

COMMUNAUTÉ FRANÇAISE DE BELGIQUE
UNIVERSITÉ DE LIÈGE – GEMBLOUX AGRO-BIO TECH

CONTRIBUTION À L'ÉTUDE DE LA DIVERSITÉ DES ABEILLES SOCIALES (APINI ET MELIPONINI) ET LEURS PARASITES AU GABON

Edgard Cédric FABRE ANGUILET

Essai présenté en vue de l'obtention du grade de docteur en sciences agronomiques et
ingénierie biologique

Promoteur(s) : Prof. Frédéric FRANCIS - Prof. Toussaint BENGONE NDONG

Année : 2017

Copyright. Aux termes de la loi belge du 30 juin 1994, sur le droit d'auteur et les droits voisins, seul l'auteur a le droit de reproduire partiellement ou complètement cet ouvrage de quelque façon et forme que ce soit ou d'en autoriser la reproduction partielle ou complète de quelque manière et sous quelque forme que ce soit. Toute photocopie ou reproduction sous autre forme est donc faite en violation de la dite loi et des modifications ultérieures.

Résumé

FABRE ANGUILET Edgard Cédric (2017). Contribution à l'étude de la diversité des abeilles sociales (Apini et Meliponini) et leurs parasites au Gabon. **Thèse de doctorat. Gembloux, Belgique. Université de Liège – Gembloux Agro-Bio Tech, 169 p., 9 tabl., 35 fig.**

Les abeilles sociales Meliponini et Apini (Apidae: Apinae) contribuent à la pollinisation des plantes à fleurs et à l'amélioration des rendements agricoles. Elles font soit l'objet d'un élevage soit d'un pillage pour utiliser les produits de la ruche. La diversité, la répartition et l'abondance de ces abeilles dépendent de l'écosystème dans lequel elles évoluent. Les aspects liés à la diversité des espèces, à la distribution, à la biologie, à l'écologie et à l'abondance des nids de même que la situation des parasites majeurs sont peu documentés dans de nombreuses régions en Afrique, dont la région d'Afrique centrale. Au vu des nombreuses activités humaines menées dans cette région et du fait que la perte d'habitat et la prédation des nids par l'homme constituent des menaces pour ces abeilles, il convient d'apporter un éclairage sur ces insectes en Afrique centrale. C'est dans ce but que le présent travail a été réalisé afin de contribuer à une meilleure connaissance des relations entre diversité spécifique, abondance des abeilles sociales (Apini et Meliponini) et le niveau de perturbation de l'habitat au Gabon. De même, une attention particulière a été portée sur la situation des parasites majeurs dans ce pays. Les résultats obtenus ont contribué dans un premier temps à clarifier la taxonomie des abeilles sociales étudiées en Afrique et ont mis également en avant l'effet négatif de la perte d'habitat forestier sur la diversité spécifique et la composition d'espèces. Aussi, les espèces qui semblent être fortement impactées par la perte d'habitat forestier ont été identifiées. L'exploitation forestière sélective n'a pas eu d'effet sur la communauté d'espèces. L'étude sur la densité des nids a montré principalement que la distance au cours d'eau avait un effet significatif sur la présence d'un nid et que la méthode d'inventaire par comptage des nids présente une faible capacité de détection de ceux-ci. Concernant les parasites, l'étude a mis en évidence la présence de deux espèces au Gabon : le *Varroa destructor* Anderson & Trueman et *Aethina tumida* Murray. Toutefois, les taux d'infestation restent faibles dans les colonies sauvages étudiées. Concernant la domestication de *Meliponula bocandei* Spinola, le parasite *A. tumida* est à l'origine du taux élevé d'échec. L'ensemble des résultats de cette étude constituent une base dans la mise en place d'une stratégie de préservation des communautés d'espèces d'abeilles Apini et Meliponini au Gabon, mais aussi dans le cadre d'une domestication de celles-ci.

Abstract

FABRE ANGUILET Edgard Cédric (2017). Contribution to the study of the diversity of social bees (Apini and Meliponini) and their parasites in Gabon. **Doctoral thesis. Gembloux, Belgium – University of Liege – Gembloux Agro-Bio Tech, 169 p., 9 tabl., 35 fig.**

The Meliponini and Apini (Apidae: Apinae) contribute to the pollination of flowering plants with improvement of agricultural yields. They are also the subject of beekeeping or nest predation in order to obtain their products. The diversity, distribution and abundance of these bees depends on the ecosystem in which they operate. The aspects related to species diversity, distribution, biology, ecology and abundance of nests, as well as the situation of major pests, are poorly documented in many regions of Africa, including central Africa. Given numerous human activities in this area and the fact that habitat loss and nest predation represented a threat to Apini and Meliponini, it is necessary to shed light on these bees in Central Africa. The present work has been carried out in order to contribute to a better knowledge of the relations between species diversity, abundance of social bees (Apini and Meliponini) and the level of habitat disturbance in Gabon. As well as an emphasis on the situation of major pests in this country. The results obtained helped first to clarify the taxonomy of social bees studied in Africa. These results also highlighted the negative effect of forest habitat loss on species diversity and species composition. As species that appear to be heavily impacted by the loss of forest habitat have been identified. Selective logging had no effect on the species community. The nest density survey showed mainly that the distance to the watercourse had a significant effect on the presence of the nest and that the inventory method by nest counting has a low nest detection capacity. Concerning parasites, the study revealed the presence of two parasites in Gabon: the *Varroa destructor* Anderson & Trueman and *Aethina tumida* Murray. However, infestation rates remain low in the wild colonies studied. As for the domestication of *Meliponula bocandei* Spinola, the *A. tumida* parasite was responsible for the high rate of failure. The results can form the basis for the implementation of a strategy for the conservation of species communities of Apini and Meliponini in Gabon, but also domestication of these species.

Dédicace

Je tiens à dédier ce travail :

- ✓ *À l'œuvre et au combat de toute une vie, celui de ma mère Jeanne EGUËYÈ épouse MEDENG*
- ✓ *À une femme qui n'aura pas été là pour voir le travail de son fils, ma mère Feue Christiane EGUËYÈ*
- ✓ *À une femme qui a été une source d'inspiration et de réflexion feue Bernadette NGOUESSIKI ONEWIN*
- ✓ *À mon fils, Clément FABRE ANGVILET pour les efforts auxquels il a dû consentir durant mon absence*
- ✓ *À tous les membres du corps enseignant qui ont œuvré à mon épanouissement intellectuel*

Financement

La présente thèse a été réalisée grâce au soutien financier de l'Etat Gabonais et de la Commission Economique du Bétail, de la Viande et des Ressources Halieutiques (CEBEVIRHA).



Avec la collaboration des partenaires :



Remerciements

Le présent travail est le fruit de la collaboration et le concours de nombreuses institutions et de nombreuses personnes. Il m'est difficile de trouver suffisamment de mots pour leur exprimer ma gratitude, tant leur apport, durant toutes ces années a été crucial pour l'aboutissement de ce travail.

J'exprime mes plus sincères remerciements à l'endroit de :

- ✓ Professeur Frédéric FRANCIS, mon promoteur et également responsable de l'Unité d'Entomologie Fonctionnelle et Evolutive, pour avoir accepté de diriger et d'encadrer mon travail. Je lui suis particulièrement reconnaissant pour m'avoir prodigué des conseils, des orientations, et avoir veillé au bon déroulement des travaux relatifs à cette thèse en dépit de ses nombreuses responsabilités ;
- ✓ Professeur Eric HAUBRUGE, pour son accueil au sein de l'Unité d'Entomologie Fonctionnelle et Evolutive afin de réaliser cette thèse ;
- ✓ Professeur Toussaint BENGONE NDONG, copromoteur, pour ses conseils et ses orientations durant ces années de thèse. Je tiens particulièrement à le remercier également pour son soutien, ses encouragements et tous les efforts qu'il a mis en œuvre pour me permettre de mener à bien mes travaux de thèse ;
- ✓ Docteur Kim Bach NGUYEN, pour son accueil au sein de l'Unité d'Entomologie Fonctionnelle et Evolutive et ses conseils et orientations quant à la réalisation de mes travaux de thèse ;
- ✓ Professeur Auguste NDOUTOUME NDONG, Directeur de l'Institut de Recherches Agronomiques et Forestières, pour son soutien administratif, ses conseils et ses encouragements ;
- ✓ Professeur Daniel Franck IDIATA, Commissaire général à la recherche du Centre National de la Recherche Scientifique et Technologique, pour son soutien administratif et ses encouragements ;
- ✓ Professeur Jean-Louis DOUCET, pour m'avoir fait bénéficier des nombreuses facilités auprès des structures partenaires (PRECIOUS WOODS/Gabon, NATURE Plus) et pour ses conseils et orientations ;
- ✓ Professeur Yves BROSTAUX, pour sa disponibilité et ses précieux conseils et orientations dans l'utilisation des concepts et outils statistiques ;

- ✓ Professeur Philippe LEJEUNE, Docteur Taofic ALABI, Docteur François VERHEGGEN, Alain PAULY pour leur disponibilité, leurs conseils et orientations méthodologiques et scientifiques.

Ce travail a bénéficié de l'encadrement scientifique des membres du comité de thèse composé des Professeurs Frédéric FRANCIS, Toussaint BENGONE NDONG, Jean-Louis DOUCET, Philippe LEJEUNE, Grégory MAHY, du Docteurs Kim BACH NGUYEN et de Monsieur Alain PAULY. Messieurs, recevez toute ma reconnaissance pour votre disponibilité, vos critiques et vos commentaires avisés. Merci aux rapporteurs de cette thèse de doctorat pour avoir accepté cette lourde tâche.

Je souhaite remercier les autorités gabonaises pour leur soutien administratif, financier et logistique ; la Commission Economique du Bétail, de la Viande et des Ressource Halieutique pour son soutien financier ; et les structures partenaires Precious Woods/Gabon et l'Agence National des Parcs Nationaux (ANPN) pour leur soutien technique et logistique.

J'exprime toute ma gratitude à tous ceux qui ont partagé mon quotidien sur le terrain et qui m'ont permis de mener à bien mes travaux de terrain, tout particulièrement : Armand-Ghislain BOUBADY (NATURE plus/Gabon) ; Jean Louis NZENGUI, Olivier MOUGANDZA, Ghislain M'VONG et Léo MBOUMBA (Precious Woods/Gabon) ; et Albert KOUMBA.

Aussi, j'adresse tous mes sincères remerciements à toutes les personnes qui ont œuvré de prêt ou de loin à la réalisation de cette thèse de doctorat, et particulièrement à :

- ✓ Frédéric OBER et Maurus DECURTINS (Directeurs généraux, Precious Woods/Gabon), Philippe JEANMART et Patrick GEFFROY (Directeurs de site, Precious Woods/Gabon), Gérard AUDIBERT, Frédéric DROUET pour m'avoir permis de réaliser mes travaux de terrain dans la concession forestière de Precious Woods/Gabon et pour leur soutien logistique et technique ;
- ✓ Docteur Lee WHITE, Secrétaire exécutif de l'ANPN, Kathryn JEFFERY, pour l'accès dans les parcs nationaux gérés par l'ANPN, ainsi qu'à l'ensemble des conservateurs et le personnel pour le soutien logistique et technique ;
- ✓ Madame Félélicité ONGOUORI GOUBILI, Ambassadeur du Gabon auprès du Royaume de Belgique, et l'ensemble des membres du personnel de l'Ambassade du Gabon auprès du Royaume de Belgique pour leur disponibilité et leur soutien durant toutes ces années ;

- ✓ Dieudonné MOUBAMBA, Natacha EFFOUA, Nelly DOGBE épouse NDONG MBIE, Gervais KOUDAOU et tous les autres collaborateurs de l'IRAF et du CENAREST pour leur soutien et leurs conseils ;
- ✓ Docteur Hilarion MATHOUET (Directeur Adjoint IPHAMETRA), Wilfrid ESSONE ABONDO, Franck BIGNUMBA MOMBO pour leur soutien logistique ;
- ✓ L'ensemble des doctorants et du personnel de l'Unité d'Entomologie Fonctionnelle et Evolutive (présents et ceux ayant quitté l'unité) pour les conseils, les échanges et la bonne humeur. Sans être exhaustif, je citerai : Gil LECLERCQ., Boni YAROU, Emilie BOSQUEE, Rudy CAPARROS MEGIDO, Pauline LEGRAND, Antoine BOUILLIS, Gregoire NOËL, Solène BLANCHARD, Marcelline NYIRANDUWAMUNGU, Fara RAHARIMALALA, Slimane BOUKRAA, Catherine WUILLAUME, Jeannine BORTELS, Nicolas PONCELET.

Je remercie également mes compatriotes et mes amis dont la compagnie, la bonne humeur et les encouragements ont largement contribué à la bonne marche de cette thèse. Je pense à Sandrine BAYENDI LOUDIT, Phidias DZAOMUHO, Morgane KOSTUJ, Patrick BYAMBAS, Christian MOUPELA, Lidwine MVOUNWA ATANI épouse OYOMBO OBOLO, Eric Anicet OYOMBO OBOLO, René-Noël POLIGUI, Steeve NGAMA, Samson Daudet MEDZA MVE, Glaine LOUEMBE, Olympe KASSA, Nestor CHARBET, Marcel OKOUYI M'FOUMOU W'OTARI.

Enfin je tiens à remercier tout particulièrement mes proches :

- ✓ Candice TAMINGA MVOU, une femme qui a su être là pour moi toutes ces années ;
- ✓ La famille EGUEYE et NGOUESSI ONEWIN, pour leur amour, leur soutien et les bons moments partagés.
- ✓ Sylvestre MEDENG pour ses précieux conseils durant ma vie ;
- ✓ La famille Hilarion NGOUA MEDENG pour leur amour, leur soutien et conseil. Je pense particulièrement à Hervé NGOUA MEDENG qui n'a ménagé aucun n'effort pour me soutenir durant mes travaux de thèse ;
- ✓ François FABRE pour ses nombreux conseils ;
- ✓ La famille FABRE pour leur amour, leur soutien et encouragement durant toutes ces années.

Table des matières

Première Partie : Introduction.....	15
Chapter 1. Introduction générale	17
Deuxieme Partie : Synthèse Bibliographique	29
Chapter 2. Meliponini and Apini in Africa (Apidae: Apinae): a review on the challenges and stakes bound to their diversity and their distribution	31
Troisieme Partie : Diversité et Densité de Nids	53
Chapter 3. Description de <i>Liotrigona gabonensis</i> sp. nov., et quelques corrections à la synonymie des espèces africaines de mélipones (Hymenoptera : Apoidea : Apinae : Meliponini)	55
Chapter 4. Présentation des zones d'étude.	69
Chapter 5. Effect of anthropogenic disturbance on species composition of highly eusocial bees in the Congo Basin forest (Case study of Gabon) - and assessment of sampling method. ...	75
Chapter 6. Preliminary study of nest density and nest detection of honey bee and stingless bee in two habitat types in Gabon.....	97
Quatrieme Partie : Contribution à l'étude de la prévalence du Varroa et du petit coléoptère des ruches, ainsi que l'impact de ce dernier sur la domestication	113
Chapter 7. First survey on prevalence and infestation rates of Varroa mites in Gabon ...	115
Chapter 8. Parasitisme d' <i>Apis mellifera adansonii</i> (Latreille 1804) et de <i>Meliponula bocandei</i> (Spinola 1853) par <i>Aethina tumida</i> (Murray 1867): premier recensement au Gabon et impact sur la domestication.....	127
Cinquième Partie : Conclusions Générales et Perspectives	145
Chapter 7. Conclusions générales et perspectives	147

Avant-propos

Le présent travail vise à mieux comprendre les interactions entre la communauté d'espèces d'abeilles Apini et Meliponini et leurs habitats au Gabon. Ces abeilles, à l'instar d'autres pollinisateurs, contribuent au maintien des écosystèmes et elles en dépendent également. Les Apini et les Meliponini sont largement distribuées sur le territoire gabonais et leurs habitats sont soumis à des pressions anthropiques. Au vu du peu de données scientifiques disponibles, il est opportun d'approfondir les connaissances relatives à cette communauté d'espèces. Cette étude a donné lieu à une production scientifique composée des publications et communications suivantes :

Article(s) et chapitre(s) publié(s) ou accepté(s)

Article 1 : Fabre Anguilet, E. C., Nguyen, B. K., Bengone Ndong, T., Haubruge, E., Francis, F. 2015. Meliponini and Apini in Africa (Apidae: Apinae): a review on the challenges and stakes bound to their diversity and their distribution. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 19(4), 382-391.

