fruit de discussions avec des apiculteurs de la région. Etant donné leur présence au centre des villages, ce sont probablement des essaims échappés des ruchers. Toutefois, leur suivi sur du plus long terme est intéressant afin de récolter des informations de survie alors qu'elles ne bénéficient pas de traitement contre les parasites ni de complémentations de nourriture. Ce suivi permettrait également d'étudier plus en profondeur les cavités utilisées par les colonies d'abeilles mellifères.

5.2. Génétique

Concernant les analyses génétiques, bien que les principales sous-espèces présentes en Belgique aient été prises en compte, l'hybride Buckfast n'a pas pu être intégré dans les analyses. Afin d'estimer le taux d'introgession des colonies d'*A.m.mellifera* avec d'autres sous-espèces de lignée C telle que *A.m.ligustica* ou avec la race Buckfast avec plus de précision, des analyses plus poussées pourraient être réalisées, par exemple en analysant les SNP de différentes colonies inventoriées en les comparant à des génomes de référence (Minozzi et al., 2021), en intégrant le génome de l'hybride Buckfast (Okuyama et al., 2018). Toutefois, la comparaison avec des analyses morphométriques permet déjà de mettre les résultats en perspective.

5.3. Morphométrie

Comme mentionné dans le matériel et méthode, le choix de prélever 10 ouvrières est un bon compromis pour déterminer la sous-espèce lorsqu'il s'agit d'individus provenant de la même colonie. En revanche, pour les butineuses, la détermination est moins certaine, mais le logiciel a tout de même montré de hautes probabilités d'identification. La morphométrie de l'aile antérieure représente une bonne méthode, rapide et efficace, pour la détermination des sous-espèces d'*A.mellifera*. Pour plus de précisions, d'autres mesures du corps de l'insecte pourraient être effectuées. A l'avenir, si d'autres modèles de reconnaissance par deep learning sont développés (De Nart et al., 2022) en open source pour identifier les Buckfast, cela rendra les analyses plus claires.

5.4. Ressources mellifères

Concernant l'analyse des ressources mellifères, l'objectif dans ce cadre-ci est d'évaluer les ressources disponibles autour des colonies. Initialement, le but était de dresser un inventaire de la flore dans chaque écotope afin de l'extrapoler et d'obtenir une estimation de la quantité de miel qui pourrait être produite par une colonie grâce à la flore environnante dans chaque zone. Toutefois, cela n'a pas été possible en raison de l'inaccessibilité de certains sites, de la taille de la zone à inventorier et des écotopes qui correspondent à des cultures agricoles. De ce fait, tous les écotopes n'ont pas pu être étudiés.

En raison du temps disponible, un seul point par écotope a été échantillonné, mais répété dans le temps entre avril et juillet. Pour avoir une information plus précise, plusieurs inventaires par écotope pourraient être réalisés et la distance séparant les différents écotopes de la colonie

pourrait être prise en compte (Janssens et al., 2006). De plus, l'étude des ressources mellifères est orientée sur l'ensemble des espèces floristiques mellifères rencontrées dans les écotopes échantillonnés dans un rayon de deux kilomètres autour de la colonie. Cependant, comme le souligne Louveaux (1958), les abeilles ne visitent pas toutes les plantes et en butinent souvent quelques-unes seulement.

Les plantes en lisière des parcelles agricoles et forestières n'ont pas été intégrées dans le cadre de cette étude. Toutefois, elles peuvent jouer un rôle important pour les pollinisateurs, tout comme les éléments linéaires, tels que haies, qui n'ont pas été étudiés. Enfin, les jardins des particuliers peuvent également offrir des ressources intéressantes pour les abeilles mais n'ont pas pu être pris en compte. Pour une étude plus approfondie, la participation citoyenne pourrait avoir sa place pour récolter ce type d'informations.

Les parcelles agricoles considérées dans l'étude sont basées sur le parcellaire agricole anonyme de l'année 2022, qui était le plus récent au moment de la recherche. Cependant, il est important de souligner que les cultures peuvent varier d'une année à l'autre en fonction des rotations culturales ou des choix agronomiques des exploitants. Par conséquent, l'offre mellifère issue des parcelles agricoles est susceptible de changer d'une année à l'autre.

CONCLUSIONS

L'étude des colonies d'abeilles mellifères vivant à l'état sauvage est récente en Europe, mais les connaissances restent encore limitées, notamment en Belgique où aucune recherche à ce sujet n'a encore vu le jour. Ce mémoire a pour objectif d'évaluer l'état des populations d'*Apis mellifera mellifera*, sous-espèce de l'abeille mellifère indigène en Europe de l'Ouest et du Nord, vivant à l'état sauvage au sein du territoire du Parc national de l'Entre-Sambre-et-Meuse.

Les recherches ont pu montrer **(O1)** qu'il existe encore des colonies d'abeilles mellifères vivant à l'état sauvage sur le territoire du Parc national ESEM et qu'elles sont capables de survivre au moins une année sans l'intervention humaine. Leur suivi sur un an permet de qualifier les colonies ayant survécu d'« établies ». Les cavités occupées par les abeilles mellifères se situaient plus particulièrement dans les villages mais le bee-lining a également permis d'offrir des pistes de présence de quatre colonies dans les forêts, habitat originel de l'abeille mellifère. Ainsi, bien que l'existence de colonies sauvages doive encore être confirmée par des recherches supplémentaires, les preuves actuelles plaident en faveur de la présence de plusieurs colonies d'abeilles mellifères vivant à l'état sauvage dans la forêt de Viroinval.

Les analyses génétiques et morphométriques **(O2)** ont révélé qu'il subsiste des colonies d'abeille noire vivant à l'état sauvage dans l'Entre-Sambre-et-Meuse. La moitié des colonies étudiées (4 sur 8) s'avèrent être peu hybridées alors qu'elles se situent en-dehors de la zone de protection de l'abeille noire des communes de Chimay et Momignies.

L'étude des ressources mellifères **(O3)** autour des colonies localisées a permis d'évaluer le potentiel mellifère des écotopes étudiés et constitue ainsi des balises pour placer des ruches-troncs **(O4)** dans des endroits adéquats. Cette évaluation couplée à l'analyse morphométrique de butineuses a permis d'identifier quatre sites pouvant accueillir des ruches-troncs. Ces ruches-troncs participeront à la conservation des populations d'abeilles mellifères vivant à l'état sauvage, et plus particulièrement de la sous-espèce *A.m.mellifera*, en offrant des possibilités de nidification dans les forêts du Parc national ESEM.

Il en ressort que les ruches-troncs peuvent être placées dans la zone étudiée, c'est-à-dire autour du barrage du Ry de Rome. Cette zone offre un paysage forestier qui apparaît être suffisant pour la survie des colonies, avec des ressources en eau et la présence d'individus de lignées évolutives M.

Pour l'avenir, un suivi à long terme de ces colonies et des ruches-troncs permettra d'alimenter les connaissances sur leurs stratégies de survie et orienter les efforts de conservation. Si le financement le permet, des analyses génétiques plus détaillées permettraient éventuellement d'étudier la génétique des différentes populations en comparaison avec les ruchers des apiculteurs.

Enfin, l'implication d'un réseau de bénévoles pour la recherche de colonies dans les forêts du Parc national ESEM serait un atout majeur pour accroître les données disponibles et mieux protéger ces populations.

Ces résultats, associés à la pose de ruches-troncs et à la réflexion sur l'extension des règlements communaux visant la protection de l'abeille noire en apiculture, constituent un pas important vers la préservation des abeilles mellifères sauvages en Belgique et en Europe, et plus particulièrement d'*A.m.mellifera*.