Article 2 : PAULY A. et Fabre Anguilet, E. C. 2013. Description de *Liotrigona gabonensis* sp. nov., et quelques corrections à la synonymie des espèces africaines de mélipones (Hymenoptera : Apoidea : Apinae : Meliponini). *Belgian Journal of Entomology*, 15, 1-13

Article 3 : Fabre Anguilet, E. C., Alabi T., Bengone Ndong, T., Nguyen, B. K., Haubruge, E., Francis, F. 2016. First survey on prevalence and infestation rates of *Varroa* mites in Gabon. *Comm. Appl. Biol. Sci*, Ghent University, 81/3, 299-305

Article 4 : Fabre Anguilet, E. C., Alabi T., Haubruge, E., Nguyen, B. K., Bengone Ndong, T., Francis, F. 2017. Parasitisme d'*Apis mellifera adansonii* (Latreille 1804) et de *Meliponula bocandei* (Spinola 1853) par *Aethina tumida* (Murray 1867): premier recensement au Gabon et impact sur la domestication. *Entomologie Faunistique*, 70, 3-11

Chapitre: Fabre Anguilet E. C., Alabi T., Nguyen Bach K., Ndong Bengone T., Haubruge E., Francis F. (2016). Stingless bees (Hymenoptera: Apoidea: Meliponini) from Gabon. In *Pot-Pollen in Stingless Bee Melittology*, Springer. (Accepted).

Articles soumis

Fabre Anguilet, E. C., Alabi T., Bengone Ndong, T., Haubruge, E., Nguyen, B. K., Francis, F. Effect of anthropogenic disturbance on species composition of highly eusocial bees in the Congo Basin forest (Case study of Gabon) - and assessment of sampling method. *African Entomology*, submitted.

Fabre Anguilet, E. C., Nguyen, B. K., Alabi T., Bengone Ndong, T., Haubruge, E., Francis, F. Preliminary study of nest density and nest detection of honey bee and stingless bee in two habitat types in Gabon. *African Journal of Ecology*, submitted

Communications scientifiques

Fabre Anguilet, E. C., Bengone Ndong, T., Francis, F., Nguyen, B. K., Haubruge, E. Evaluation of two capture methods in the assessment of species richness of eusocial bees in Gabon. *21st Benelux Congress of Zoology*. Liege, Belgium. 12 &13 December 2014.

Fabre Anguilet, E. C., Bengone Ndong, T., Nguyen, B. K., Haubruge, E., Francis, F. Assessment of the species richness of highly eusocial bees according to habitat in Gabon. *11th Meeting Ecology and Behaviour*. 17-21 May 2015.

Fabre Anguilet, E. C., Alabi T., Bengone Ndong, T., Nguyen, B. K., Haubruge, E., Francis, F. Effectiveness of nest survey method of Honey bees and Stingless bees to study their diversity according to habitat. *3rd Young Natural History Scientists Meeting*. 2-6 February 2016.

Fabre Anguilet, E. C., Alabi T., Bengone Ndong, T., Nguyen, B. K., Haubruge, E., Francis, F. First survey on prevalence and infestation rates of Varroa mites in Gabon. *68th International Symposium on crop Protection*. 17 May 2016.

Liste des figures

Chapter 1

Figure 1 : Pollinisation d'une fleur de *Tunera sp* par *Dactylurina staudingeri*.

Figure 2 : Répartition mondiale des Meliponini (source : Kwapong *et al.*, 2010).

Chapter 2

Figure 1 Nest of *Meliponula bocandei* in a tree. A: nest entrance; B: cerumen pot filled with pollen; C: cerumen pot filled with honey

Figure 2. Nest of *Meliponula nebulata* in a termite mound. A: nest entrance; B: termite mound; C: brood cells; D: cerumen pot filled with pollen

Figure 3. Nest of *Meliponula nebulata* in a tree. A: brood cells; B: cerumen pot filled with pollen or honey.

Figure 4. Some Meliponini species (adapted from Pauly *et al.*, 2013c). A: *Meliponula bocandei*; B: *Meliponula erythra*; C: *Meliponula nebulata*; D: *Dactylurina staudingeri*; E: *Meliponula becarii*.

Figure 5. Distribution of Meliponini in some locations in Gabon (adapted from Pauly, 1998; Eardley, 2004; Boesch *et al.*, 2009; Pauly *et al.*, 2013b).

Figure 6. Forest Management in Gabon in 2013 (adapted from WRI, 2013). FCSD: Forestry Concession under Sustainable Development.

Chapter 3

Figure 1. *Liotrigona gabonensis* sp. nov., holotype and paratype du Gabon

Figure 2. Carte de répartition de *Liotrigona gabonensis* sp. nov.

Figure 3. *Liotrigona bouyssoui*, lectotype v de Rio Mouny (MNHNP).

Figure 4. Têtes de *Liotrigona* (a-f) et *Hypotrigona* (g-h), avec détails de la pilosité du front vue au microscope électronique.

Figure 5. Metasoma de *Meliponula ferruginea*, *M. erythra* et *M. togoensis*.

Figure 6. Genitalia de *Meliponula erythra*, *M. togoensis* et *M. ferruginea*.

Figure 7. Nid de *Liotrigona gabonensis* sp. nov.

Figure 8. Nid de *Liotrigona gabonensis*, sp. Nov

Chapter 4

Figure 1 : Carte de la végétation du Gabon (source : Barret, 1983)

Chapter 5

Figure1 Study locations in Gabon.

Figure2 Sampling coverage: (a) according to sampling method, (b) according to location and sampling method.

Figure3 Species accumulation curves based on location. Vertical bars represent the standard deviation.

Chapter 6

Figure 1 Study locations in Gabon. (a) Kougouleu whose forest habitat has been disturbed during the last thirty years by food crops. (b) Logging concession of Precious Woods Gabon.

Figure 2 Extraction of spatial data from distances, forest cover and altitude.

Figure 3 Environmental (a) and anthropogenic (b) data according to study area. The distances and the altitude are expressed in meters and the forest cover in percentages.

Chapter 7

Figure 1. Study locations in Gabon: Kougouleu and PW (Logging Concession of Precious Woods Gabon).

Figure 2. Range of nests altitude according to study area (PW = logging concession of Precious Woods)

Figure 3. *Varroa destructor*. (a) ventral view, (b) dorsal view.

Figure 4. Average number of Varroa mites per 100 bees in wild colonies according to location: (a) Kougouleu, (b) PW. The vertical bars represent standard error

Figure 5. Average number of Varroa mites per 100 bees in wild colonies according to location. The vertical bars represent standard error.

Chapter 8

Figure 1 : Localisation géographique des zones d'étude au Gabon.

Figure 2: Colonie d'*A. mellifera adansonii* dans un tronc d'arbre au sein de la concession de Precious Woods.

Figure 3: Ruche modifiée de l'Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA). A gauche une vue en perspective et à droite une vue de dessous des compartiments : a premier compartiment avec un trou d'entrée (45 x 45 x 5 cm) ; b compartiment à couvain (45 x 45 x 12 cm) avec deux ouvertures à la base (40 x 1 cm) ; c compartiment extension du couvain (45 x 45 x 4 cm) avec une ouverture de 35 cm de diamètre à la base ; d compartiment pour pot de pollen et miel (45 x 45 x 7 cm) avec trois ouvertures à la base (40 x 2 cm) ; e toit de la ruche. Les dimensions des compartiments correspondent aux dimensions intérieures

Figure 4 : Schéma de transfert de colonies sauvages de *M. bocandei* dans une ruche : a ouverture de la cavité ; b Isolement du couvain et des abeilles ; c Installation du couvain et des abeilles dans la ruche ; d mise en quarantaine ou non de la ruche dans une salle fermée ; e installation de la ruche mise en quarantaine ou non dans le rucher.

Figure 5: Prévalence d'*A. tumida* dans les colonies sauvages d'*A. mellifera adansonii*. PW = concession forestière de Precious Woods. La prévalence est exprimée en proportion avec erreur standard.

Figure 6: Prévalence d'*A. tumida* dans les ruches après transfert de colonies sauvages de *M. bocandei* dans la concession forestière de Precious Woods. La prévalence est exprimée en proportion avec erreur standard

Figure 7: a Colonie de *M. bocandei* entièrement détruite par des larves d'*A. tumida* ; b larves d'*A. tumida*

Liste des tableaux

Chapter 2

Table 1. List of Meliponini species described in Africa according to geographical regions (adapted from Eardley, 2004; Eardley *et al.*, 2010; Pauly *et al.*, 2013a; Pauly *et al.*, 2013b).

Chapter 5

Table 1. Frequency of stingless bee species depending on trapping method.

Table 2 Observed richness (S.obs) and percentage per species captured according to location. Species were sorted by their abundance

Table 3 Effect of location, altitude, and interaction of both on species presence.

Table 4 Classification of locations for each species according to frequency (F) and presence. F = Frequency of recording of a species

Chapter 6

Table 1 Nests number and nest density of honey bees and stingless bee according to location.

Table 2 Significant effects of environmental and anthropogenic factors on the presence of nests.

Table 3 Nests observed and recorded according to the study area. Nests observed correspond to nest recorded before trees were felled and total nest corresponds to nest recorded after trees were felled.

Chapter 8

Tableau 1 Modèle Linéaire Généralisé Mixte de la présence d'*A. tumida*.

PREMIÈRE PARTIE : INTRODUCTION

Chapitre 1 . Introduction générale

1.1 Le rôle et l'importance de l'abeille

La reproduction des plantes à fleurs se déroule en deux étapes : (1) le transport du pollen de l'anthere au stigmate et (2) le transfert des spermatozoïdes du pollen au(x) carpelle(s) (Pouvreau, 2004). La première étape de ce mécanisme est appelée pollinisation (Pouvreau 2004 ; Bradbear 2005) (Figure1). Cette étape est assurée par le vent, l'eau et les animaux pollinisateurs (mammifères, oiseaux et insectes). La pollinisation animale intervient auprès de 308.000 espèces végétales, soit 78% des espèces au sein des communautés végétales tempérées et 94% des espèces au sein des communautés végétales tropicales (Ollerton *et al.* 2011). Les insectes constituent la grande majorité des animaux pollinisateurs. Les quatre ordres d'insectes pollinisateurs sont : Coleoptera, Lepidoptera, Diptera et Hymenoptera (Pouvreau, 2004). Les abeilles ou Anthophila (Hymenoptera : Apoidea) regroupent les principaux pollinisateurs au niveau mondial (Danforth, 2007). Les abeilles transportent le pollen d'un individu à l'autre ou d'une fleur à l'autre sur un même individu (allopollinisation) ou encore au sein d'une même fleur (autopollinisation). Elles contribuent par conséquent au brassage génétique des plantes à fleurs. En tant que prestataires de service écosystémique, les abeilles contribuent au maintien de la flore sauvage.

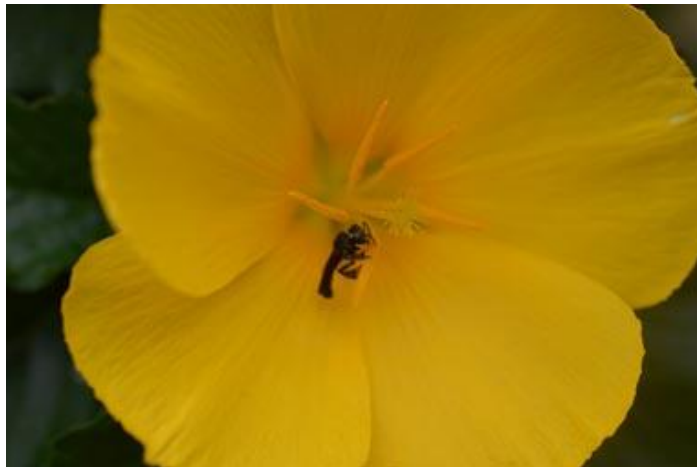


Figure 1. Pollinisation d'une fleur de *Tunera sp* par *Dactylurina staudingeri*.

La pollinisation des plantes cultivées par les abeilles a pour effet une augmentation de la taille des fruits et du nombre de graines (Michener 2007). La valeur économique en agriculture de la pollinisation réalisée par les insectes, principalement les abeilles, dans le monde a été estimée à 153 milliards d'Euros par an (Gallai *et al.*, 2009). En Europe, 84% de la production des cultures est dépendante de la pollinisation entomophile (Williams, 1994).

Selon leur organisation sociale, les abeilles sont subdivisées en abeilles solitaires et en abeilles sociales (Michener, 2007). Les *Apini* et les *Meliponini* (Anthophila : Apidae) regroupent l'ensemble des espèces d'abeilles dites hautement eusociales (Michener, 2007). Les espèces hautement eusociales vivent en colonie avec entre autres caractères une division du travail entre castes et une différence morphologique entre la reine et les ouvrières (Michener, 2007). Le genre *Apis* est le seul genre vivant retrouvé dans la tribu des Apini. L'espèce la plus connue est *Apis mellifera* L. qui est répandue sur l'ensemble des continents. La tribu des Meliponini est répartie dans les forêts tropicales qui s'étendent de l'Amérique à l'Australie (Figure 2). Les Apini et Meliponini ont fait l'objet de nombreuses études et sont exploitées pour la pollinisation et la récolte des produits de la ruche, principalement le miel. Selon Momose *et al.* (1998), les Apini et les Meliponini représentent les pollinisateurs les plus importants, en termes de nombre d'espèces végétales pollinisées, dans les forêts tropicales en Malaisie. Le gain économique annuel lié à la pollinisation des cultures par *A. mellifera* aux États unis a été estimé entre 1,6 et 5,7 milliards de dollars USD (Southwick et Southwick, 1992). Les Apini et les Meliponini ont également un rôle de bio-indicateur de dégradation des habitats et de la pollution de l'environnement (Kevan, 1999 ; Ponikvar *et al.*, 2005).

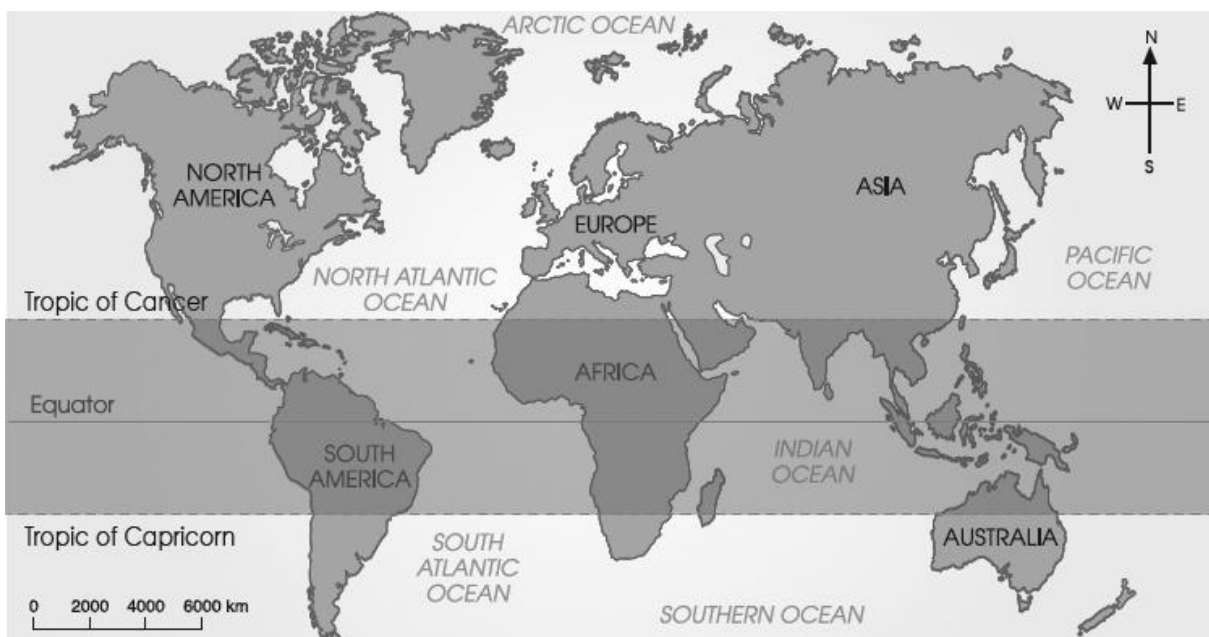


Figure 2. Répartition mondiale des Meliponini (source : Kwapong *et al.*, 2010).

1.2 Le déclin des insectes pollinisateurs

L'actualité mondiale est marquée par le déclin des insectes pollinisateurs, particulièrement celle d'*A. mellifera* aux États unis avec le syndrome d'effondrement de colonies (Ellis *et al.*, 2010).