BIBLIOGRAPHIE

- AFSCA. (2023, 20 mai). *AFSCA - JOURNÉE MONDIALE DES ABEILLES : L'AFSCA enregistre 10 000 apiculteurs en Belgique !* <https://www.favv-afsca.be/professionnels/publications/presse/2023/2023-05-20.asp>
- Albouy, V. (2019). *Abeilles mellifères à l'état sauvages*. Terran.
- Albouy, V., & M. Lang, U. (2023, 20 décembre). *Abeilles en Liberté—Abeilles mellifères à l'état sauvage, synthèse comparative*. Abeilles en Liberté. <https://www.abeillesenliberte.fr/abeilles-melliferes-a-letat-sauvage-synthese-comparative/>
- Alderweireld, M., Burnay, F., Pitchugin, M., & Lecomte, H. (s. d.). *INVENTAIRE FORESTIER WALLON*.
- Alqarni, A., Hannan, M., Owayss, A., & Engel, M. (2011). The indigenous honey bees of Saudi Arabia (Hymenoptera, Apidae, *Apis mellifera jemenitica* Ruttner): Their natural history and role in beekeeping. *ZooKeys*, 134, 83-98. <https://doi.org/10.3897/zookeys.134.1677>
- Arndt, I., & Tautz, J. (2021). *Abeilles mellifères sauvages* (P. Bertrand, Trad.; 174^e-01 éd.). Ulmer.
- Augue, B. (2017). *gridExtra : Miscellaneous Functions for « Grid » Graphics*. <https://CRAN.R-project.org/package=gridExtra>
- Balayer, M. (1990). Evaluation des potentialités mellifères en Roussillon. *Bulletin de la Société Botanique de France. Lettres Botaniques*, 137(2-3), 157-171. <https://doi.org/10.1080/01811797.1990.10824876>
- Baudry, E., Solignac, M., Garnery, L., Gries, M., Cornuet, J., & Koeniger, N. (1998). Relatedness among honeybees (*Apis mellifera*) of a drone congregation. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 265(1409), 2009-2014. <https://doi.org/10.1098/rspb.1998.0533>
- Baum, D. (2008). *Phylogenetic Trees and Monophyletic Groups | Learn Science at Scitable*. Nature. <http://www.nature.com/scitable/topicpage/reading-a-phylogenetic-tree-the-meaning-of-41956>

- Benest, G. (1976). RELATIONS INTERSPÉCIFIQUES ET INTRASPÉCIFIQUES ENTRE BUTINEUSES DE BOMBUS SP. ET D'APIS MELLIFICA L. *Apidologie*, 7(2), 113-127.
<https://doi.org/10.1051/apido:19760202>
- Bertrand, B. (2013). *Analyse de la diversité moléculaire de populations d'abeilles de la lignée ouest-méditerranéenne (Apis mellifera mellifera) dans le but de la conservation* [Phdthesis, Université Paris Sud - Paris XI]. <https://theses.hal.science/tel-00951288>
- Bila Dubaić, J., Simonović, S., Plećaš, M., Stanisavljević, L., Davidović, S., Tanasković, M., & Četković, A. (2021). Unprecedented Density and Persistence of Feral Honey Bees in Urban Environments of a Large SE-European City (Belgrade, Serbia). *Insects*, 12(12), 1127.
<https://doi.org/10.3390/insects12121127>
- Boardman, L., Eimanifar, A., Kimball, R. T., Braun, E. L., Fuchs, S., Grünewald, B., & Ellis, J. D. (2019). The mitochondrial genome of the Carniolan honey bee, *Apis mellifera carnica* (Insecta : Hymenoptera: Apidae). *Mitochondrial DNA Part B*, 4(2), 3288-3290.
<https://doi.org/10.1080/23802359.2019.1671250>
- Browne, K. A., Hasset, J., Geary, M., Moore, E., Henriques, D., Soland-Reckeweg, G., Ferrari, R., Mac Loughlin, E., O'Brien, E., O'Driscoll, S., Young, P., Pinto, M. A., & McCormack, G. P. (2020). *Investigation of free-living honey bee colonies in Ireland*. 13.
<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/00218839.2020.1837530>
- Büchler, R., Costa, C., Hatjina, F., Andonov, S., Meixner, M. D., Conte, Y. L., Uzunov, A., Berg, S., Bienkowska, M., Bouga, M., Drazic, M., Dyrba, W., Kryger, P., Panasiuk, B., Pechhacker, H., Petrov, P., Kezić, N., Korpela, S., & Wilde, J. (2014). The influence of genetic origin and its interaction with environmental effects on the survival of *Apis mellifera* L. colonies in Europe. *Journal of Apicultural Research*, 53(2), 205-214. <https://doi.org/10.3896/IBRA.1.53.2.03>
- Bureau de projet du Parc national. (2022). *Parc National de l'Entre-Sambre-et-Meuse—TERRITOIRE*. Parc national ESEM. <https://parc-national-esem.be/territoire/>

Bureau de projet du Parc national. (2024, mars). *Le Parc national s'est agrandi de 164 ha en zone nodale*. Parc national ESEM. <https://parc-national-esem.be/le-perimetre-du-parc-s-agrandit/>

CARI. (2015). Varroase, un autre regard. *ActuApi*, 24.

Carreck, N. L. (2008). Are honey bees (*Apis mellifera* L.) native to the British Isles? *Journal of Apicultural Research*, 47(4), 318-322. <https://doi.org/10.1080/00218839.2008.11101482>

Couvillon, M. J., Riddell Pearce, F. C., Accleton, C., Fensome, K. A., Quah, S. K. L., Taylor, E. L., & Ratnieks, F. L. W. (2015). Honey bee foraging distance depends on month and forage type. *Apidologie*, 46(1), 61-70. <https://doi.org/10.1007/s13592-014-0302-5>

Couvillon, M. J., Schürch, R., & Ratnieks, F. L. W. (2014). Waggle Dance Distances as Integrative Indicators of Seasonal Foraging Challenges. *PLoS ONE*, 9(4), e93495. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0093495>

Danner, N., Härtel, S., & Steffan-Dewenter, I. (2014). Maize pollen foraging by honey bees in relation to crop area and landscape context. *Basic and Applied Ecology*, 15(8), 677-684. <https://doi.org/10.1016/j.baae.2014.08.010>

De La Rúa, P., Jaffé, R., Dall'Olio, R., Muñoz, I., & Serrano, J. (2009). Biodiversity, conservation and current threats to European honeybees. *Apidologie*, 40(3), 263-284. <https://doi.org/10.1051/apido/2009027>

De Nart, D., Costa, C., Di Prisco, G., & Carpana, E. (2022). Image recognition using convolutional neural networks for classification of honey bee subspecies. *Apidologie*, 53(1), 5. <https://doi.org/10.1007/s13592-022-00918-5>

Destatis. (2021). *Bee colonies: Worldwide population on the rise*. Federal Statistical Office. <https://www.destatis.de/EN/Themes/Countries-Regions/International-Statistics/Data-Topic/AgricultureForestryFisheries/Bees.html>

Direction de l'état environnemental. (2018). *Évolution des populations d'abeilles domestiques*. Éditions Larousse. (s. d.-a). *Définitions : Domestication - Dictionnaire de français Larousse*. Consulté 8 avril 2024, à l'adresse <https://www.larousse.fr/dictionnaires/francais/domestication/26363>

- Éditions Larousse. (s. d.-b). *Définitions : Féral - Dictionnaire de français Larousse*. Consulté 8 avril 2024, à l'adresse <https://www.larousse.fr/dictionnaires/francais/f%C3%A9ral/33271>
- European Commission - Directorate General for the Environment & IUCN (International Union for Conservation of Nature). (2014). *European red list of bees*. Publications Office. <https://data.europa.eu/doi/10.2779/77003>
- European Environment Agency. (2020). *State of nature in the EU: results from reporting under the nature directives 2013 2018*. Publications Office. <https://data.europa.eu/doi/10.2800/705440>
- Eynard, S. E., Vignal, A., Basso, B., Canale-Tabet, K., Le Conte, Y., Decourtye, A., Genestout, L., Labarthe, E., Mondet, F., & Servin, B. (2022). Reconstructing queen genotypes by pool sequencing colonies in eusocial insects: Statistical Methods and their application to honeybee. *Molecular Ecology Resources*, 22(8), 3035-3048. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.13685>
- FAO. (2021). *FAOSTAT*. <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>
- Fayet, A. (2012). Eusocialité et superorganisme. *Abeilles & cie*, 148.
- Fayet, A. (2022, 7 janvier). *Apiculture en Wallonie—Plan de développement stratégique 2022-2031*. CARI asbl.
- FREETHEBEES. (2021, décembre). *Bulletin FREETHEBEES No 21*. 48.
- García, C. A. Y., Rodrigues, P. J., Tofilski, A., Elen, D., McCormak, G. P., Oleksa, A., Henriques, D., Ilyasov, R., Kartashev, A., Bargain, C., Fried, B., & Pinto, M. A. (2022). Using the Software DeepWings© to Classify Honey Bees across Europe through Wing Geometric Morphometrics. *Insects*, 13(12), 1132. <https://doi.org/10.3390/insects13121132>
- Gillet, F. (1998). *La phytosociologie synusiale intégrée*.
- Giorgi, H. (2018). *La ruche-tronc : Une apiculture d'accompagnement des abeilles*. Terran.
- Guerriat, H. (2017). *Être performant en apiculture*. Horzo.
- 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>

- Hung, K. J., Kingston, J. M., Albrecht, M., Holway, D. A., & Kohn, J. R. (2018). The worldwide importance of honey bees as pollinators in natural habitats. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*. <http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2017.2140>
- Ilyasov, R. A., Lee, M., Takahashi, J., Kwon, H. W., & Nikolenko, A. G. (2020). A revision of subspecies structure of western honey bee *Apis mellifera*. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27(12), 3615-3621. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.08.001>
- Institut Royal Météorologique de Belgique (IRM). (2024a). *Bilan climatique saisonnier hiver 2024*.
- Institut Royal Météorologique de Belgique (IRM). (2024b). *Bilan climatique saisonnier—Printemps 2024* (p. 11). https://www.meteo.be/resources/climatology/pdf/bilan_climatique_saisonnier_2024_S2.pdf
- IUCN (International Union for Conservation of Nature). (2015, 19 mars). *Nearly one in 10 wild bee species face extinction in Europe while the status of more than half remains unknown—IUCN report | IUCN*. <https://www.iucn.org/content/nearly-one-10-wild-bee-species-face-extinction-europe-while-status-more-half-remains-unknown-iucn-report>
- Janssens, X., Bruneau, É., & Lebrun, P. (2006). Préviation des potentialités de production de miel à l'échelle d'un rucher au moyen d'un système d'information géographique. *Apidologie*, 37(3), 351-365. <https://doi.org/10.1051/apido:2006006>
- Jensen, A. B., Palmer, K. A., Boomsma, J. J., & Pedersen, B. V. (2005). Varying degrees of *Apis mellifera ligustica* introgression in protected populations of the black honeybee, *Apis mellifera mellifera*, in northwest Europe. *Molecular Ecology*, 14(1), 93-106. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2004.02399.x>
- Kohl, P. L., & Rutschmann, B. (2018). The neglected bee trees : European beech forests as a home for feral honey bee colonies. *PeerJ*, 6, e4602. <https://doi.org/10.7717/peerj.4602>
- Kohl, P. L., Rutschmann, B., & Steffan-Dewenter, I. (2022). Population demography of feral honeybee colonies in central European forests. *Royal Society Open Science*, 9(8), 220565. <https://doi.org/10.1098/rsos.220565>

- Lambinon, J., & Verloove, F. (2015). *Nouvelle flore de la Belgique, du Grand-Duché de Luxembourg, du nord de la France et des régions voisines : Ptéridophytes et spermatophytes* (6e édition, deuxième tirage, avec corrections (2015)). Edition du Jardin botanique Meise.
- Loftus, J. C., Smith, M. L., & Seeley, T. D. (2016). How Honey Bee Colonies Survive in the Wild : Testing the Importance of Small Nests and Frequent Swarming. *PLOS ONE*, *11*(3), e0150362. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0150362>
- Louveaux, J. (1958). RECHERCHES SUR LA RÉCOLTE DU POLLEN PAR LES ABEILLES (*Apis Mellifica* L) (Suite). *Annales de l'Abeille*, *1*(4), 197-221. <https://doi.org/10.1051/apido:19580401>
- Louveaux, J., Albisetti, M., Delangue, M., & Theurkauff, M. (1966). LES MODALITÉS DE L'ADAPTATION DES ABEILLES (*APIS MELLIFICA* L.) AU MILIEU NATUREL. *Les Annales de l'Abeille*, *9*(4), 323-350.
- Meddour, R. (2011). *La méthode phytosociologique sigmatiste ou Braun-Blanquet Totûxenienne*.
- Meixner, M. D., Pinto, M. A., Bouga, M., Kryger, P., Ivanova, E., & Fuchs, S. (2013). Standard methods for characterising subspecies and ecotypes of *Apis mellifera*. *Journal of Apicultural Research*, *52*(4), 1-28. <https://doi.org/10.3896/IBRA.1.52.4.05>
- Meixner, M. D., Worobik, M., Wilde, J., Fuchs, S., & Koeniger, N. (2007). *Apis mellifera mellifera* in eastern Europe – morphometric variation and determination of its range limits. *Apidologie*, *38*(2), 191-197. <https://doi.org/10.1051/apido:2006068>
- Mellifica ASBL. (2024, 13 mai). *Mellifica » Chimay – Momignies, questions pratiques*. <https://www.mellifica.be/a/la-zone-conservatoire-en-pratique/>
- Miguel, I., Baylac, M., Iriando, M., Manzano, C., Garnery, L., & Estonba, A. (2011). Both geometric morphometric and microsatellite data consistently support the differentiation of the *Apis mellifera* M evolutionary branch. *Apidologie*, *42*(2), 150-161. <https://doi.org/10.1051/apido/2010048>
- Minozzi, G., Lazzari, B., De Iorio, M. G., Costa, C., Carpana, E., Crepaldi, P., Rizzi, R., Facchini, E., Gandini, G., Stella, A., & Pagnacco, G. (2021). Whole-Genome Sequence Analysis of Italian Honeybees (*Apis mellifera*). *Animals*, *11*(5), 1311. <https://doi.org/10.3390/ani11051311>

- Muséum national d'histoire naturelle. (2023, juin). *Qu'est-ce que la domestication ?* | MNHN.
<https://www.mnhn.fr/fr/qu-est-ce-que-la-domestication>
- National Academies of Sciences, E., Studies, D. on E. and L., Resources, B. on A. and N., Sciences, B. on L., & Wolf, C. on A. the T. S. of the R. W. and the M. G. (2019). Guiding Principles for Identifying Species and Subspecies. In *Evaluating the Taxonomic Status of the Mexican Gray Wolf and the Red Wolf*. National Academies Press (US).
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK542546/>
- Observations.be. (2024). *Pic noir Dryocopus martius (Linnaeus, 1758)*. Observations.be.
<https://observations.be/species/759/maps/>
- Okuyama, H., Hill, J., Martin, S. J., & Takahashi, J. (2018). The complete mitochondrial genome of a Buckfast bee, *Apis mellifera* (Insecta : Hymenoptera: Apidae) in Northern Ireland. *Mitochondrial DNA. Part B, Resources*, 3(1), 338-339.
<https://doi.org/10.1080/23802359.2018.1450660>
- Page, R. E. (2013). *The spirit of the hive: The mechanisms of social evolution*. Harvard University Press.
- Pedersen, T. L. (2024). *patchwork: The Composer of Plots*. <https://CRAN.R-project.org/package=patchwork>
- Piaget, R. (2023, Hiver). Swiss BeeMapping—Conclusion et lancement (P. Maillard, Trad.). *Bulletin*, 29, 33.
- Pinto, M. A., Henriques, D., Chávez-Galarza, J., Kryger, P., Garnery, L., Van der Zee, R., Dahle, B., Soland-Reckeweg, G., De La Rúa, P., Dall'Olio, R., Carreck, N. L., & Johnston, J. S. (s. d.). *Genetic integrity of the Dark European honey bee (Apis mellifera mellifera) from protected populations: A genome-wide assessment using SNPs and mtDNA sequence data*.
<https://doi.org/10.3896/IBRA.1.53.2.08>
- Posit team. (2024). *RStudio: Integrated Development for R*. (Version 4.3.2) [Logiciel].
<http://www.posit.co/>
- Pritsch, G. (2020). *Reconnaitre facilement 220 plantes mellifères*. Delachaux & Niestlé.