L'évaluation du déclin des insectes pollinisateurs passe par l'étude de la biodiversité de ces insectes dans les habitats. La biodiversité ou diversité biologique est définie par le Programme des Nations Unies pour l'Environnement (cité par Maurran 2004) comme suit : « the variability among living organism from all sources including inter alia, terrestrial, marine and other aquatic system and the ecological complexes of which they are part ; this includes diversity within species, between species and of ecosystems ». Ainsi, la biodiversité inclut plusieurs niveaux : la diversité spécifique, la diversité génétique, la diversité populationnelle et écosystémique.

Les facteurs avancés pour expliquer le déclin des insectes pollinisateurs sont entre autres :

- La fragmentation ou la perte d'habitat qui résulte de l'usage et l'occupation des sols en lien principalement avec les activités anthropiques (Aizen & Feinsinger 2003 ; Goulson *et al.* 2008).
- L'introduction de nouveaux pathogènes ou d'espèces invasives. C'est le cas du *Varroa destructor* originaire d'Asie qui a été introduit en Europe et qui occasionne des pertes de colonies dans les ruchers d'*A. mellifera* (Tentcheva *et al.*, 2004) ;
- La pollution et l'usage intensif de produits phytosanitaires en agriculture.

Ces facteurs peuvent occasionner, de manière individuelle ou en synergie, une diminution de la biodiversité des insectes pollinisateurs, particulièrement celle des abeilles.

1.3 L'impact de la perturbation anthropique sur les abeilles

La perturbation anthropique s'exerce sur les habitats naturels ou semi-naturels. En zone tropicale, il s'agit principalement de l'exploitation forestière, de l'agriculture et de l'urbanisation. Ces activités ont pour effet de fragmenter à divers niveaux ou d'occasionner la perte d'habitat forestier. La perturbation de l'habitat par des activités anthropiques affecte négativement la richesse spécifique et l'abondance des abeilles (Winfree *et al.*, 2009). Toutefois, il convient de nuancer cette tendance, car différents habitats peuvent fournir des ressources complémentaires aux abeilles (Winfree *et al.*, 2009). Si la perturbation anthropique n'est pas très importante une persistance de certaines espèces d'abeilles est observée (Winfree *et al.*, 2009). Ainsi, il est possible d'affirmer que l'effet négatif des perturbations anthropiques sur la richesse spécifique et l'abondance des abeilles est lié au niveau de perturbation et à la capacité des espèces d'abeilles concernées à tirer profit des modifications de leur habitat.

En milieu tropical, les abeilles sociales (Apini et Meliponini) semblent plus sensibles aux perturbations anthropiques que les abeilles solitaires (Winfree *et al.*, 2009). Winfre *et al.* (2009)

expliquent cela par le fait que les colonies d'Apini et de Meliponini utilisent des cavités dans les troncs d'arbres en milieu forestier pour nicher et si les activités anthropiques affectent la disponibilité des cavités, cela peut affecter la capacité de nidification de ces abeilles. Toutefois, cet argument est difficilement applicable aux espèces qui nichent dans le sol. Les résultats de Samejim *et al.* (2004) montrent que certaines espèces de Meliponini sont abondantes en milieux forestiers naturels, tandis que d'autres espèces sont abondantes en milieux perturbés. Ainsi, la perturbation de l'habitat forestier affecterait la composition d'espèces des Meliponini (Samejim *et al.*, 2004).

Dans certaines régions, l'exploitation forestière est dite sélective, c'est dire que l'on précède à une sélection des espèces et/ou des dimensions des arbres avant de les abattre. Selon Eltz et Bruhl. (2002), l'exploitation forestière sélective est susceptible de causer une mortalité directe à une fraction substantielle des colonies de Meliponini du fait que durant cette activité les nids peuvent être détruits ou exposés à la prédation.

1.4 Les Apini et les Meliponini en Afrique

L'Afrique abrite environ 13% des espèces d'abeilles connues à ce jour, dont une vingtaine d'espèces dites hautement eusociales (Eardley *et al.*, 2009). La diversité et l'écologie des abeilles sociales en fonction du type d'habitat sont peu documentées dans de nombreux pays d'Afrique (Eardley *et al.*, 2009). C'est particulièrement le cas du massif forestier du Bassin du Congo.

Selon Dietemann *et al.* (2009), la prédation des nids et la perte d'habitat constituent une menace significative de la diversité des abeilles sociales en Afrique. La perte d'habitat est principalement liée aux activités humaines : exploitations minières, exploitations forestières, urbanisation et agriculture (Dietemann *et al.*, 2009).

L'élevage des abeilles sociales dans de nombreux pays d'Afrique est basé sur le piégeage des essaims pour l'abeille *A. mellifera* et le transfert des colonies sauvages pour les Mélipones (Kwapong *et al.*, 2010). Ces méthodes sont dépendantes de l'abondance des nids-d'abeilles concernées dans l'environnement. Bien que des maladies bactériennes, fongiques, virales, et parasitaires ont été mises en évidence, les colonies d'*A. mellifera* semblent moins menacées par des pathologies en Afrique en comparaison à d'autres régions du Monde (Dietemann *et al.*, 2009 ; Mumoki *et al.*, 2014). Pour ce qui est des Mélipones, peu de travaux ont été publiés sur de potentielles menaces liées à des pathologies ou des parasites en Afrique. Cependant, une

menace a été mise en évidence, celle de la destruction des colonies par le coléoptère *Aethina tumida* (Murray 1867) lors des transferts des colonies de *Meliponula bocandei* (Spinola 1853) dans des ruches (Nkoba, 2012).

1.5 Les Apini et les Meliponini au Gabon

Le Gabon est un pays pour lequel moins d'une vingtaine d'études scientifiques sur les abeilles sociales ont été publiées sur une période de plus 50 ans. Moins d'une vingtaine d'espèces d'abeilles dites hautement eusociales ont été identifiées au Gabon, parmi lesquelles *A. mellifera adansonii* Latreille (Pauly 1998). Ces espèces pour un grand nombre sont distribuées sur l'ensemble du territoire gabonais (Pauly 1998). Aucune étude n'a été publiée sur la présence, la prévalence d'une pathologie, d'un parasite ou toute autre menace potentielle chez *Apis mellifera* ou les Meliponini au Gabon.

Comme dans d'autres pays de la sous-région d'Afrique centrale, des activités minières, forestières sont menées au Gabon. Les exploitations forestières couvrent 52 % du territoire (Fabre Anguilet *et al.*, 2015). Au vu de l'importance des abeilles hautement eusociales, de l'absence de données sur la diversité et l'abondance de ces pollinisateurs en fonction des habitats, il est important d'étudier et de mieux comprendre l'impact des principales activités humaines sur les communautés d'espèces d'abeilles hautement eusociales (Apini et Meliponini) au Gabon. En effet, si la faible densité de la population gabonaise est un atout pour la préservation des habitats, la multiplication d'activités économiques telles que l'exploitation forestière, l'installation des agro-industries et l'accroissement de la population nécessite que l'on s'attarde sur l'impact potentiel de ces activités sur les pollinisateurs avant que la situation ne devienne critique dans le pire des scénarios.

L'élevage d'abeilles sociales au Gabon est très peu pratiqué pour *A. mellifera* et presque inexistant pour les Meliponini. De nombreux projets ont été mis en place pour vulgariser l'élevage des abeilles sociales dans ce pays notamment ceux menés par des organismes internationaux tels que l'Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture (FAO) ou nationaux tels que l'Institut National Supérieur d'Agronomie et de Biotechnologie (INSAB). Ces derniers se sont soldés par des échecs ou des résultats en deçà des attentes. L'une des principales raisons est le fait que des dizaines de ruches appâts ont été installées sans tenir compte de la densité de nids sauvages dans ces localités. Une connaissance de la diversité et l'abondance des nids des abeilles hautement eusociales est nécessaire pour les raisons évoquées dans le paragraphe précédent. Cela permettra également une meilleure mise en place de ces

élevages et de mieux envisager le recours à des solutions telles que la multiplication des colonies et l'implantation de plantes mellifères pour soutenir l'installation d'une plus grande densité de ruches.

Il est également nécessaire de poursuivre l'étude sur les pathologies et les parasites afin de mieux appréhender la situation sanitaire des abeilles hautement eusociales en Afrique et de mettre en lumière celles-ci au Gabon. D'autant plus que dans le cadre de la mise en place d'élevage, il faudra tenir compte de toutes potentielles contraintes et menaces.

1.6 Objectifs de l'étude

Les principaux objectifs de la présente thèse sont les suivants :

- **Contribuer à une meilleure connaissance des relations entre la diversité spécifique et la composition des abeilles hautement eusociales (Apini et Meliponini) et le niveau de perturbation de l'habitat forestier en lien avec les activités humaines.** En d'autres termes, il s'agit de comprendre comment la diversité spécifique des abeilles sociales est concernée et surtout quelles sont les espèces affectées ;
- **Contribuer à une meilleure compréhension des facteurs qui influencent la densité des nids des abeilles hautement eusociales étudiées et particulièrement celle d'*Apis mellifera* qui a fait l'objet de plusieurs essais de domestication au Gabon ;**
- **Mettre en évidence et évaluer la prévalence et le taux d'infestation au Gabon de deux parasites importants chez les abeilles sociales : le Varroa et le petit coléoptère des ruches (*A. tumida*).**

Afin d'atteindre ces objectifs, le présent travail s'articule autour de 4 parties et 8 chapitres.

- Deuxième partie (un chapitre) : une synthèse bibliographique sur les Apini et les Meliponini en Afrique et particulièrement au Gabon est présentée.
- Troisième partie (trois chapitres) : Le premier chapitre de cette partie donne la description d'une nouvelle espèce et une révision taxonomique. Par la suite, la description des localités au sein desquelles ont été effectués les travaux est donnée dans le chapitre 4. Les résultats de l'étude de l'impact des pressions anthropiques sur la composition d'espèces des abeilles étudiées, de même ceux relatifs à l'étude de la densité de nid en fonction du type d'habitat sont présentés et discutés dans les chapitres 5 et 6.

- Quatrième partie (deux chapitres) : cette partie est consacrée à l'étude de la prévalence du Varroa et du petit coléoptère des ruches au Gabon et l'impact de ce coléoptère sur la domestication de *Meliponula bocandei* (chapitre 7 et 8).
- Cinquième partie : cette dernière partie est consacrée à une discussion générale des résultats obtenus et des perspectives par rapport à l'étude.

Références bibliographique

- Aizen M. A. & Feinsinger P. 2003. Bees not to be? Responses of insect pollinator faunas and flower pollination to habitat fragmentation. In Bradshaw G. A. & P. A. Marquet . How landscapes change. Springer-Verlag, Berlin.
- Bradbear N. 2005. *Apiculture et moyens d'existences durables*. FAO : Rome.
- Danforth B., 2007. Bees. *Current biology*, 17: R156–R161.
- Dietemann V., Pirk C. W. W., Crewe R., 2009. Is there a need for conservation of honeybees in Africa? *Apidologie*, 40 (3) : 285–295.
- Eardley C. D., Gikungu M., Schwarz M. P, 2009. Bee conservation in Sub-Saharan Africa and Madagascar: diversity, status and threats. *Apidologie*, 40 (3) : 355–366.
- Ellis J. D., Evans J. D., Pettis J. 2010. Colony losses, managed colony population decline, and Colony Collapse Disorder in the United States. *Journal of Apicultural Research*, 49:1, 134-136.
- Eltz T. & Bruhl C. A. 2002. Determinants of stingless bee nests density in lowland dipterocarp forests of Sabah, Malaysia.
- Fabre Anguilet EC, Nguyen BK, Bengone Ndong T, Haubruge E, Francis F. 2015. Meliponini and Apini in Africa (Apidae: Apinae): a review on the challenges and stakes bound to their diversity and their distribution. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 19: 382–391.
- Gallaia N, Sallesc J-M., Setteled J, Vaissière B. E., 2009. Economic valuation of the vulnerability of world agriculture confronted with pollinator decline. *Ecological Economics*, 68: 810–821.
- Goulson D., Lye G. C. & Darvill B. 2008. Decline and conservation of bumble bees. *Annual Review of Entomology* 53: 191–208
- Kevan P. G., 1999. Pollinators as bioindicators of the state of the environment: species, activity and diversity. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 74: 373–393.

- Kwapong P., Aidoo K., Combey R. 2010. Stingless Bees – Importance, Management and Utilization: A Training Manual for Stingless Beekeeping. Unimax Macmillan Ltd, Accra.
- Lopez-Escartin N. 1991. Données de base sur la population : Gabon. Centre Français sur la Population et le Développement. Paris, France.
- Magurran, A.E. 2004. Measuring biological diversity. Blackwell, Oxford.
- Michener C.D., 2007. *The bees of the world*. 2nd ed. Baltimore, MD, USA: The Johns Hopkins University Press.
- Momose K, Yumoto T, Nagamitsu T, Kato M, Nagamasu H, et al. 1998. Pollination biology in a lowland dipterocarp forest in Sarawak, Malaysia. I. Characteristics of the plant-pollinator community in a lowland dipterocarp forest. *American Journal of Botany* 85(10):1477–501
- Mumoki, F.N. et al., 2014. An inventory of documented diseases of African honeybees: review article. *African Entomology*, 22(3): 473-487.
- Nkoba, K. 2012. Distribution, behavioural biology, rearing and pollination efficiency of five stingless bee species (Apidae: Meliponinae) in Kakamega forest, Kenya. Kenyatta University; Nairobi, Kenya.
- Ollerton J., Winfree R., Tarrant S. 2011. How many flowering plants are pollinated by animals? *Oikos*, 120:321–326.
- Pauly A. 1998. Hymenoptera Apoidea du Gabon. Annales Sciences Zoologiques 282.
- Pouvreau A 2004. *Les insectes pollinisateurs*. Delachaux et Niestl : Paris 189p.
- Ponikvar M., Šnajder J. et Sedej B. 2005. Honey as a bioindicator for environmental pollution with SO₂. *Apidologie*, 36(3) : 403–409.
- Southwick E. E. & Southwick L. Jr., 1992. Estimating the Economic Value of Honey Bees (Hymenoptera: Apidae) as Agricultural Pollinators in the United States. *Journal of Economic Entomology*, 85(3): 621-633.
- Tentcheva D., Gauthier L., Zappulla N., Dainat B., Cousserans F., Colin M. E., Bergoin M. 2004. Prevalence and Seasonal Variations of Six Bee Viruses in *Apis mellifera* L. and *Varroa destructor* Mite Populations in France. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(12): 7185–7191.
- Williams IH. 1994. The dependence of crop production within the European Union on pollination by honey bees. *Agricultural Science Reviews*, 6: 229-257.

Winfree R., Aguilar R, Vázquez D. P., LeBuhn G., Aizen M. A. 2009. A meta-analysis of bees' responses to anthropogenic disturbance. *Ecology*, 90(8): 2068-2076.

DEUXIEME PARTIE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre 2 Meliponini and Apini in Africa (Apidae: Apinae): a review on the challenges and stakes bound to their diversity and their distribution

Dans le précédent chapitre, le contexte général de l'étude a été présenté, ainsi que la problématique et les objectifs du présent travail.

Ce deuxième chapitre présente l'état des connaissances sur la taxonomie, la diversité, la distribution et l'abondance des abeilles sociales (Apini et Meliponini) en Afrique en général et au Gabon en particulier. Les enjeux et les défis relatifs à ces pollinisateurs et à la situation des pathologies et des parasites liés à ces insectes en Afrique sont également abordés.

Cette synthèse bibliographique a été réalisée à partir de la bibliographie sur les abeilles Apini et Meliponini d'Afrique dont dispose M. Alain PAULY, et une recherche sur les bases de données bibliographiques (CAB Abstracts, Scopus, Google scholar). Les recherches ont été effectuées à l'aide des mots-clés suivants: "diversity" and "stingless bees" and "Africa" ; "diversity" and "stingless bees" ; "Africa" and "stingless bees" "diversity" and "honeybees" and "Africa" ; "Morphometric" and "stingless bees" and "Africa"; " Morphometric " and "honeybees" and "Africa": "nest density" and "stingless bees"; "nest density" and "honeybees".

Adapté de **Edgard Cédric Fabre Anguilet**, Bach Kim Nguyen, Toussaint Bengone Ndong, Éric Haubruge, Frédéric Francis. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 2015 19(4), 382-391.

Abstract

Introduction. Meliponini and Apini contribute to the pollination of flowering plants and to improving agricultural yields. The bees' diversity, distribution and abundance depend on the ecosystem in which they evolve. The present work aims to summarize the diversity, distribution, abundance, potential threats, challenges and issues faced with respect to these social bees in Africa.