- Projet Open Source Geospatial Foundation. (2024). *Système d'information géographique QGIS* (Version 3.32.0 Lima) [Logiciel]. <https://qgis.org/>
- Radoux, J., Bourdouxhe, A., Coos, W., Dufrêne, M., & Defourny, P. (2019). Improving Ecotope Segmentation by Combining Topographic and Spectral Data. *Remote Sensing*, *11*(3), 354. <https://doi.org/10.3390/rs11030354>
- Reeb, C., & Silberfeld, T. (2021). *Les plantes mellifères*. Delachaux & Niestlé.
- Règlement sur la conservation de l'abeille noire indigène, 2 (2004).
- Requier, F., Garnery, L., Kohl, P. L., Njovu, H. K., Pirk, C. W. W., Crewe, R. M., & Steffan-Dewenter, I. (2019). The Conservation of Native Honey Bees Is Crucial. *Trends in Ecology & Evolution*, *34*(9), 789-798. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2019.04.008>
- Requier, F., Paillet, Y., Laroche, F., Rutschmann, B., Zhang, J., Lombardi, F., Svoboda, M., & Steffan-Dewenter, I. (2020). Contribution of European forests to safeguard wild honeybee populations. *Conservation Letters*, *13*(2), e12693. <https://doi.org/10.1111/conl.12693>
- Rodrigues, P. J., Gomes, W., & Pinto, M. A. (2022). DeepWings©: Automatic Wing Geometric Morphometrics Classification of Honey Bee (*Apis mellifera*) Subspecies Using Deep Learning for Detecting Landmarks. *Big Data and Cognitive Computing*, *6*(3), 70. <https://doi.org/10.3390/bdcc6030070>
- Rutschmann, B. (2022). *Doctoral thesis for a doctoral degree at the Graduate School of Life Sciences, Julius-Maximilians-Universität Würzburg, Section Integrative Biology submitted by. Graduate School of Life Sciences, Julius-Maximilians-Universität Würzburg.*
- Rutschmann, B., Kohl, P. L., & Steffan-Dewenter, I. (2023). Foraging distances, habitat preferences and seasonal colony performance of honeybees in Central European forest landscapes. *Journal of Applied Ecology*, *60*(6), 1056-1066. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.14389>
- Ruttner, F. (1988). *Biogeography and Taxonomy of Honeybees*. Springer Berlin Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-72649-1>

- Ruttner, F., Milner, E., & Dews, J. (1990). *Abeille noire Apis mellifera mellifera* (J.-M. V. Dyck, Trad.). CARI asbl.
- San Martin, G. (2023, 12 juillet). *COLOSS honey bee mortality survey 2022-2023 in Belgium*. GitHub. https://gillessanmartin.github.io/misc/COLOSS_dashboard_2022_2023_en.html#maps
- Seeley, T. D. (2017). *La démocratie chez les abeilles un modèle de société* (J. Bulleyment, Trad.). Quae.
- Seeley, T. D. (2020). *L'abeille à miel—La vie secrète des colonies sauvages* (J. Martin, Trad.). Biotope éditions.
- Seeley, T. D. (2022). *Following the Wild Bees The craft and Science of Bee Hunting*. Princeton University Press.
- Service Public de Wallonie (SPW). (2022). *La Wallonie se dote de deux Parcs Nationaux ! - [Communiqué de presse—Céline TELLIER]*. <http://tellier.wallonie.be/cms/render/live/fr/sites/gw-tellier/home/presse--actualites/communiques-de-presse/presses/la-wallonie-se-dote-de-deux-parcs-nationaux.html>
- Service Public de Wallonie (SPW). (2023a, 15 mars). *Parcelle agricole anonyme (situation 2022)*. <http://geoportail.wallonie.be/catalogue/49294570-2a8d-49ca-995c-1b0890672bc8.html>
- Service Public de Wallonie (SPW). (2023b, 18 octobre). *Orthophotos 2022 Été—Service de visualisation WMS*. <http://geoportail.wallonie.be/catalogue/f93e7cd3-44c5-4f4a-9216-917edfd02c81.html>
- SPW ARNE. (2024). *Nombre de ruches en Wallonie 2022-2023* [Communication personnelle].
- Statuts de Mellifica (2013).
- Steffan-Dewenter, I., & Kuhn, A. (2003). Honeybee foraging in differentially structured landscapes. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 270(1515), 569-575. <https://doi.org/10.1098/rspb.2002.2292>
- The Belgian LifeWatch Infrastructure | Lifewatch regional portal*. (s. d.). Consulté 17 avril 2024, à l'adresse <https://lifewatch.be/en/project-belgian-lifewatch-infrastructure>

- Tihelka, E., Cai, C., Pisani, D., & Donoghue, P. (2020). Mitochondrial genomes illuminate the evolutionary history of the Western honey bee (*Apis mellifera*). *Scientific Reports*, *10*, 14515. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-71393-0>
- Universalis, E. (2024). *Définition de allopatrique—Étymologie, synonymes, exemples*. Encyclopædia Universalis. <https://www.universalis.fr/dictionnaire/allopatrique/>
- Visick, O. D., & Ratnieks, F. L. W. (2023). Density of wild honey bee, *Apis mellifera*, colonies worldwide. *Ecology and Evolution*, *13*(10), e10609. <https://doi.org/10.1002/ece3.10609>
- Visscher, P., & Seeley, T. (1989). Bee-Lining as a Research Technique in Ecological Studies of Honey Bees. *American Bee Journal*, 536-539.
- Wickham, H., François, R., Henry, L., Müller, K., & Vaughan, D. (2023). *dplyr: A Grammar of Data Manipulation*. <https://CRAN.R-project.org/package=dplyr>
- Wickham, H. (avec Sievert, C.). (2016). *ggplot2: Elegant graphics for data analysis* (Second edition). Springer. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-24277-4>
- Wilke, C. O. (2024). *cowplot: Streamlined Plot Theme and Plot Annotations for « ggplot2 »*. <https://CRAN.R-project.org/package=cowplot>

ANNEXES

Annexe 1 - Photographie d'une station de bee-lining, auteur : Doumont Estelle



*Annexe 2 - QR-code renvoyant vers une vidéo
présentant la méthode du Bee-lining*



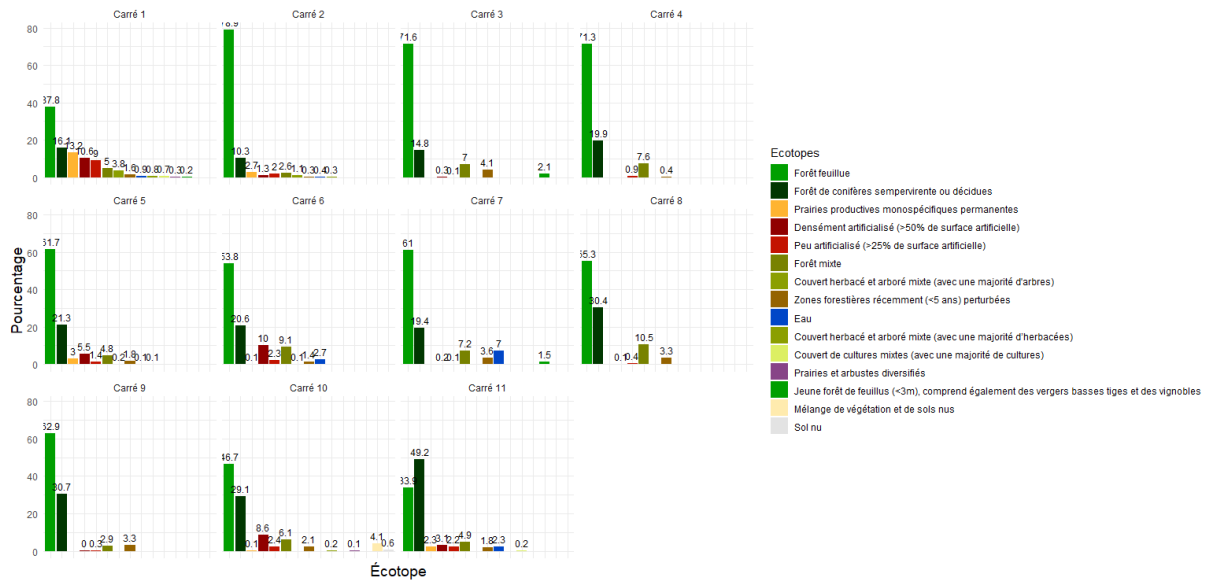
Annexe 3 - Fiche de terrain utilisée pour les séances de bee-lining. "J" correspond au phénotype jaune et "N" correspond au phénotype noir. La colonne "ID abeille" permet de noter les couleurs qui ont été utilisées pour identifier les abeilles individuellement

Date :		Lieu:		Coord GPS :		N°zone :		Chiffre zone (A-B-C) :					
Phénotype		ID abeilles thorax	Heure départ	Heure retour	Δ temps	Direction	Phénotype		ID abeilles abdomen	Heure départ	Heure retour	Δ temps	Direction
J	N						J	N					
		T	:	:	:	:			A	:	:	:	:
		T	:	:	:	:			A	:	:	:	:
		T	:	:	:	:			A	:	:	:	:
		T	:	:	:	:			A	:	:	:	:
		T	:	:	:	:			A	:	:	:	:
		T	:	:	:	:			A	:	:	:	:
		T	:	:	:	:			A	:	:	:	:
		T	:	:	:	:			A	:	:	:	:
		T	:	:	:	:			A	:	:	:	:
		T	:	:	:	:			A	:	:	:	:
		T	:	:	:	:			A	:	:	:	:
		T	:	:	:	:			A	:	:	:	:
		T	:	:	:	:			A	:	:	:	:
		T	:	:	:	:			A	:	:	:	:
Chiffre zone :			Coord GPS :			ID gardés :			Heure:				
Phénotype		ID abeilles thorax	Heure départ	Heure retour	Δ temps	Direction	Phénotype		ID abeilles abdomen	Heure départ	Heure retour	Δ temps	Direction
J	N						J	N					
		T	:	:	:	:			A	:	:	:	:
		T	:	:	:	:			A	:	:	:	:
		T	:	:	:	:			A	:	:	:	:
		T	:	:	:	:			A	:	:	:	:
		T	:	:	:	:			A	:	:	:	:
		T	:	:	:	:			A	:	:	:	:
		T	:	:	:	:			A	:	:	:	:
		T	:	:	:	:			A	:	:	:	:
		T	:	:	:	:			A	:	:	:	:
		T	:	:	:	:			A	:	:	:	:
		T	:	:	:	:			A	:	:	:	:
		T	:	:	:	:			A	:	:	:	:
		T	:	:	:	:			A	:	:	:	:
		T	:	:	:	:			A	:	:	:	:
		T	:	:	:	:			A	:	:	:	:
		T	:	:	:	:			A	:	:	:	:

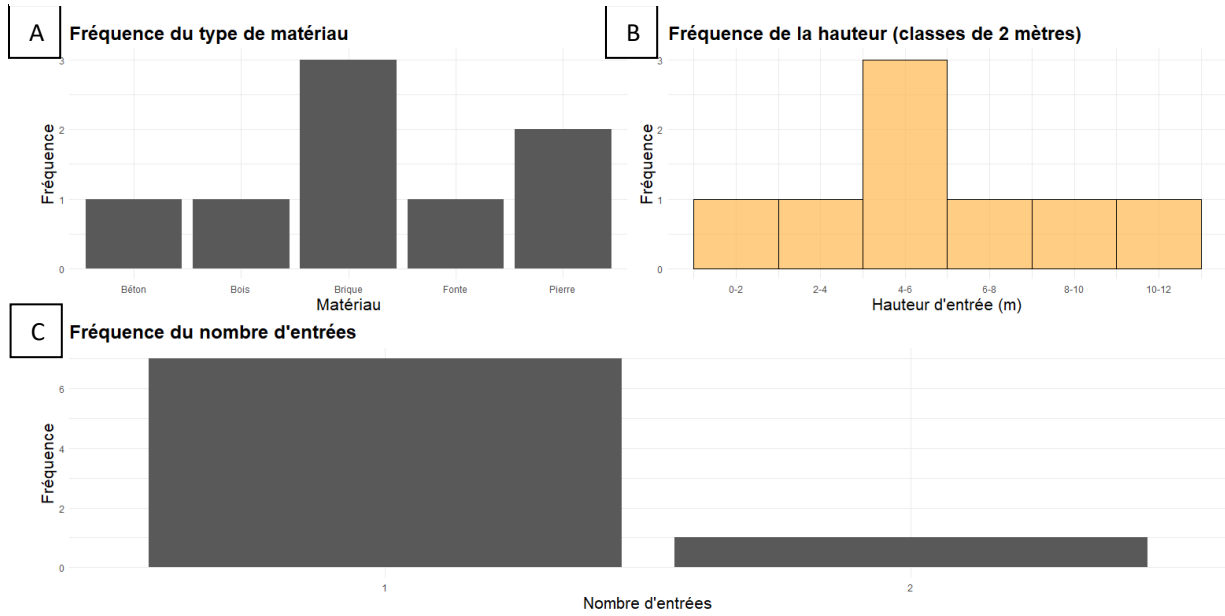
Annexe 4 - Ensemble des écotopes définis par LifeWatch avec le code et la couleur correspondants. Tableau adapté de (Radoux et al., s. d.)

10	Périodiquement herbacé
60	Forêt feuillue
61	Jeune forêt de feuillus (<3m), comprend également des vergers basses tiges et des vignobles
70	Forêt de conifères sempervirente ou décidues
71	Jeune forêt de conifères sempervirente ou décidues (<3m), incluant les sapins de Noël
130	Prairies productives monospécifiques permanentes
135	Prairies et arbustes diversifiés
180	Arbustes et herbacées inondés
190	Densément artificialisé (>50% de surface artificielle)
195	Peu artificialisé (>25% de surface artificielle)
200	Sol nu
210	Eau
90	Forêt mixte
100	Couvert herbacé et arboré mixte (avec une majorité d'arbres)
110	Couvert herbacé et arboré mixte (avec une majorité d'herbacées)
150	Mélange de végétation et de sols nus
120	Zones forestières récemment (<5 ans) perturbées (coupes à blanc avec végétation <1m), comprenant les trouées forestières
30	Couvert de cultures mixtes (avec une majorité de cultures)
40	Couvert de cultures mixtes (avec une minorité de cultures)