Literature. In Africa, there are 21 species of Meliponini and 2 species of Apini (*Apis*). Aspects related to the species diversity, distribution, biology, ecology and abundance of nests are poorly documented, especially for Meliponini. This deficit could be related to a lack of interest of the authors or the various difficulties in performing these studies in Africa. With regard to the difficulties, there is a need to clarify the taxonomy of Meliponini, and the observation of nests in certain forest environments is difficult. Nest predation and habitat loss are the main threats that could cause the depopulation of certain social bee species in Africa. If there is currently new evidence that diseases and pests did not endanger these bees, then there is a need for further studies for better assessment of the risks that are associated with these potential threats.

Conclusions. Work on the diversity, distribution and abundance of the social bees must be strengthened to address the challenges that are related to Apini and Meliponini in Africa. Indeed, this approach will contribute to answering the challenges of sustainable management of the biodiversity and economic and agricultural issues.

Keywords. Biodiversity, honey bees, *Melipona*, bee colonies, risk factors, biodiversity conservation, Gabon.

2.1 Introduction

Bees play a role in the reproduction of some flowering plants, similar to other pollinators (Bradbear, 2010; Ollerton *et al.*, 2011). Through this activity, bees contribute to the preservation and maintenance of the genetic diversity of flowering plants (Bradbear, 2010). In agriculture, bees contribute to an increase in the qualitative and quantitative crop yields (Klein *et al.*, 2007; Klatt *et al.*, 2014). While bees contribute to the preservation of ecosystems, they are also dependent on the balance of these ecosystems. Therefore, their diversity, distribution and abundance are related to different environmental conditions as well as the impact of human activity (Brown *et al.*, 2009). Among these arthropods, two groups can be distinguished according to their social organization: solitary and social. The subject of this paper focuses on Meliponini and Apini, which belong to the social bees group (highly eusocial). These bees are organized as colonies that consist of a female queen, males, and female workers that are responsible for different activities (Michener, 2007). Threats to social bees, which are related to diseases, parasites and habitat loss, have been reported worldwide (Jaffé *et al.*, 2009; Van Der Zee *et al.*, 2012). In Africa, there is less scientific work that has been published on highly eusocial compared to Europe or South America, especially for Meliponini, of which the taxonomy still must be clarified (Eardley *et al.*, 2013). Considering the ecological and economic importance of bees, it is important to gain knowledge about them in Africa. This concern is especially important because this continent contains the second largest continuous block forest in the world, in which there is a high level of ecosystem diversity.

The aim of this study is to summarize the current knowledge on the species diversity, distribution and abundance of Meliponini and Apini in Africa in general and in Gabon, a country in the Congo Basin Forest, in particular. Potential threats to the diversity of social bees will be discussed as well as the environmental and economic challenges and prospects that are related to these insects in Africa.

2.1 Highly eusocial bees: diversity, distribution, and abundance

2.1.1 The Meliponini

In Africa, 21 species of Meliponini have been listed (Table 1) and divided into six genera: *Cleptotrigona*, *Dactylurina*, *Hypotrigona*, *Liotrigona*, *Meliponula*, and *Plebeina* (Eardley, 2004; Eardley *et al.*, 2010). Although the Meliponini are present in savannahs, many species nest mainly in forested areas. The forest species, such as *Meliponula beccarii* (Gribodo) and *Meliponula bocandei* (Spinola), nest on the ground or in trees (Kajobe, 2007a; Mogho Njoya,

2009) (Figure 1). Other species, such as *Meliponula nebulata* (Smith), nest in the cavities of trees or in termite mounds (Brosset et al., 1967; Darchen, 1969; Kajobe, 2007a; Mogho Njoya, 2009) (Figures 2 and 3). Central African countries have the highest reported diversity of Meliponini, with 17 species (Table 1); 16 of these 17 species have been reported in Gabon (Table 1) (Figure 4). Of all of the species listed in Gabon, *Meliponula roubiki* Eardley has been described and is found only in this country in Africa (Eardley, 2004; Eardley *et al.*, 2010) (Table 1). Pauly's (1998) inventory showed that many Meliponini species in Gabon were distributed throughout the entire territory, including *Dactylurina staudingeri* (Gribodo), *M. bocandei*, *M. nebulata*, and the genus *Hypotrigona* (Figure 5). Other species have been inventoried in smaller regions (i.e., *Meliponula cameroonensis* (Fries) and *Meliponula lendliana* (Fries)) (Figure 5).

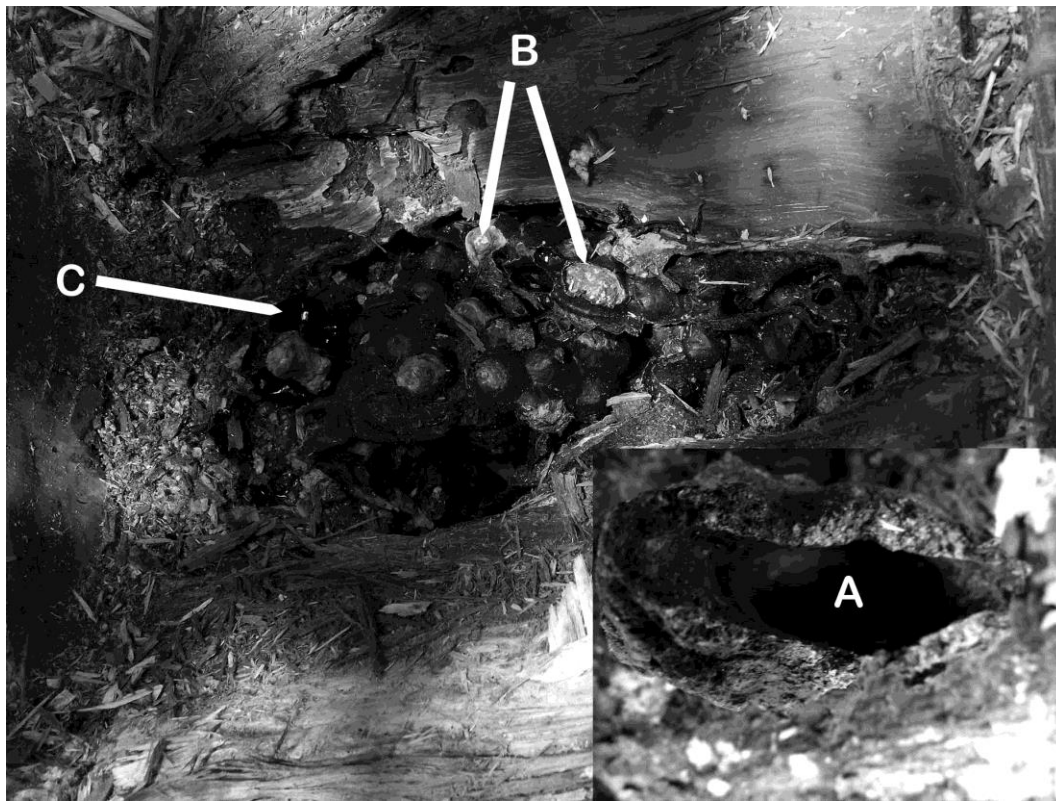


Figure 1 Nest of *Meliponula bocandei* in a tree. A: nest entrance; B: cerumen pot filled with pollen; C: cerumen pot filled with honey.

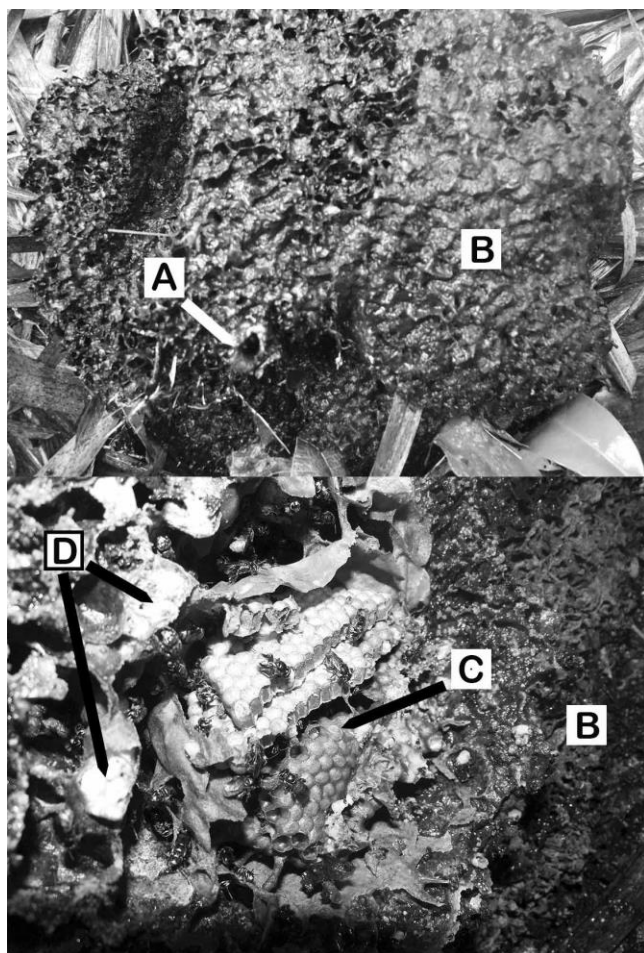


Figure 2. Nest of *Meliponula nebulata* in a termite mound. A: nest entrance; B: termite mound; C: brood cells; D: cerumen pot filled with pollen.

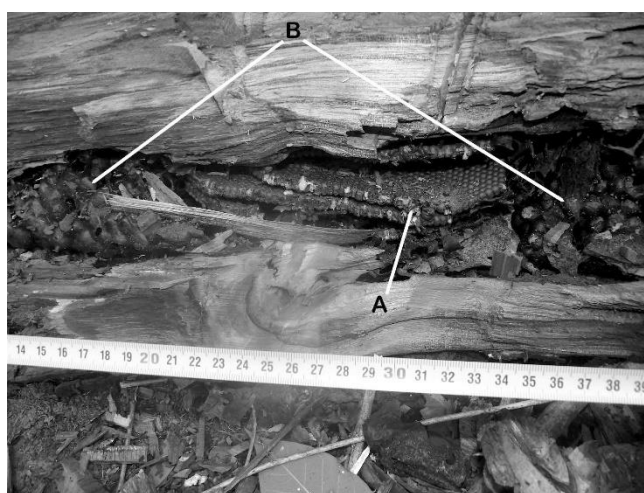


Figure 3. Nest of *Meliponula nebulata* in a tree. A: brood cells; B: cerumen pot filled with pollen or honey.

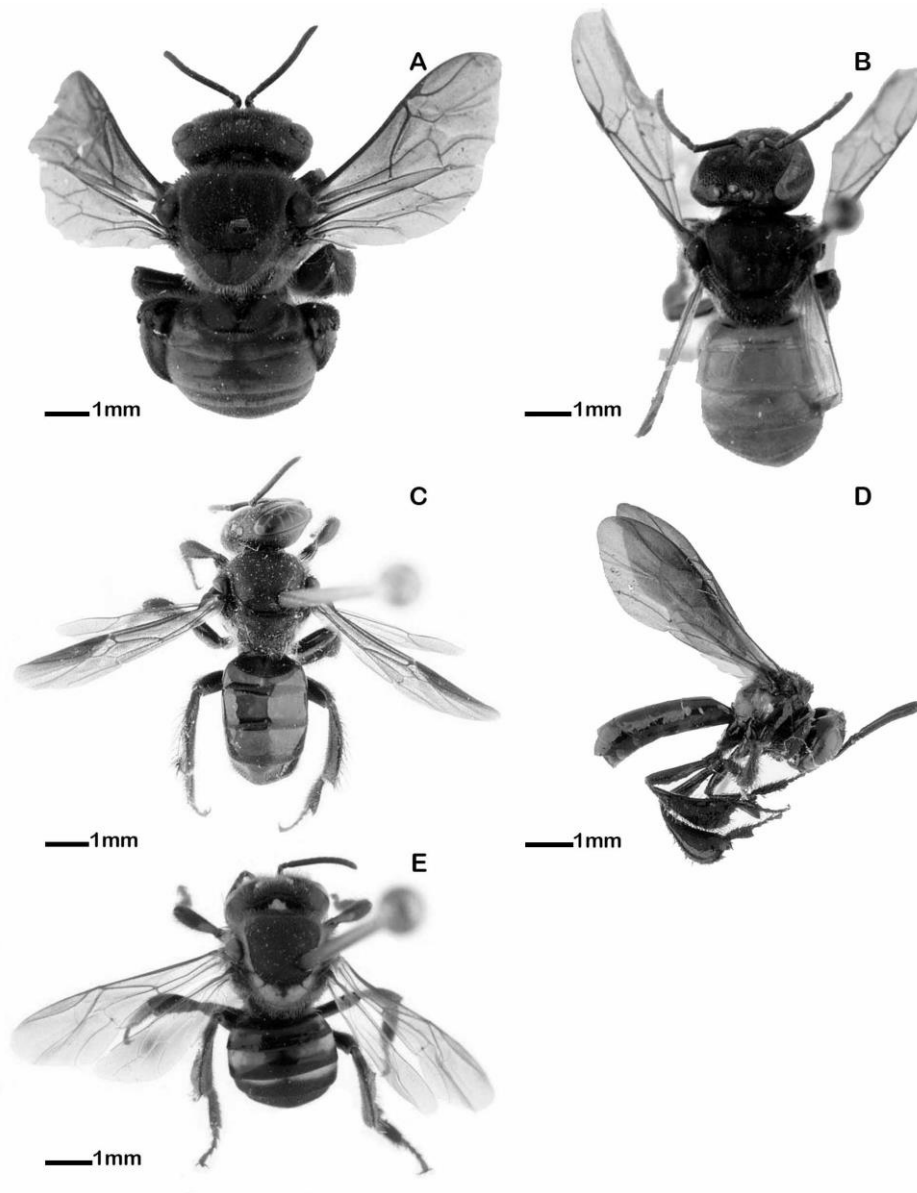


Figure 4. Some Meliponini species (adapted from Pauly *et al.*, 2013c). A: *Meliponula bocandei*; B: *Meliponula erythra*; C: *Meliponula nebulata*; D: *Dactylurina staudingeri*; E: *Meliponula becarii*.

The actual number of species requires revision because the taxonomy of the Meliponini in Africa is unclear, and some cryptic species remain to be identified on the African continent (Eardley *et al.*, 2013). The description of the *Hypotrigona* and *Liotrigona* species, in particular, requires clarification.

Unlike in the case of the Meliponini of South America or Asia, there are few published studies on aspects of morphometrics that relate to the Meliponini in Africa. Darchen (1969; 1971) performed body measurements on *Meliponula ferruginea* (Lepeletier) (synonymous with *Meliponula oyani* [Darchen]) (Eardley *et al.*, 2010)) and *M. nebulata* in Gabon. These

measurements were performed without statistical analysis but within the framework of a description of these species; the results showed great variability for *M. nebulata*. In Ghana, Combey *et al.* (2013) studied biodiversity in four species of Meliponini (*M. ferruginea*, *M. bocandei*, *D. staudingeri*, and *Hypotrigona gribodoi* [Magretti]). Using geometric morphometrics, the authors demonstrated the existence of possible ecotypes within these species. The study focused on the use of landmarks that were positioned on the right forewings of these bees.