Annexe 5 - Répartition des écotopes dans chaque carré de la zone d'étude



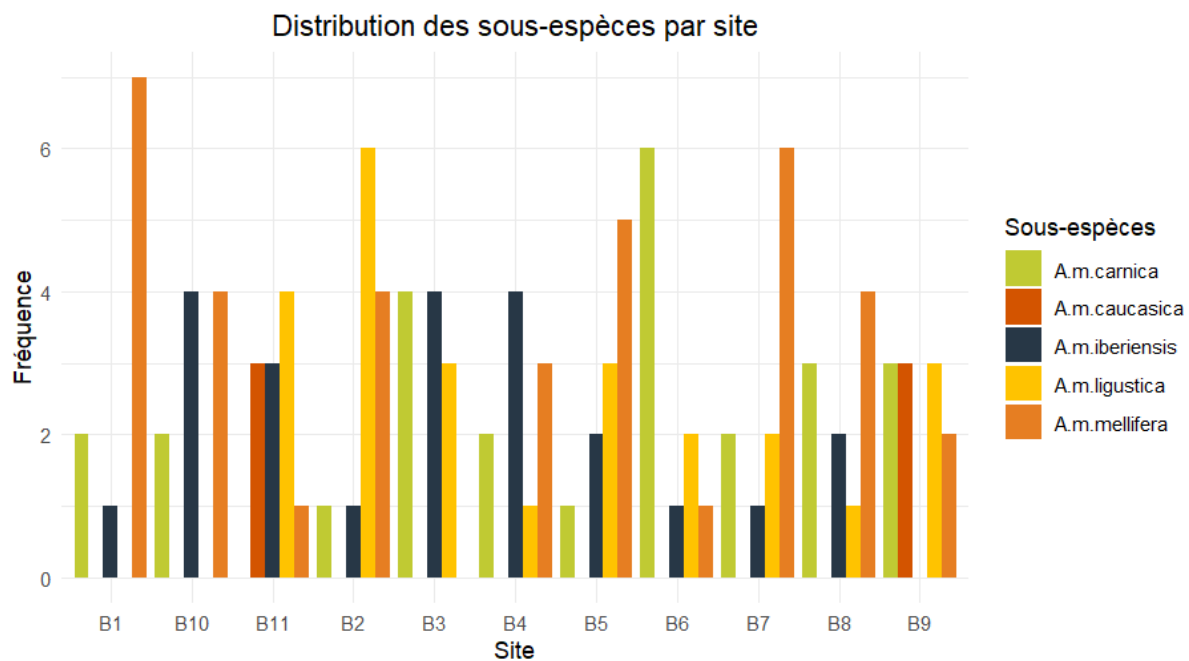
Annexe 6 - A : Répartition des différents matériaux des cavités de nidification utilisées par *Apis mellifera* ; B : fréquence de la hauteur des cavités de nidification. C : fréquence du nombre d'entrées des cavités de nidification.



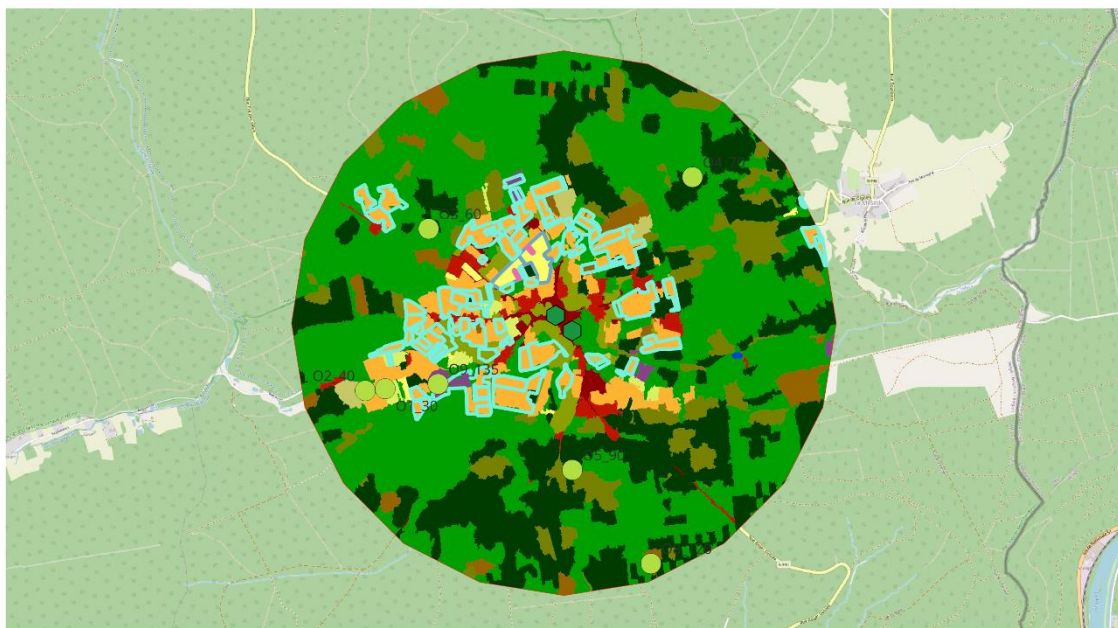
Évolution de l'occupation des cavités en 2024



Annexe 8 - Distribution des sous-espèces identifiées par morphométrie géométrique de l'aile antérieure droite par site (carré de 1,5 km de côté) étudié.

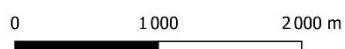
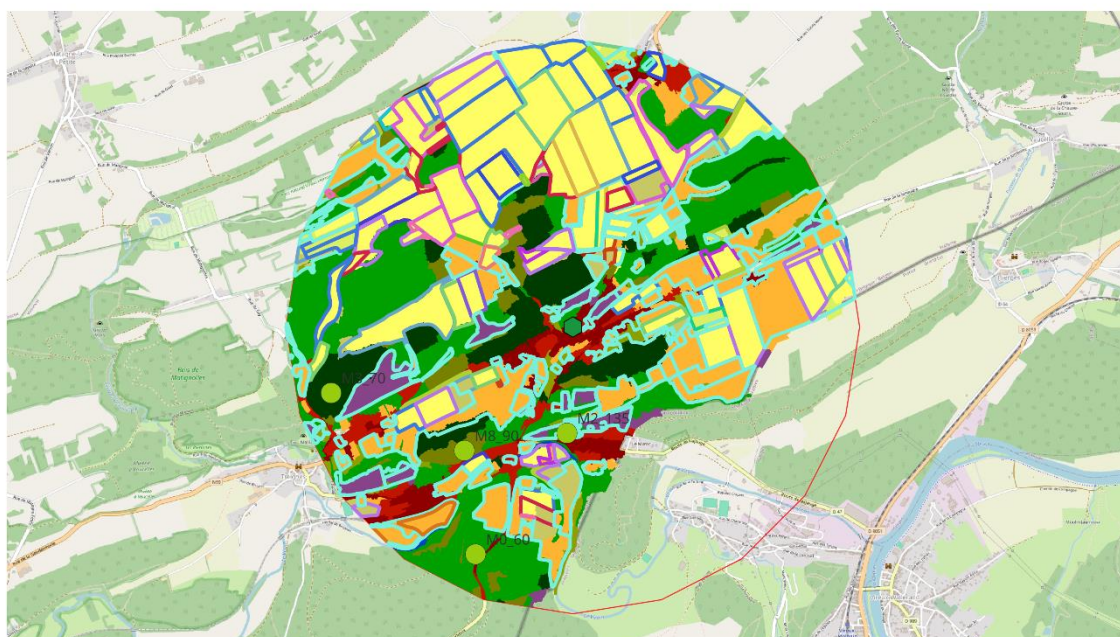


Écotopes dans un rayon de 2 km autour des colonies - Oignies-en-Thiérache

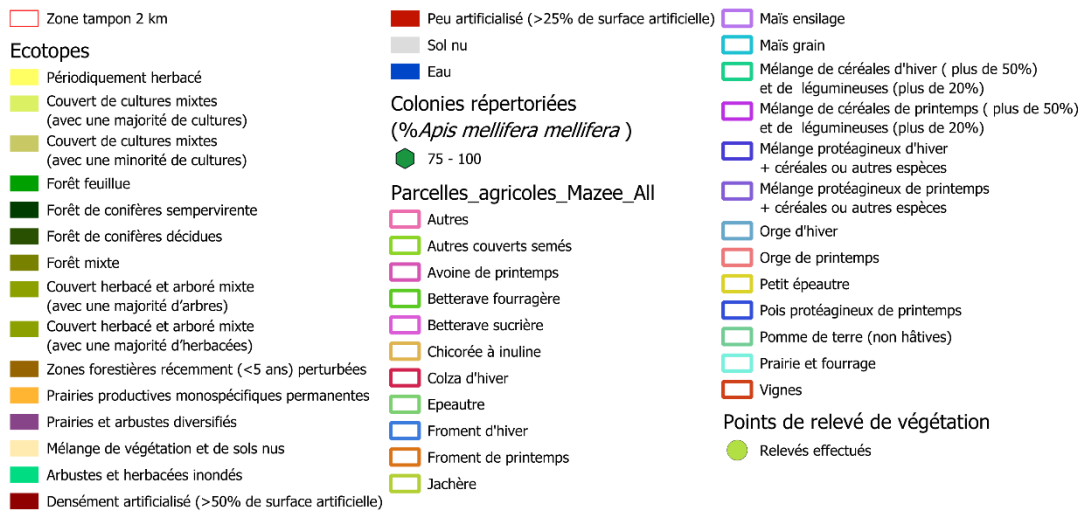


Auteur : Estelle Doumont
Source : Cartoweb,
LifeWatch 2022
SCR: EPSG:31370
Juillet 2024

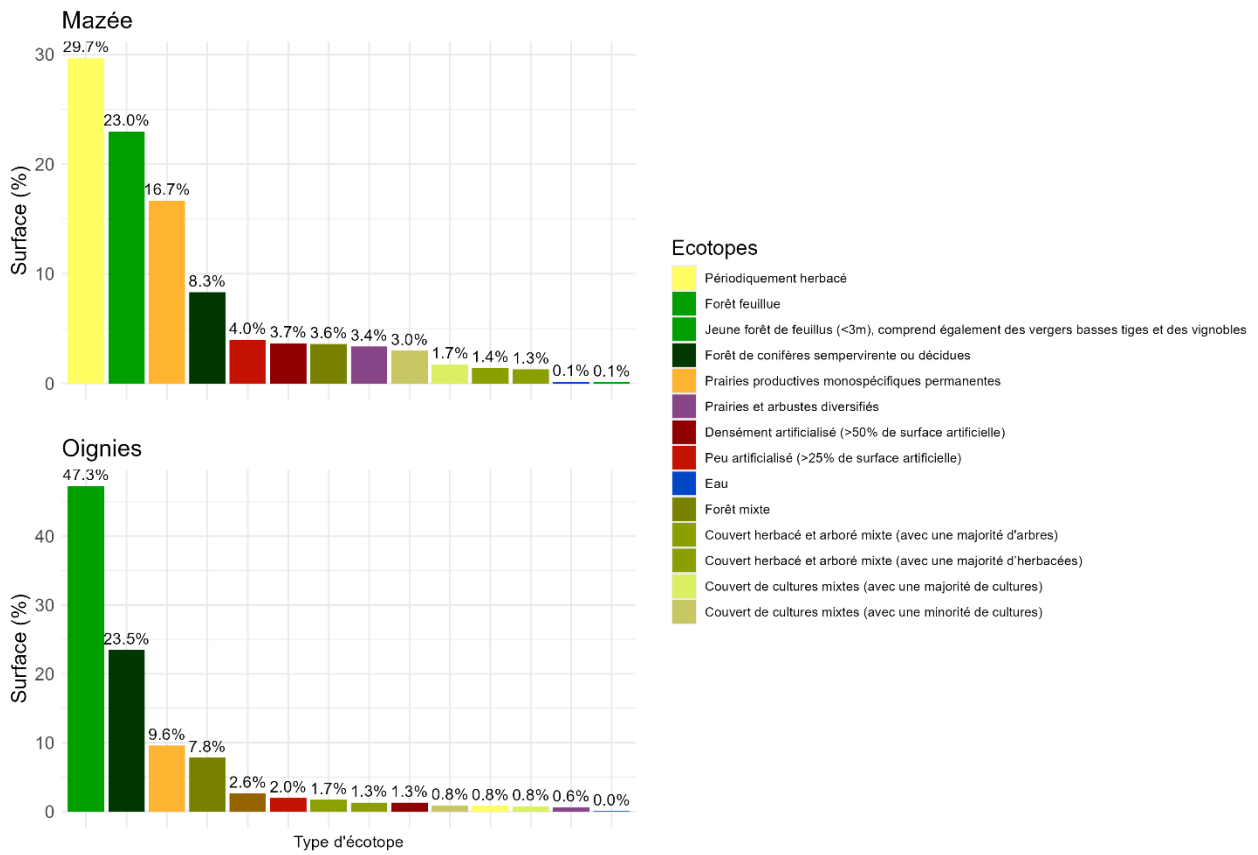
Écotopes dans un rayon de 2 km autour des colonies - Mazée



Auteur : Estelle Doumont
Source : Cartoweb,
LifeWatch 2022
SCR: EPSG:31370
Juillet 2024



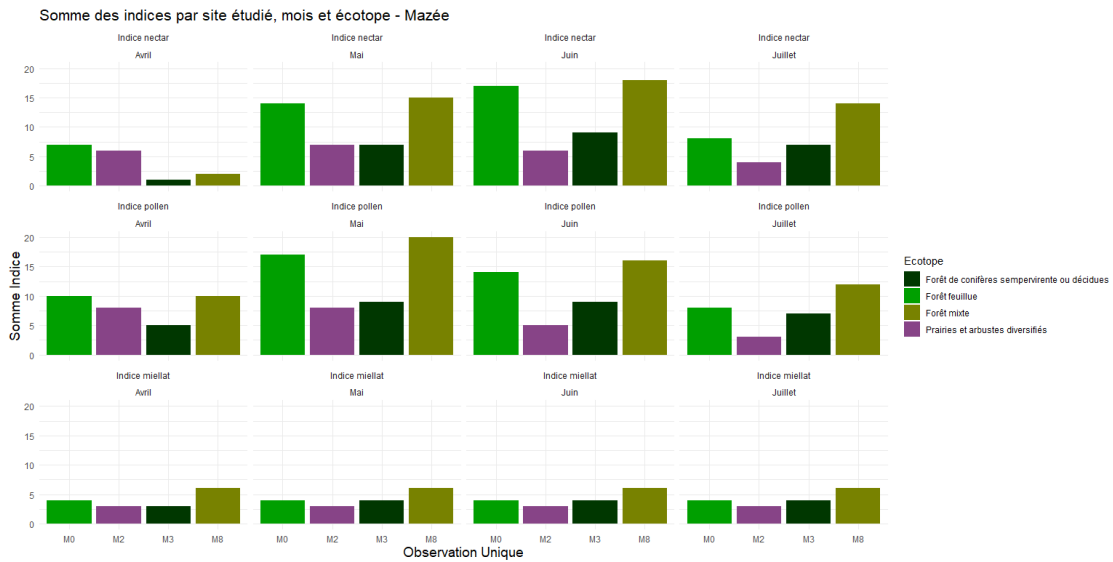
Annexe 10 - Répartition des différents écotopes dans les régions de Mazée et Oignies-en-Thiérache



Annexe 11 - Indices mellifères par écotope et par mois - Mazée

Mois	Site d'étude	Écotope	Indice nectar	Indice pollen	Indice miellat
Avril	M0	Forêt feuillue	7	10	4
Avril	M2	Prairies et arbustes diversifiés	6	8	3
Avril	M3	Forêt de conifères sempervirente ou décidues	1	5	3
Avril	M8	Forêt mixte	2	10	6
Juillet	M0	Forêt feuillue	8	8	4
Juillet	M2	Prairies et arbustes diversifiés	4	3	3
Juillet	M3	Forêt de conifères sempervirente ou décidues	7	7	4
Juillet	M8	Forêt mixte	14	12	6
Juin	M0	Forêt feuillue	17	14	4
Juin	M2	Prairies et arbustes diversifiés	6	5	3
Juin	M3	Forêt de conifères sempervirente ou décidues	9	9	4
Juin	M8	Forêt mixte	18	16	6
Mai	M0	Forêt feuillue	14	17	4
Mai	M2	Prairies et arbustes diversifiés	7	8	3
Mai	M3	Forêt de conifères sempervirente ou décidues	7	9	4
Mai	M8	Forêt mixte	15	20	6