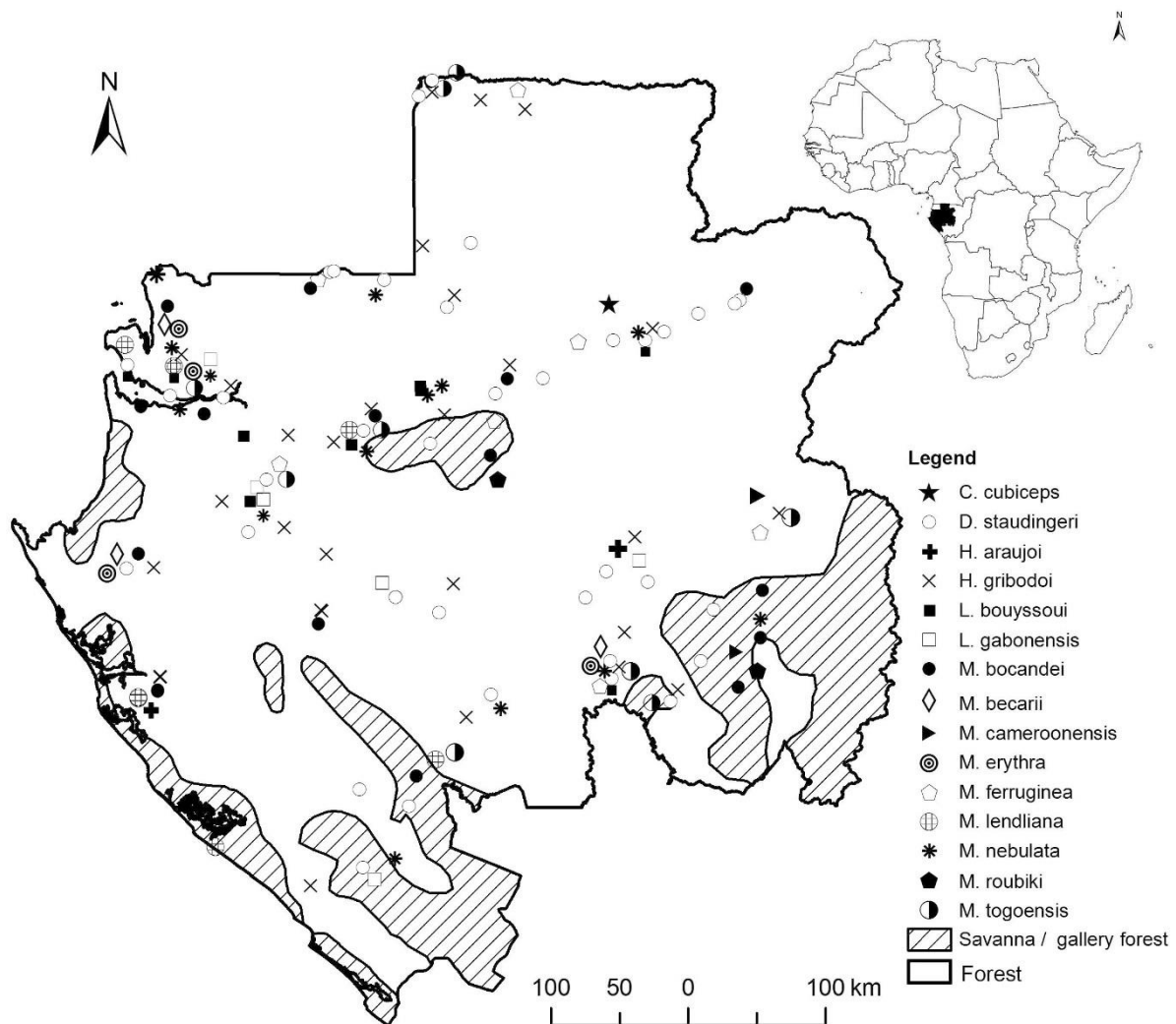


Figure 5. Distribution of Meliponini in some locations in Gabon (adapted from Pauly, 1998; Eardley, 2004; Boesch *et al.*, 2009; Pauly *et al.*, 2013b).

Research on the genetic diversity of the Meliponini in Africa is also poorly documented. Several African species have been studied molecularly by Costa *et al.* (2003) and Rasmussen *et al.* (2010). Both sets of authors studied phylogenetic species evolution on a global scale, including African species, such as *Meliponula ogouensis* (Vachal) (synonymous with *Meliponula becarrii*

[Gribodo] [Pauly *et al.*, 2013a]), *M. bocandei*, *M. ferruginea*, *M. lendliana*, *D. staudingeri*, *H. gribodoi* and *Hypotrigona ruspolti* (Magretti), and showed that *Hypotrigona* was distant from other African genera.

Table 1 List of Meliponini species described in Africa according to geographical regions (adapted from Eardley, 2004; Eardley *et al.*, 2010; Pauly *et al.*, 2013a; Pauly *et al.*, 2013b).

Species	West Africa	Central Africa	East Africa	Southern Africa	Gabon
<i>Cleptotrigona cubicep</i> (Frieses)	1	1			1
<i>Dactylurina staudingeri</i> (Gribodo)	1	1	1		1
<i>Dactylurina schmidtii</i> (Stadelmann)			1		
<i>Plebeina armata</i> (Magretti)	1	1	1	1	1
<i>Meliponula beccarii</i> (Gribodo)	1	1	1	1	1
<i>Meliponula bocandei</i> (Spinola)	1	1	1	1	1
<i>Meliponula cameroonensis</i> (Friese)	1	1			1
<i>Meliponula erythra</i> (Scheltemer)		1			1
<i>Meliponula ferruginea</i> (Lepeletier)	1	1	1	1	1
<i>Meliponula griswoldorum</i> Eardley				1	
<i>Meliponula lendliana</i> (Friese)	1	1	1	1	1
<i>Meliponula nebulata</i> (Smith)	1	1	1		1
<i>Meliponula roubiki</i> Eardley		1			1
<i>Meliponula togoensis</i> (Stadelmann)	1	1	1		1
<i>Hypotrigona araujoii</i> (Michener)				1	1
<i>Hypotrigona gribodoi</i> (Magretti)	1	1	1	1	1
<i>Hypotrigona ruspolti</i> (Magretti)	1	1	1	1	1
<i>Hypotrigona squamuligera</i> (Benoist)	1		1		
<i>Liotrigona baleensis</i> Pauly & Hora		1	1		
<i>Liotrigona bottegoides</i> (Magretti)	1	1	1	1	
<i>Liotrigona gabonensis</i> Pauly & Fabre Anguilet		1			1
Number of species	14	17	14	10	16

Meliponula gambiana Moure, *Meliponula richardsi* Darchen and *Meliponula simpsoni* Moure were not recorded in this list because Eardley (2004) and Eardley *et al.* (2010) reported that the holotypes are too damaged or that there is no holotype that allows identification. It is necessary to capture individuals of these species to confirm their existence or to establish their synonymy with species that have already been described.

Regarding the abundance of Meliponini, Darchen (1972) reported a nest density of 2.5 nests.ha⁻¹, mostly containing the genera *Hypotrigona*, *Liotrigona* and *Dactylurina*, in Lamto savannahs in Côte d'Ivoire. In Ugandan forests, Kajobe *et al.* (2006) reported a density of 0.39 nests.ha⁻¹ of highly eusocial bees, of which 0.27 nests.ha⁻¹ contained Meliponini. In addition, Tornyie *et al.* (2015) found a Meliponini nest density of between 1.7 and 2.4 nests.ha⁻¹ in Ghana. This study focused on *M. bocandei*, *M. ferruginea* and *D. staudingeri*. The difference between the

results of these studies might be related to differences in the habitat studied and the sampling effort employed in the different countries.

These studies are representative of the sparse data regarding social bees within the 54 countries of Africa. This lack of data could reflect a low level of interest among researchers or the difficulties encountered in studying the diversity and abundance of social bees in Africa. Indeed, the difficulties that are involved in assessing the overall diversity and abundance of these bees in this continent are numerous, and several are common to many African countries. One major difficulty is the uncertain taxonomy of specific *Meliponini* species, which would not facilitate the study of the diversity, biology, ecology, and other aspects of these insects (Eardley *et al.*, 2013).

Political instability and civil or communitarian wars in some parts of Africa constitute another difficulty for the study of the diversity and abundance of bees. Access to certain areas is often dangerous; however, Gabon is less affected by this problem because it has a relatively stable political situation.

Given a high plant density and rugged terrain, the access to certain forested areas in Gabon is difficult. In addition, the canopy height makes it difficult to study these insects (Pauly, 1998). A large number of bee colonies reside in tall trees and are difficult to reach. Furthermore, the bees forage on flowers that are blooming in the canopy, which makes it difficult to observe or capture these insects.

2.2.2 The Apini

In Africa, two species have been listed within the *Apis* genus: *Apis florea* Fabricius and *Apis mellifera* Linnaeus (Eardley *et al.*, 2010; Hepburn *et al.*, 2011; Pauly *et al.*, 2013a). *Apis florea* is distributed from Asia to east Africa (Hepburn *et al.*, 2011), while *A. mellifera* is subdivided into 10 identified subspecies: *A. mellifera adansonii* Latreille, *A. mellifera capensis* Eschscholtz, *A. mellifera intermissa* Von Buttel-Reepen, *A. mellifera jemenitica* Ruttner, *A. mellifera lamarckii* Cockerell, *A. mellifera litorea* Smith, *A. mellifera monticola* Smith, *A. mellifera sahariensis* Baldensperger, *A. mellifera scutellata* Lepeletier and *A. mellifera simensis* Meixner *et al.* (Hepburn *et al.*, 1998; Meixner *et al.*, 2011). These subspecies have been described from morphological and traditional morphometric studies (Smith, 1961; Ruttner, 1988; Meixner *et al.*, 2011). Ruttner (1988) determined that the races or subspecies of honeybee can be classified into four main evolutionary lineages: M, C, O, and A. African honeybees

belong to a single evolutionary line (A) as mentioned by Ruttner (1988) and confirmed by the geometric morphometric studies of Kandemir *et al.* (2011).

Molecular analysis and nest abundance of honeybees in Africa have not yet been well documented. Franck *et al.* (2001) and Jaffé *et al.* (2009) showed that honeybees presented a greater genetic diversity in Africa than in Europe. Gruber *et al.* (2013) suggested that the morphometric differences between honeybees in the disjunct montane forests (*A. mellifera monticola*) and those in the savannahs (*A. mellifera scutellata*) in Kenya were more closely related to a phenomenon of phenotypic plasticity. The molecular analyses that were performed by these authors showed no distinction between these honeybees in both of these locations, which allowed these bees to be divided into two subspecies, as suggested by morphometric analysis. If these results are confirmed by other studies, the existence of *A. mellifera monticola*, a honeybee that is present in mountain refugia, could be revisited.

Regarding the nest density, in Botswana, McNally *et al.* (1996) found a density of approximately 0.04 nest.ha⁻¹. In Uganda, Kajobe *et al.* (2006) found a nest abundance of 0.12 nest.ha⁻¹ for *A. mellifera*. Jaffé *et al.* (2009) used the distance covered by the drones and the queens to participate in the coupling process to estimate the density of honeybee colonies in various localities in Africa, Europe and Asia. The nest density ranged from 0.052 to 0.097 nest.ha⁻¹ in the localities studied in South Africa; the density was 0.042 nest.ha⁻¹ in Sudan and 0.062 nest.ha⁻¹ in Libya (Jaffé *et al.*, 2009). While the taxonomy might not be a problem here as it is with the Meliponini, problems that are related to political instability in certain regions and the constraints related to the forest environment are major difficulties for the study of the diversity and abundance of honeybees in Africa.

Only *A. mellifera adansonii* has been identified in Gabon (Ambougou Atisso, 1991; Pauly, 1998). Traditional morphometric studies of honeybees in several localities in Gabon have shown that the measurements of *A. mellifera adansonii* are homogeneous across the country (Radloff *et al.*, 1999). The use of geometric morphometrics to confirm the homogeneity of this subspecies in Gabon could be informative. Unlike some Meliponini species, *A. mellifera adansonii* has a wide range of habitats in its geographical area, and it builds its nests in a range of cavity types. To date (February 2015), no scientific study has yet been published in Gabon on the molecular diversity or nest abundance of honeybees.

2.3 Threats to the diversity and abundance of highly eusocial bees.

In Africa, threats to highly eusocial bees largely relate to nest predation and habitat loss (Dietemann *et al.*, 2009); their predators include humans and chimpanzees (Kajobe *et al.*, 2006; McLennan *et al.*, 2011). Humans destroy or disrupt bee colonies when harvesting honey, and the harvesting methods employed can contribute to the depopulation of certain bee species (Bradbear, 2010). However, data do not currently exist regarding the loss of bee colonies as a result of the predation of nests by humans. In certain countries of Africa, the development of beekeeping has helped to improve the incomes of rural populations, but it has also contributed to a reduction in human nest predation (Dietemann *et al.*, 2009; Bradbear, 2010). In Gabon, apiculture is rarely practiced, and the breeding of stingless bees does not take place. Honey hunting mainly occurs in rural areas and is accompanied by the destruction of nests. The only known bee conservation measure in Gabon is the ban on the felling of trees for the purposes of harvesting honey in national parks.

The loss of habitat for bees in Africa is primarily the result of human activity, due mainly to agriculture and deforestation (Dietemann *et al.*, 2009). In Gabon, forest represents approximately 78% of its territory (Drouineau *et al.*, 1999). Logging concessions cover approximately 51% of the territory, and protected areas (all national parks and Wildlife Parks) cover approximately 13% (adapted from WRI's data, 2013) (Figure 6). A large number of logging permits is issued by the Forestry Concession under Sustainable Development (FCSD). Gabonese legislation requires that logging companies that hold FCSD permits carry out a management and operating plan of their forest concession to ensure the sustainable management of forest resources and the preservation of biodiversity (Présidence de la République Gabonaise, 2001). Some loggers in Gabon have Forest Stewardship Council (FSC) certifications, which guarantee sustainable forest management. However, the application of these management regimes in Gabon does not take bees into consideration. Indeed, current conservation measures concern only plant and animal species that are completely protected by law or concern delicate ecosystems such as wetlands. It is therefore important to study the influence of these and other human activities on the habitats and diversity of social bees. Many forest trees are pollinated by bees, and if the bees are endangered by logging or other activities, the pollination of these forest plants is also affected.

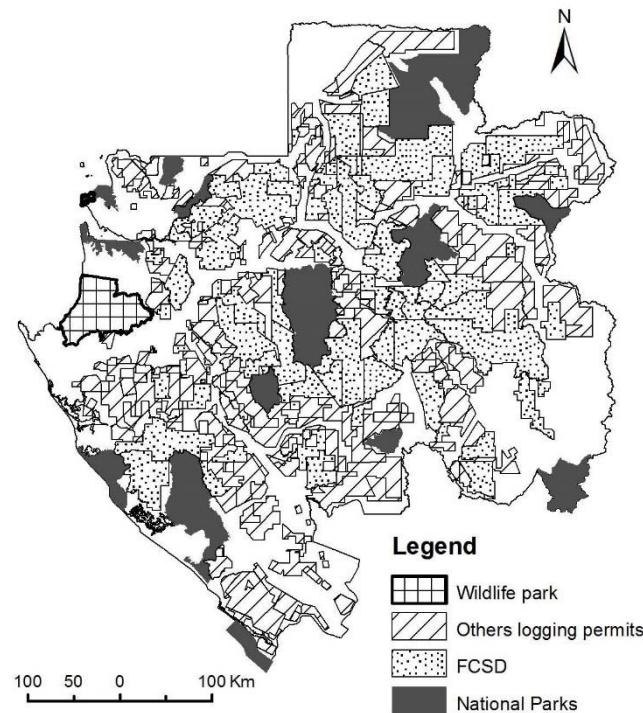


Figure 6. Forest Management in Gabon in 2013 (adapted from WRI, 2013). FCSD: Forestry Concession under Sustainable Development.

Although it has not yet been established that pests and diseases pose a major threat to the diversity of social bees in Africa, it is necessary to continue research into entomopathogens and parasites of both stingless bees and honeybees on the continent. Reports of the United States and Europe being affected by the loss of honeybee colonies underline the importance of this research (Pettis *et al.*, 2010; Van Der Zee *et al.*, 2012). Such research would also provide much needed data for a large number of African countries, where data are currently lacking (Mumoki *et al.*, 2014). Some studies have shown the presence of certain parasites and diseases, such as the invasive varroa mite in Africa (Dietemann *et al.*, 2009). However, it appears that these pests and diseases bear little responsibility for honeybee colony loss in Africa, as demonstrated by the results of Strauss *et al.* (2013) in South Africa and by Muli *et al.* (2014) in Kenya. Ellis (2005) showed that honeybees were able to contain the endemic small hive beetle in part of a hive. Mumbi *et al.* (2014) observed the presence of varroa in many localities in Tanzania. The number of mites per colony count was low compared to those observed in Europe or America, and the colonies showed no visible clinical signs (Mumbi *et al.*, 2014). However, Akinwande *et al.* (2013) concluded that insect pests, diseases, and pesticide poisoning might be the main factors that underlie the declines in the establishment of honeybee colonies in Nigeria.

To date, no known studies have been published in Gabon on the pests, diseases, or any other potential threat to stingless bees or honeybees.

2.4 Diversity, distribution and abundance of highly eusocial bees: what are the challenges and issues that are related to the question of conservation, agriculture and economics?

The first challenge that is involved in this area of study is to improve the knowledge and the extent of the conservation of the diversity of social bees. This goal is essential and would be beneficial to the maintenance of bee populations but also to the maintenance of the balance within ecosystems due to the role played by bees in pollinating wild plants (Dietemann *et al.*, 2009). Indeed, Fontaine *et al.* (2006) showed that the loss of the functional diversity of pollinators could cause a loss or decline in the diversity of plants and could consequently affect the composition of the natural plant communities. Unlike some pollinators, social bees visit a variety of plants. Thus, in Uganda, *A. mellifera*, *M. bocandei* and *M. nebulata* visited, respectively, 71, 52 and 33 plants species according to Kajobe (2007b). In Gabon, Ambougou Atisso (1991) found pollen from 151 different plant species in the food reserves collected by *A. mellifera adansonii*, with 136 taxa represented in honey and 91 in pollen reserves. These plant taxa originated from various habitats, such as plantations, ruderal areas, fallow areas, secondary forests, dense forests, and riparian forests (Ambougou Atisso, 1991). Given these results, it can be observed that preserving ecosystem diversity in Gabon requires both the consideration of bees in conservation strategies and the sustainable management of forest resources. Therefore, an improvement in the availability of information in Gabon regarding bee diversity, ecology, biology, and potential threats is important.