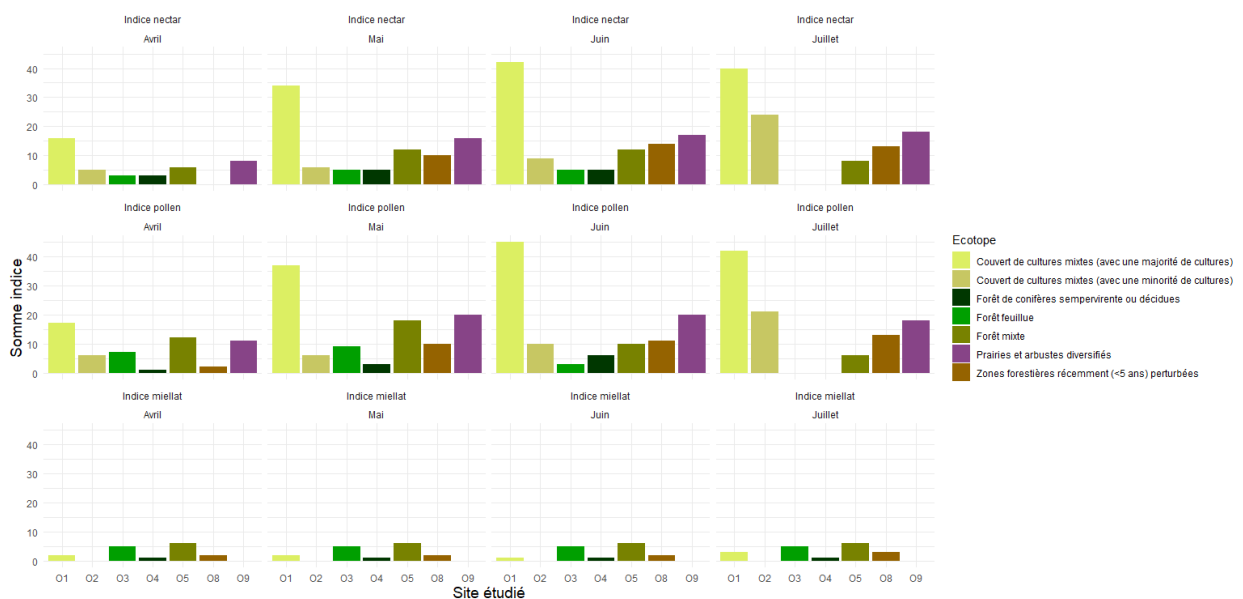
Annexe 12 - Représentation graphique des indices mellifères par écotope et par mois - Mazée



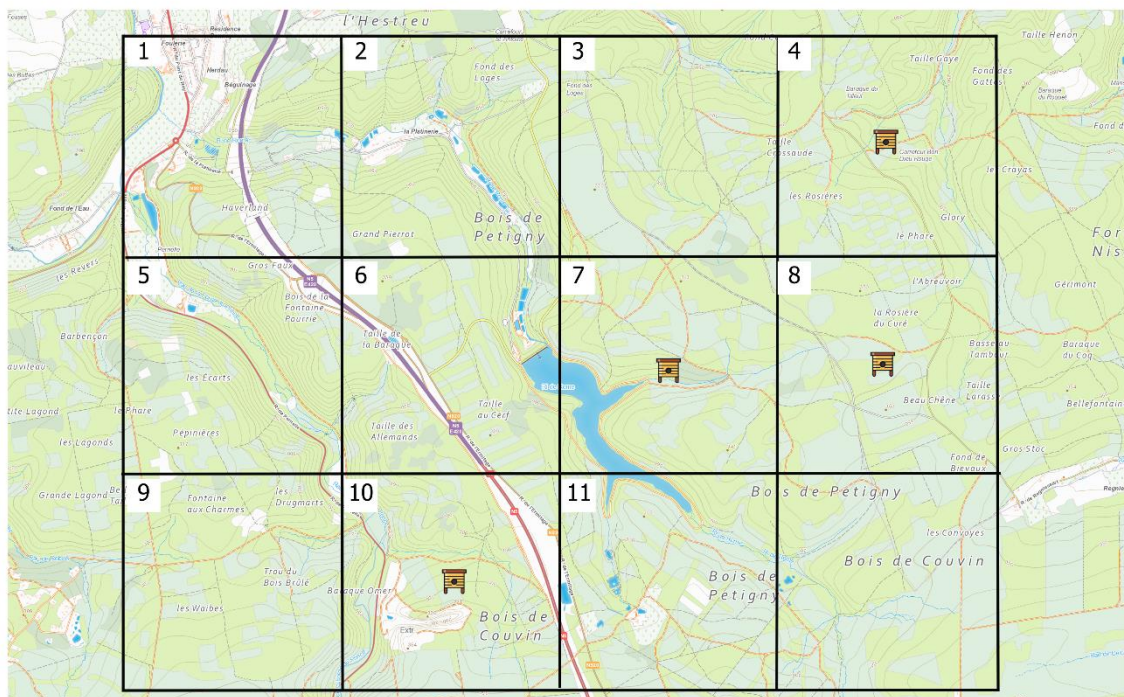
Annexe 13 - Indices mellifères par écotope et par mois - Oignies

Mois	Site d'étude	Écotope	Indice nectar	Indice pollen	Indice miellat
Avril	O1	Couvert de cultures mixtes (avec une majorité de cultures)	16	17	2
Avril	O2	Couvert de cultures mixtes (avec une minorité de cultures)	5	6	0
Avril	O3	Forêt feuillue	3	7	5
Avril	O4	Forêt de conifères sempervirente ou décidues	3	1	1
Avril	O5	Forêt mixte	6	12	6
Avril	O8	Zones forestières récemment (<5 ans) perturbées	0	2	2
Avril	O9	Prairies et arbustes diversifiés	8	11	0
Juillet	O1	Couvert de cultures mixtes (avec une majorité de cultures)	40	42	3
Juillet	O2	Couvert de cultures mixtes (avec une minorité de cultures)	24	21	0
Juillet	O3	Forêt feuillue	0	0	5
Juillet	O4	Forêt de conifères sempervirente ou décidues	0	0	1
Juillet	O5	Forêt mixte	8	6	6
Juillet	O8	Zones forestières récemment (<5 ans) perturbées	13	13	3
Juillet	O9	Prairies et arbustes diversifiés	18	18	0
Juin	O1	Couvert de cultures mixtes (avec une majorité de cultures)	42	45	1
Juin	O2	Couvert de cultures mixtes (avec une minorité de cultures)	9	10	0
Juin	O3	Forêt feuillue	5	3	5
Juin	O4	Forêt de conifères sempervirente ou décidues	5	6	1
Juin	O5	Forêt mixte	12	10	6
Juin	O8	Zones forestières récemment (<5 ans) perturbées	14	11	2
Juin	O9	Prairies et arbustes diversifiés	17	20	0
Mai	O1	Couvert de cultures mixtes (avec une majorité de cultures)	34	37	2
Mai	O2	Couvert de cultures mixtes (avec une minorité de cultures)	6	6	0
Mai	O3	Forêt feuillue	5	9	5
Mai	O4	Forêt de conifères sempervirente ou décidues	5	3	1
Mai	O5	Forêt mixte	12	18	6
Mai	O8	Zones forestières récemment (<5 ans) perturbées	10	10	2
Mai	O9	Prairies et arbustes diversifiés	16	20	0

Annexe 14 – Représentation graphique des indices mellifère par écotope et par mois - Oignies



Annexe 15 - Cartographie de proposition d'emplacements de ruches-troncs sur le territoire du Parc national de l'Entre-Sambre-et-Meuse



 Ruches-troncs

0 750 1500 m



Auteur : Estelle Doumont
 Source : Cartoweb, image
 ruche par Sandiastrena
 SCR : EPSG:31370
 Août 2024