On agronomic and economic levels, bees improve the quantity and quality of many food and cash-crop yields (Klein *et al.*, 2007; Vanbergen, 2014), such as citrus, coffee, maize, cassava, peanuts, safou, avocado, and many others (Ambougou Atisso, 1991; Tchuenguem Fohouo *et al.*, 2001; Tchuenguem Fohouo *et al.*, 2002), via their beneficial effect on pollination. The combination of crop cultivations and beekeeping could provide an opportunity for Gabon to develop its agriculture and could contribute to improved yields and the diversification of farmers' incomes.

Apiculture and stingless beekeeping vary from one country to another; apiculture has been developed in some African countries, such as Uganda, Ethiopia, South Africa, Kenya, and Cameroon (Dietemann *et al.*, 2009), but in Gabon, the practice is still in its infancy. Stingless

beekeeping is relatively developed in some countries in South America, such as Brazil (Cortopassi-Laurino *et al.*, 2006). In Africa, stingless beekeeping trials were conducted in Angola, and there is more interest in this breeding in other countries such as Ghana, Kenya, Botswana, and South Africa (Cortopassi-Laurino *et al.*, 2006).

In Gabon, stingless beekeeping is non-existent, and its development there remains a challenge. Generally, apiculture and stingless beekeeping are based on the use of bait hives or the transfer of wild colonies into hives in Africa (Dietemann *et al.*, 2009). Thus, better knowledge of the diversity, distribution, and abundance of honeybees and stingless bees according to the habitat or localities is essential for an extension of this breeding in Gabon.

Honey produced by stingless bees is used in traditional medicine by rural African populations. For example, Ewnetu *et al.* (2013) and Kwapong *et al.* (2013) showed that honey produced by stingless bees exhibits a superior inhibitory action on certain pathogenic agents (e.g., *Staphylococcus*, *Escherichia*, and *Klebsiella*) in comparison with those of some standard antibiotics. In Gabon, the honey produced by stingless bees and used in traditional medicine is known by two names: sweet honey, for honey produced by *M. bocandei*, and sour honey, for honey produced by all other stingless bees. Confusion could therefore arise when distinguishing the honey of other species and the medicinal properties of the product. Clarification of the taxonomy and study of the medicinal properties of the honey produced by stingless bees would increase its value.

African stingless bees and honeybees, research initiatives are currently being undertaken. One example can be observed in the African Pollinator Initiative, which brings together 15 African countries and focuses on the preservation, conservation, and improvement of knowledge regarding pollinators (Byrne *et al.*, 2009). In Gabon, further efforts are required to revive interest in research on social bees, especially because most studies on these insects were conducted more than 30 years ago.

2.5 Conclusion

Highly social bees (*Meliponini* and *Apini*) have been less studied in Africa. Although the bees' morphological description has allowed the identification of many *Meliponini* species, the taxonomy of stingless bees remains to be clarified. As a complementary tool, molecular analysis would be useful for clarifying the identification of stingless bee species in Africa. Morphometry is another tool that would allow the study of the shape and size of the bees according to the

species, locality, and ecosystem. Clarification of the taxonomy would facilitate the study of the diversity, biology, and ecology of social bees in Africa.

The study of potential threats to the Meliponini and Apini must be strengthened in Africa, especially considering the fact that habitat degradation endangers the diversity of social bees on the continent. Pests and diseases represent potential threats, and their impacts must be assessed and monitored in many African countries, including Gabon, where no such data currently exist. In addition, the impact of nest predation on the diversity of social bees during honey hunting also must be evaluated to obtain reliable data on the impact of this activity on social bees in Africa. Alternatives such as the extension of the breeding of social bees, especially in Gabon, should be implemented to reduce the impact of nest predation.

All of these aspects to be cleared up constitute challenges in relation to environmental issues, with the problems being the conservation of ecosystems, agricultural and economic aspects, better management and better exploitation of the social bees in Africa. The efforts that have already been made in the framework of the study of diversity, distribution and abundance will have to be continued and improved in Africa and especially in Gabon.

Acknowledgements

The authors thank the Gabonese government for financially supporting the Ph.D. of Edgard Fabre Anguilet. We also thank the Institut de Pharmacie et de Médecine traditionnelles, Institut de Recherche en Écologie Tropicale, the National Agency of the National Parks, Centre d'Introduction, d'Adaptation et de Multiplication du Matériel Végétal, and Precious Woods Gabon, for their logistical support. Lastly, we also thank Alain Pauly, family and friends for their helpful advice and kind cooperation.

Bibliography

- Akinwande K.L., Badejo M.A. and Ogbogu S.S., 2013. Challenges associated with the honey bee (*Apis mellifera adansonii*) colonies establishment in south western Nigeria. *Afr. J. Food Agric. Nutr. Dev.*, **13**(2), 7467-7484.
- Ambougou Atisso V., 1991. *Apis mellifera adansonii* Lat. et les plantes utiles mellifères gabonaises (Département de l'Ivindo), recherches palynologiques. PhD Thesis : Université Paris 6 (France).

- Boesch C., Head J. & Robbins M. M., 2009. Complex tool sets for honey extraction among chimpanzees in Loango National Park, Gabon. *J. Hum. Evol.*, **56**(6), 560-569.
- Bradbear N., 2010. *Le rôle des abeilles dans le développement rural*. FAO : Rome, <http://www.fao.org/docrep/013/i0842f/i0842f00.pdf> (12/11/2011).
- Brosset A. & Darchen R., 1967. Une curieuse succession d'hôtes parasites des nids de Nasutitermes. *Biol. Gab.*, **3**(2), 153-168.
- Brown M. J. F. & Paxton R. J., 2009. The conservation of bees: a global perspective. *Apidologie*, **40**(3), 410-416.
- Byrne A. & Fitzpatrick Ú., 2009. Bee conservation policy at the global, regional and national levels. *Apidologie*, **40**(3), 194-210.
- Combey R., Galaschi Teixeira J. S., Bonatti V., Kwapong P. & Francoy T. M., 2013. Geometric morphometrics reveals morphological differentiation within four African stingless bee species Rofela. *Ann. Biol. Res.*, **4**(12), 95-105.
- Cortopassi-Laurino M., Imperatriz-Fonseca V. L., Roubik D. W., Dollin A., Heard T., Aguilar I., Venturieri G. C., Eardley C. & Nogueira-Neto P., 2006. Global meliponiculture: challenges and opportunities. *Apidologie*, **37**(2), 275-292.
- Costa M. A., Del Lama M. A., Melo G. A.R. & Sheppard W. S., 2003. Molecular phylogeny of the stingless bees (Apidae, Apinae, Meliponini) inferred from mitochondrial 16S rDNA sequences. *Apidologie*, **34**(1), 73-84 ;
- Darchen R., 1969. Sur la biologie de *Trigona (Apotrigona) nebulata* Komiensis Cock. *Biol. Gab.*, **3**, 151-183.
- Darchen R., 1971. *Trigona (Axestotrigona) oyani* Darchen (Apidae, Trigoninae), une nouvelle espèce d'abeille africaine - description du nid inclus dans une fourmilière. *Biol. Gab.*, **7**, 407-421.
- Darchen R., 1972. Ecologie de quelques trigones (*Trigona* sp.) de la savane de Lamto (Cote D'Ivoire). *Apidologie*, **3**(4), 341-367.
- Dietemann V., Pirk C. W. W. & Crewe R., 2009. Is there a need for conservation of honeybees in Africa? *Apidologie*, **40**(3), 285-295.

- Drouineau S. & Robert N., 1999. L'aménagement forestier au Gabon historique, bilan, perspectives, <http://www.forafri.org/ressources/forafri/08.pdf> (12/11/2011).
- Eardley C. D., 2004. Taxonomic revision of the African stingless bees (Apoidea: Apidae: Apinae: Meliponini). *Afr. Plant. Protec.*, **10**(2), 63-96.
- Eardley C. D. & Urban R., 2010. Catalogue of Afrotropical bees (Hymenoptera: Apoidea: Apiformes). *Zootaxa*, **2455**, 1-548.
- Eardley C. D. & Kwapong P., 2013. Taxonomy as a tool for conservation of African stingless bees and their honey. In: Vita P., Pedro S. & Roubik D.W., eds. *Pot-honey: a legacy of stingless bees*. New York: Springer, 261-268.
- Ellis J. D., 2005. Reviewing the confinement of small hive beetles (*Aethina tumida*) by western honey bees (*Apis mellifera*). *Bee World*, **86**(3), 56-62.
- Ewnetu Y., Lemma W. & Birhane N., 2013. Antibacterial effects of *Apis mellifera* and stingless bees honeys on susceptible and resistant strains of *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Klebsiella pneumoniae* in Gondar, Northwest Ethiopia. *BMC Complem. Altern. M.*, **13**,269.
- Fontaine C., Dajoz I., Meriguet J. & Loreau M. (2006) Functional diversity of plant–pollinator interaction webs enhances the persistence of plant communities. *PLoS Biol.*, **4**(1), e1.
- Franck P., Garnery L., Loiseau A., Oldroyd B. P., Hepburn H. R., Solignac M. & Cornuet J. M., 2001. Genetic diversity of the honeybee in Africa: microsatellite and mitochondrial data. *Heredity*, **86**(4), 420-430.
- Gruber K., Schoning C., Otte M., Kinuthia W. & Hasselmann M., 2013. Distinct subspecies or phenotypic plasticity? Genetic and morphological differentiation of mountain honey bees in East Africa. *Ecol. Evol.*, **3**(10), 3204-3218.
- Hepburn H. R. & Radloff S. E., 1998. *Honeybees of Africa*. Berlin: Springer Verlag.
- Hepburn H. R. & Radloff S. E., 2011. Biogeography of the dwarf honeybees, *Apis andreniformis* and *Apis florea*. *Apidologie*, **42**(3), 293-300.
- Jaffé R., Dietemann V., Allsopp M. H., Costa C., Crewe R. M., Dall'olio R, De La Rúa P., El-Niweiri M. A. A., Fries I., Kezic N., Meusel M. S., Paxton R. J., Shaïbi T., Stolle E., &

- Moritz R. F. A., 2009. Estimating the density of honeybee colonies across their natural range to fill the gap in pollinator decline censuses. *Conserv. Biol.*, **24**(2), 583-593.
- Kajobe R. & Roubik D. W., 2006. Honey-Making Bee Colony Abundance and Predation by Apes and Humans in a Uganda Forest Reserve. *Biotropica*, **38**(2), 210-218.
- Kajobe R., 2007a. Nesting biology of equatorial Afrotropical stingless bees (Apidae; Meliponini) in Bwindi Impenetrable National Park, Uganda. *J. Api. Res. and Bee World*, **46**(4), 245-255.
- Kajobe R., 2007b. Pollen foraging by *Apis mellifera* and stingless bees *Meliponula bocandei* and *Meliponula nebulata* in Bwindi Impenetrable National Park, Uganda. *Afr. J. Ecol.*, **45**(3), 265-274.
- Kandemir İ., Özkan A. & Fuchs S., 2011. Reevaluation of honeybee (*Apis mellifera*) microtaxonomy: a geometric morphometric approach. *Apidologie*, **42**(5), 618-627.
- Klatt BK, Holzschuh A, Westphal C, Clough Y, Smit I, Pawelzik E, Tscharnkte T. 2014 Bee pollination improves crop quality, shelf life and commercial value. *Proc. R. Soc. B.*, **281**, 2013-2440.
- Klein A. M., Vaissière B. E., Cane J. H., Steffan-Dewenter I., Cunningham S. A., Kremen C. & Tscharnkte T., 2007. Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. *Proc. R. Soc. B*, **274**, 303-313.
- Kwapong P. K., Ilechie A. A. & Kusi R., 2013. Comparative antibacterial activity of stingless bee honey and standard antibiotics against common eye pathogens. *J. Microbiol. Biotech. Res.*, **3**(1), 162-168.
- Mc Nally L. C. & Schneider S., S., 1996. Spatial distribution and nesting biology of colonies of the African honey bee *Apis mellifera scutellata* (Hymenoptera: Apidae) in Botswana, Africa. *Environ. Entomol.*, **25**(3), 643-652.
- McLennan M. R., 2011. Tool-use to obtain honey by chimpanzees at Bulindi: new record from Uganda. *Primates*, **52**(4), 315–322.
- Meixner D. M., Leta M. A., Koeniger N. & Fuchs S., 2011. The honey bees of Ethiopia represent a new subspecies of *Apis mellifera*—*Apis mellifera simensis* n. ssp. *Apidologie*, **42**(3), 425-437.

- Michener C. D., 2007. *The bee of the word*. 2d ed. Baltimore: Johns Hopkins University Press.
- Mogho Njoya M. T., 2009. *Diversity of Stingless Bees in Bamenda Afromontane Forests – Cameroon: Nest architecture, Behaviour and Labour calendar*. PhD Thesis: Wilhelms Universität Bonn - Institut für Nutzpflanzenwissenschaften und Ressourcenschutz Rheinische Friedrich (Deutschland).
- Mumbi C. T., Mwakatobe A. R., Mpinga I. H., Richard A. & Machumu R., 2014. Parasitic mite, *Varroa* species (Parasitiformes: Varroidae) infesting the colonies of African honeybees, *Apis mellifera scutellata* (Hymenoptera: Apidae) in Tanzania. *J. Entomol. Zool. Stud.*, 2(3), 188-196.
- Mumoki F.N., Fombong A., Muli E., Muigai A.W.T. & Masiga D., 2014. An inventory of documented diseases of African honeybees: review article. *Afr. Entomol.*, 22(3), 473-487.
- Muli E, Patch H, Frazier M, Frazier J, Torto B, Baumgarten T., Kilonzo J., Ng'ang'a Kimani J., Mumoki F., Masiga D., Tumlinson J. & Grozinger C., 2014. Evaluation of the distribution and impacts of parasites, pathogens, and pesticides on honeybee (*Apis mellifera*) populations in East Africa. *PLoS ONE*, 9(4), e94459.
- Ollerton J., Winfree R. & Tarrant S., 2011. How many flowering plants are pollinated by animals? *Oikos*, 120(321), 321–326
- Pauly A., 1998. *Hymenoptera Apoidea du Gabon*. Tervuren, Belgique : Musée Royal de l'Afrique Centrale Tervuren. Annales Sciences Zoologique, 282.
- Pauly A. & Hora Z. A., 2013a. Apini and Meliponini from Ethiopia (Hymenoptera: Apoidea: Apidae: Apinae), *Belg. J. Entomol.*, 16, 1-36.
- Pauly A. & Fabre Anguilet E. C., 2013b. Description de *Liotrigona gabonensis* sp. nov., et quelques corrections à la synonymie des espèces africaines de mélipones (Hymenoptera : Apoidea : Apinae : Meliponini). *Belg. J. Entomol.*, 15, 1-13.
- Pauly A. et Vereecken N., 2013c. Les Meliponinae africaines.
- <http://www.atlashymenoptera.net/page.asp?ID=121> (03/12/2014)
- Pettis J. S. & Delaplane K. S., 2010. Coordinated responses to honey bee decline in the USA. *Apidologie*, 41(3), 256-263.

- Présidence de la République Gabonaise, 2001. *Loi N°16/01 portant code forestier en république gabonaise*.
- Radloff S. E. & Hepburn H. R., 1999. Honeybees, *Apis mellifera* Linnaeus (Hymenoptera: Apidae), of equatorial Africa. *Afr. Entomol.*, **7**(2), 265-269.
- Rasmussen C. & Cameron S. A., 2010. Global stingless bee phylogeny supports ancient divergence, vicariance, and long distance dispersal. *Biol. J. Linn. Soc.*, **99**(1), 206-232.
- Ruttner F., 1988. *Biogeography and taxonomy of honeybees*. Springer-Verlag: Berlin.
- Smith F.G., 1961. The races of honeybees in Africa, *Bee World*, **42**, 255-260.
- Strauss U., Human H., Gauthier L., Robin Crewe M., Dietemann V. & Pirk C. W.W., 2013. Seasonal prevalence of pathogens and parasites in the savannah honeybee (*Apis mellifera scutellata*). *J. Invertebr. Pathol.*, **114**, 45-52.
- Tornyie F & Kwapong P. K., 2015. Nesting ecology of stingless bees and potential threats to their survival within selected landscapes in the northern Volta region of Ghana. *Afr. J. Ecol.* Online doi: 10.1111/aje.12208.
- Tchuenguem F.-N., Messi, J. & Pauly A., 2001. Activité de *Meliponula erythra* sur les fleurs de *Dacryodes edulis* et son impact sur la fructification. *Fruits*, **56**(3), 179-188.
- Tchuenguem F.-N., Messi, J. & Pauly A., 2002. Recherches sur l'activité des Apoïdes sauvages sur le maïs à Yaoundé (Cameroun) et réflexions sur la pollinisation des graminées. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, **6**(2), 87-98.
- Van Der Zee R., Pisa L., Andonov S., Brodschneider R., Charrière J.-D., Chlebo R., Coffey M. F., Crailsheim K., Dahle B., Gajda A., Gray A., Drazic M. M., Higes M., Kauko L., Kence A., Kence M., Kezic N., Kiprijanovska H., Kralj J., Kristiansen P., Hernandez R. M., Mutinelli F., Nguyen B. K., Otten C., Özkırım A., Pernal S. F., Peterson M., Ramsay G., Santrac V., Soroker V., Topolska G., Uzunov A., Vejsnæs F., Wei S. & Wilkins S., 2012. Managed honey bee colony losses in Canada, China, Europe, Israel and Turkey, for the winters of 2008-9 and 2009-10. *J. Apic. Res.*, **51**(1), 100-114.
- Vanbergen A. J., 2014. Landscape alteration and habitat modification: impacts on plant – pollinator systems. *Curr. Opin. Insect Sci.*, **5**, 44-49.

WRI (World Resources Institute), 2013. The interactive forest atlas of Gabon, <http://www.wri.org/our-work/project/congo-basin-forests/gabon#project-tabs>, (16/06/2014).

TROISIEME PARTIE : DIVERSITE ET DENSITE DE NIDS

Chapitre 3 Description de *Liotrigona gabonensis* sp. nov., et quelques corrections à la synonymie des espèces africaines de mélipones (Hymenoptera : Apoidea : Apinae : Meliponini)

L'état des connaissances sur la taxonomie, la distribution et les enjeux relatifs aux abeilles sociales (Apini et Meliponini) a été présenté dans la synthèse bibliographique. Les Meliponini présentent de nombreux points d'ombre en ce qui concerne leur taxonomie. L'identification des espèces est un élément important pour effectuer une étude de diversité d'espèces. Aussi, le présent chapitre donne la description d'une nouvelle espèce et une révision taxonomique de quelques espèces de Meliponini. Ceci afin de contribuer à la clarification de la taxonomie de ces abeilles. Deux clés d'identification disponibles en ligne ont été utilisées :

Eardley C. D., 2004. Taxonomic revision of the African stingless bees (Apoidea: Apidae: Apinae: Meliponini). *Afr. Plant. Protec.*, 10(2), 63-96.

<http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.520.8427&rep=rep1&type=pdf>

Eardley *et al.* (2010). Les genres et sous-genres d'abeilles de l'Afrique subsaharienne.

<http://www.abctaxa.be/volumes/volume-9-les-genres-et-sous-genres-dabeilles-de>

Adapté de Alain PAULY et Edgard Cédric FABRE ANGUILET. *Belgian Journal of Entomology*, 15:1-13 (2013)

Résumé

Liotrigona gabonensis **sp. nov.** est décrite du Gabon. Un nid de cette nouvelle espèce découvert dans un tronc d'arbre est aussi décrit et illustré. Quelques corrections sont apportées à la révision de EARDLEY (2005): un lectotype est désigné pour *Liotrigona bouyssoui* (Vachal, 1903) (**comb. nov.**) ; *Hypotrigona penna* Eardley, 2005 est un synonyme junior de *Hypotrigona squamuligera* Benoist, 1937 (**syn. nov.**); *Meliponula erythra* (Schletterer, 1891) et *M. togoensis* (Stadelman, 1895) sont considérés comme valides (**noms ressuscités**).

Mots clé : Meliponini, Africa, nest, new species, new synonymy, resurrected names, new combination.

3.1 Introduction

Les mélipones africaines ont récemment fait l'objet d'une révision systématique (EARDLEY, 2005) ainsi que d'une page web sur le site "Atlas Hymenoptera" apportant plusieurs modifications à la classification (PAULY & VEREECKEN, 2013). Nous publions ici ces corrections ainsi que la description du nid d'une nouvelle espèce, *Liotrigona gabonensis*. Au total 20 espèces de Meliponinae sont connues du continent africain. La nouvelle espèce décrite ici vient s'ajouter aux deux autres espèces de *Liotrigona* décrites du continent. A noter que Madagascar compte à elle seule 7 espèces endémiques de *Liotrigona*, mais aucun autre genre de Meliponinae. Le nid de deux espèces y est décrit, le premier construit dans un tronc d'arbre (BROOKS & MICHENER, 1988), l'autre dans une tige de bambou (PAULY *et al.*, 2001). Au Gabon, on compte 15 espèces dont la répartition a été étudiée par PAULY (1998). *Liotrigona gabonensis* sp. nov. avait été découverte du Gabon dans les récoltes de 1984-87 mais la récolte récente du nid par l'un d'entre nous (FA) justifie aujourd'hui sa description. Une autre espèce nouvelle de *Liotrigona* découverte en Ethiopie, au Congo et en Angola, est décrite dans un travail séparé (PAULY & HORA, 2013). *Liotrigona bouyssoui* (Vachal, 1903) avait été erronément placée par Eardley (2005) dans le genre *Hypotrigona* Cockerell, 1934. Après examen des syntypes à Paris, nous avons ressuscité ce nom qui est prioritaire pour *Liotrigona parvula* (Darchen, 1971).

Eardley (2005) avait mis plusieurs taxons en synonymes de *Meliponula ferruginea* (Lepelletier, 1941). L'examen de nombreux spécimens et des genitalia des mâles nous suggère cependant que *M. erythra* (Schletterer, 1891) et *M. togoensis* (Stadelmann, 1895) sont des espèces valides.

3.2 Matériel et méthodes

Les acronymes suivants sont utilisés pour désigner les collections où les spécimens sont déposés: BMNH : Natural History Museum, London, UK (British Museum (Natural History))
FSAG: Unité d'Entomologie fonctionnelle et évolutive, Gembloux Agro-Bio Tech, Université de Liège, Belgique (ex Faculté des Sciences Agronomiques de Gembloux).

IRSNB: Institut Royal des Sciences naturelles de Belgique, Entomologie, Bruxelles, Belgique.

MRAC: Musée Royal de l'Afrique Centrale, Tervuren, Belgique.

MNHN: Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris, France.

NHMW: Naturhistorisches Museum, Wien, Autriche.

UR: University of Reading (matériel récolté par le projet Darwin au Congo-Brazzaville).

3.3 Résultats

***Liotrigona gabonensis* Pauly & Fabre Anguilet sp. nov.** (Figs 1, 2, 4 e f, 7, 8)

Description: Cette nouvelle espèce diffère des autres *Liotrigona* connues du continent africain par la taille plus grande (2,5 mm), les pattes plus sombres (en particulier les tibias intermédiaires presque noirs) (Fig. 1 b), la tête assez large (Fig. 4 e) et surtout la face à soies simples ou uniramifiées, transversales (Fig. 4 f). La ponctuation du scutum est fine et pas très distincte (Fig. 1 c).

Distribution: Gabon, Congo-Brazzaville, R. D. Congo (Parc National de la Garamba) (Fig. 2).

Holotype ♀: Gabon, Estuaire, Kougouleu, 21.XII.1985, *Zea mais*, leg. A. Pauly (IRSNB).

Paratypes : Gabon. Estuaire: Kougouleu, 21.XII.1985, *Zea mais*, 2♀, chemin forestier, 2♀ ; 9.IX.1986, *Dacryodes edulis*, 2♀, leg. A. Pauly. – Kougouleu, 2013, nest, leg. F. Anguilet (FSAG, IRSNB). – Ntoun- Donguila, 22.VIII.1985, bord rivière forestière, sur la boue, 3D , leg. A. Pauly. – Ntoun, 14.X.1984, 1D , leg. A. Pauly. Moyen-Ogooué: Divinré, 29.XII.1985, *Borreria* sp., 2♀, leg. A. Pauly. NYANGA: Makaba-Ndilo, 29.III.1986, 4♀, leg. A. Pauly. Ogooué-Lolo: Paris (1°19'S 12°30'E), 29.I.1986, *Sesamum* sp., 1♀, leg. A. Pauly. WOLEU-NTEM: Benguié, 1.V.1986, *Ipomoea* sp. 152, 1D, leg. A. Pauly (IRSNB).

Congo-Brazzaville: Maboulou, 3°50.897S 11°52.961E, 30.XI-1.XII.2007, 5♀ (Darwin Project ; UR, IRSNB).

R.D. Congo: Parc National de la Garamba, Aka, 14.V.1952, 27♀ (Mission H. De Saeger n°3450 ; MRACT).

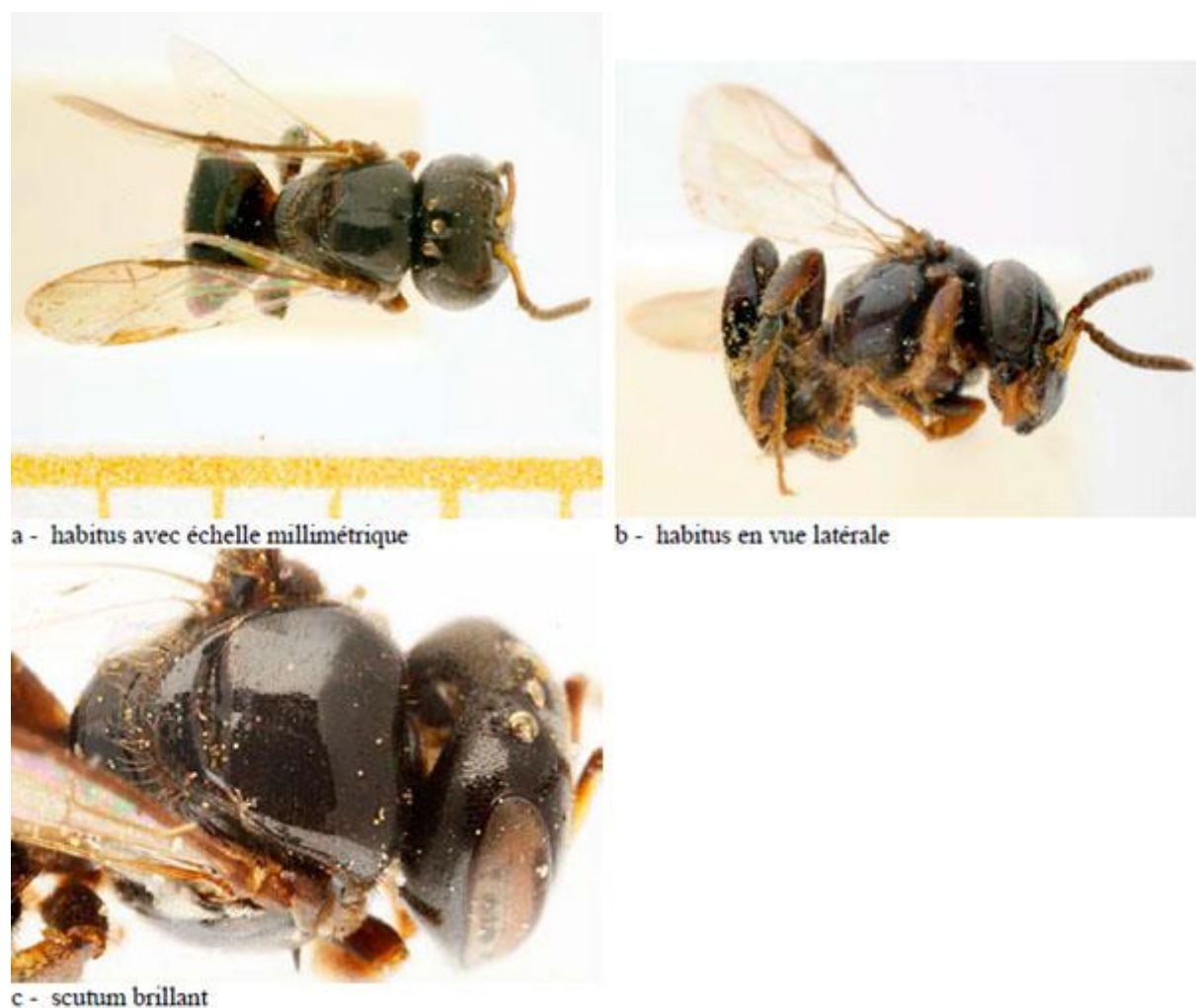


Figure 1. *Liotrigona gabonensis* sp. nov., holotype and paratype du Gabon



Figure 2. Carte de répartition de *Liotrigona gabonensis* sp. nov.

Liotrigona bouyssoui (Vachal, 1903) (Fig. 3, 4 c d)

Melipona (Trigona) bouyssoui Vachal, 1903: 360. Lectotype ♀: Rio Mouny, 1898, leg. J. Bouyssou (MNHNP), désigné ici.

= *Trigona (Liotrigona) parvula* Darchen, 1971a: 403. Types: Côte d'Ivoire, Lamto, leg. R. J. Darchen Col. 14/11/62, Bruco, 26.II–2.III.1972. Eardley, 2005 (1 paratype ♀ au BMNH). **Syn. nov.**

Remarque: Quatre ouvrières étiquetées *M. bouyssoui* par Vachal au Muséum de Paris ont été examinées et l'une d'elles désignée comme lectotype (Fig. 3). Contrairement à ce qu'écrit EARDLEY (2005), cette espèce n'est pas une *Hypotrigona* mais bien une *Liotrigona*. En effet, Vachal mentionne dans sa description originale en latin que le scutum est “lucida”, ce qui signifie “brillant”. La petite taille correspond à *Liotrigona parvula* qui est par conséquent considéré ici comme un synonyme.

Diagnose: Pattes orangées et soies de la face d'apparence écailleuse (ramifiées lorsque vues au SCAN) (Fig. 4 d) comme chez *Liotrigona bottegoi* (Figs 4 a b). En diffère essentiellement par la taille plus petite (1,75-2 mm) (Fig. 3 a). On peut confirmer l'identification par la tête un peu plus étroite (Fig. 4 c), la face plus souvent déprimée entre les sockets antennaires, le scutum à ponctuation plus superficielle, plus éparse et un peu moins pubescent (Fig. 3 d), les pleures plus brillantes à ponctuation plus éparse.

Distribution: Sénégal, Libéria, Burkina-Faso, Côte d'Ivoire, Togo, Cameroun, Gabon, R.D. Congo, Angola. EARDLEY (2005) mentionne aussi pour *L. parvula*: Zimbabwe, Botswana, Afrique du Sud, Namibie.

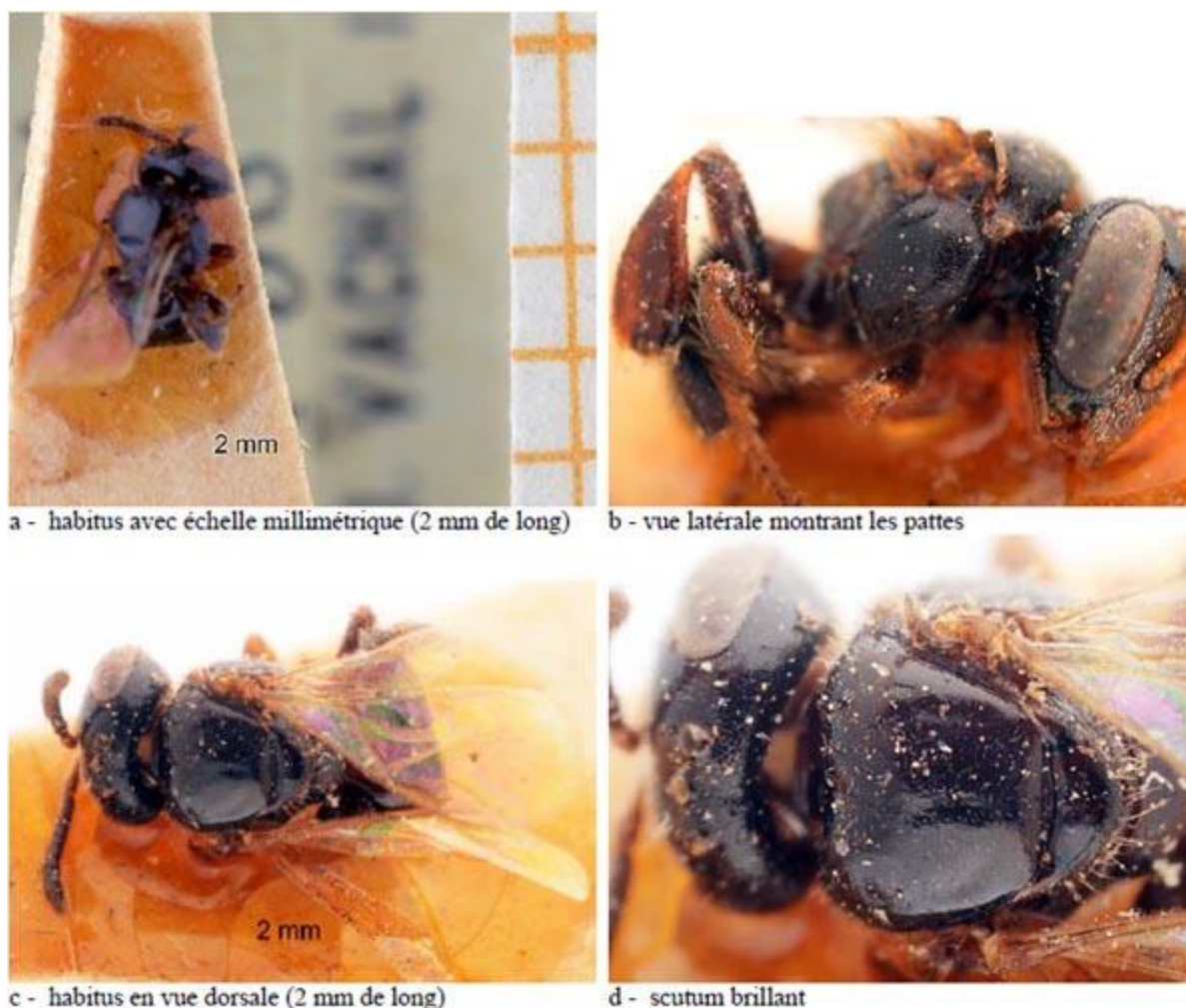


Figure 3. *Liotrigona bouyssoui*, lectotype ♀ de Rio Mouny (MNHNP).

Hypotrigona squamuligera Benoist, 1937 (Fig. 4 g h)

Melipona squamuligera Benoist, 1937. Holotype ♀: Soudan Anglo-Egyptien, Gallabal, 850m, V.1932, pris le soir à la lumière, leg. Griaule n°59 (MNHNP), examiné.

= *Hypotrigona penna* Eardley, 2005, **syn. nov.** Holotype ♀: Mali, Mourdiah, 25–31.VIII.1986, M Matthews (BMNH).

Remarque: La publication de BENOIST (1937) a été omise dans la révision de Eardley (2005). Cette espèce bien caractérisée par sa pubescence (Fig. 4 g h) est facilement identifiable par sa description originale. Le type à Paris a été examiné pour confirmer son identité.

Distribution: Zone sahélienne du Sénégal, Mali, Burkina-Faso, Niger, Togo, Cameroun, Soudan.

Nid: D'après les observations de madame Gessain au Sénégal (non publié, matériel au Museum de Paris), cette espèce niche dans le sol.

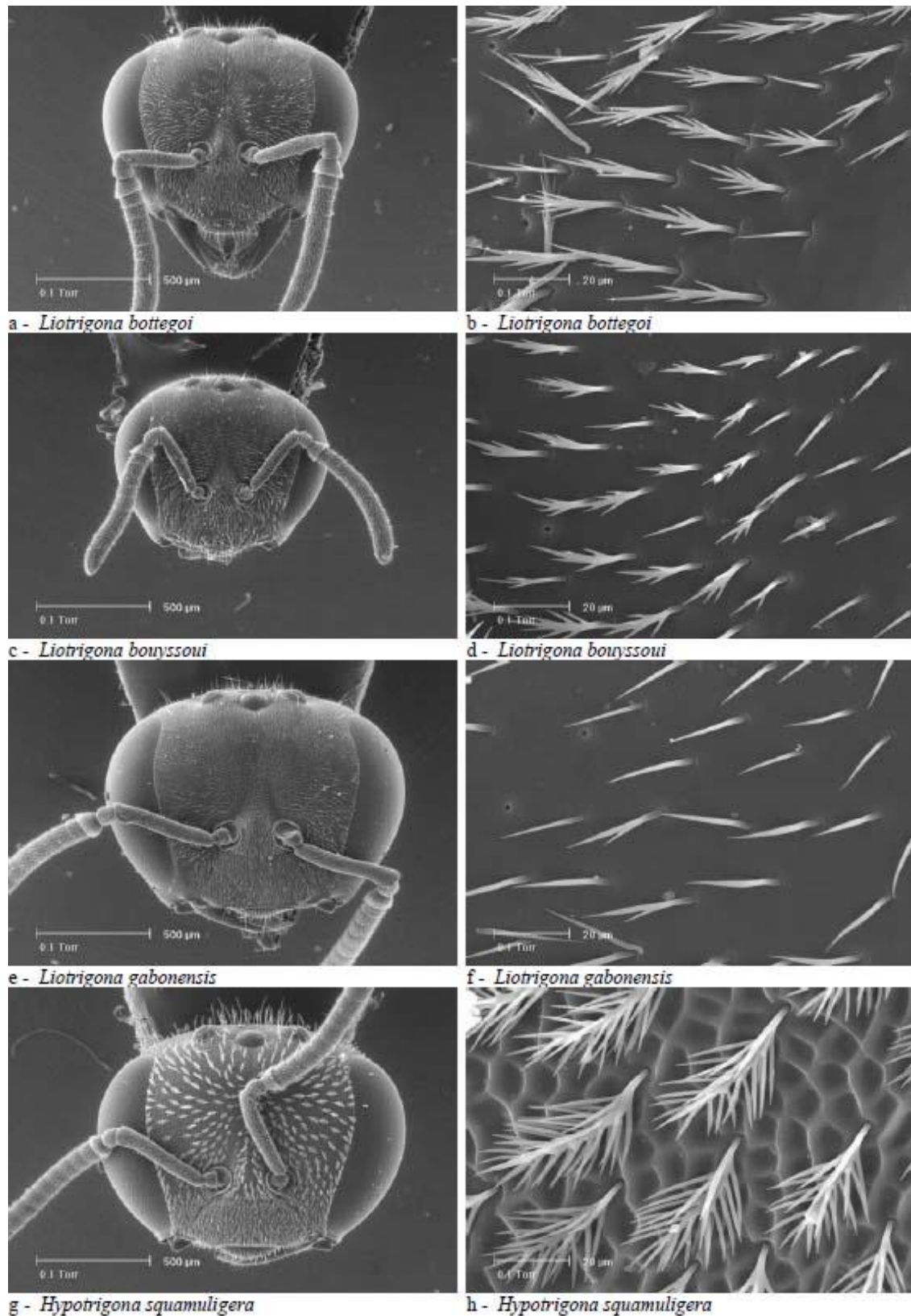


Figure 4. Têtes de *Liotrigona* (a-f) et *Hypotrigona* (g-h), avec détails de la pilosité du front vue au microscope électronique.

Meliponula (*Axestotrigona*) *erythra* (Schletterer, 1891), nom ressuscité (Figs 5 b, 6 a)

Trigona erythra Schletterer, 1891: 1. Lectotype D (NHMW) et 5 paratypes v (IRSNB): “Equateur-Congo, Cap Van Gele”, paratypes examinés.

= *Trigona (Axestotrigona) oyani* Darchen, 1971b: 407. Lectotype v: Gabon, Makokou, Miss. Biologique P.P.G., R.J. Darchen col. 3/1967 (MNHNP), examiné et désigné ici. **Syn. nov.**

Remarque: Cette espèce n'est pas un synonyme de *M. ferruginea* (Lepeletier, 1841) contrairement à ce qu'en dit EARDLEY (2005). *M. erythra* a le metasoma complètement rouge (Fig. 5 b) tandis que *M. ferruginea* a le metasoma rouge rayé de noir (Fig. 5 a). *M. erythra* est généralement un peu plus grand (6,5 mm) que *M. ferruginea* et *M. togoensis*. Les genitalia du mâle de *M. erythra* (Fig. 6 a) sont beaucoup plus grands que ceux de *M. togoensis* (Fig. 6 b). Dans PAULY (1998), avant d'avoir revu le type, le matériel de *M. ferruginea* a erronément été publié sous le nom de *M. erythra*, tandis que le matériel du vrai *M. erythra* a été publié sous le nom de *M. oyani*.

Distribution: Espèce forestière du Gabon, Congo-Brazzaville et R. D. Congo.

Nid: selon DARCHEN (1971) nicherait au Gabon exclusivement dans les fourmillières en carton de *Crematogaster* accolées aux troncs des arbres.

Meliponula (Axestotrigona) togoensis (Stadelmann, 1895), nom ressuscité (Fig. 5 c, 6 b)

Melipona togoensis Stadelmann, 1895: 620. Lectotype ♀: Togo, Bismarckburg, 19.XI.1892, leg. Conradt (NHMW), perdu ? (selon EARDLEY 2005); paratypes signalés par Friese à Berlin.

Remarque: Cette espèce n'est pas un synonyme de *M. ferruginea* (Lepeletier, 1841) contrairement à ce qu'en dit EARDLEY (2005). Elle en diffère par le metasoma complètement noir (Fig. 5 c). Chez *M. ferruginea*, le metasoma est rouge rayé de noir. Les genitalia du mâle de *M. togoensis* (Fig. 6 b) sont beaucoup plus petits que ceux de *M. erythra* (Fig. 6 a).

Dans la thèse de KAJOBE (2006), on peut lire que les pygmées de la Forêt Impénétrable du Bwindi National Park (Ouganda) donnent des noms vernaculaires différents. *M. ferruginea*, ou "forme brune", est dénommée "Obuganza". *M. togoensis* ou "forme noire" est dénommée "Obugashu".

Distribution (matériel examiné): Sénégal, Guinée, Côte d'Ivoire, Ghana, Togo, Bénin, Cameroun, Gabon, R.D. Congo, Ouganda, Tanzanie, Mozambique.

Nid: en Tanzanie niche dans le tronc ou les branches des grands arbres (SMITH, 1954). Aussi en Ouganda (KAJOBE, 2006).



Figure 5. Metasoma de *Meliponula ferruginea*, *M. erythra* et *M. togoensis*.

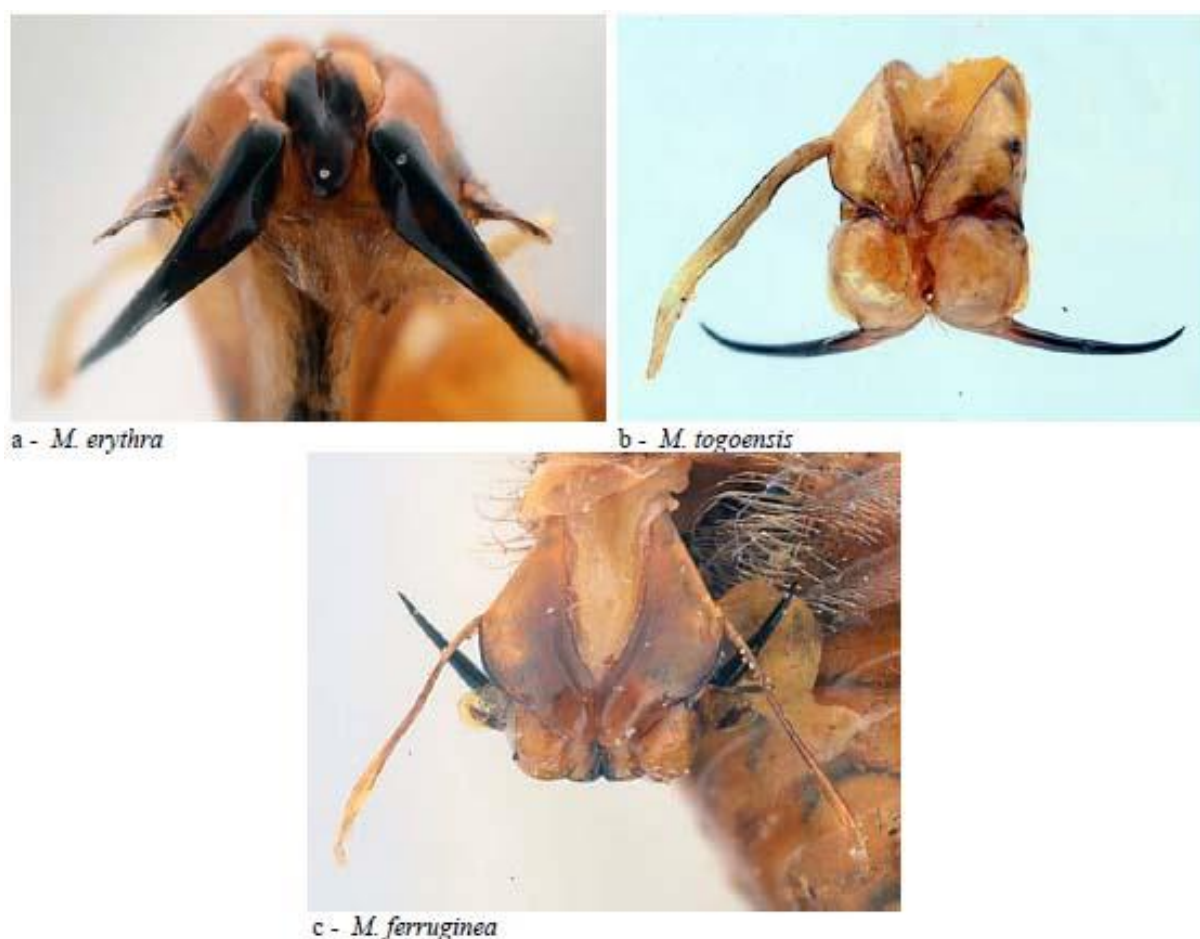


Figure 6. Genitalia de *Meliponula erythra*, *M. togoensis* et *M. ferruginea*.

Description du nid de *Liotrigona gabonensis* sp. nov.

Un nid de *Liotrigona gabonensis* a été découvert en 2013 par l'un des auteurs (FA) à Kougouleu au Gabon, dans la cavité d'un tronc abattu de parasolier (*Musanga cecropioides* R. Br. ex Tedlie) (Fig. 7 a, b). Vu de l'extérieur, le nid apparaît comme une coque de résine brun grisâtre accolée au tronc. Les abeilles accèdent au nid par un tube long d'une dizaine de centimètres et d'un diamètre externe de 5 cm, l'entrée étant dirigée vers le bas (Fig. 7 b, c). Ce tube est enveloppé dans une épaisse coque de résine contrairement à ceux des *Hypotrigones* beaucoup plus fins. L'espace entre la paroi interne du tube et la paroi de la coque est constitué par un labyrinthe (Fig. 7 d).



Figure 7. Nid de *Liotrigona gabonensis* sp. nov.

Après avoir cassé et retiré le tube d'entrée, on observe un petit trou qui relie la coque extérieure et l'intérieur du nid situé dans le tronc (Fig. 8 a). Dans cette cavité allongée du tronc, mesurant une douzaine de centimètres de long et trois ou quatre centimètres de large (Fig. 8 b), on découvre le couvain disposé en amas (Fig. 8 c), des pots pour le stockage des réserves alimentaires et des amas de cérumen (Fig. 8 d). Les parois de la cavité sont tapissées d'une légère couche de cérumen.



Figure 8. Nid de *Liotrigona gabonensis*, sp. nov.

Références

- BENOIST R., 1937. - Une nouvelle espèce d'Africaine du genre *Melipona*. *Revue française d'Entomologie*, 4: 81-182.
- BROOKS R.W. & MICHENER C.D., 1988. - The Apidae of Madagascar and nests of *Liotrigona* (Hymenoptera). *Sociobiology*, 14: 299–323.
- DARCHEN R., 1971. - Description d'une abeille sociale de très petite taille *Trigona* (*Liotrigona*) *parvula* n.sp. Darchen (Apidae Trigoninae) trouvée dans la savane de Lamto (Côte d'Ivoire). *Biologia Gabonica*, 7: 403-406.
- DARCHEN R., 1971. - *Trigona* (*Axestotrigona*) *oyani* Darchen (Apidae, Trigoninae), une nouvelle espèce d'abeille africaine - Description du nid inclus dans une fourmilière. *Biologia Gabonica*, 7: 407-421.
- EARDLEY C.D., 2005. - Taxonomic revision of the African stingless bees (Apoidea: Apidae: Apinae: Meliponini). *African plant protection*, 10: 63-96.
- KAJOBE R., 2006. - *Foraging ecology of equatorial afrotropical stingless bees: habitat selection and competition for resources*. PhD Thesis, Faculty of Sciences, Utrecht.

- PAULY A., 1998. - Hymenoptera Apoidea du Gabon. *Annales du Musée royal de l'Afrique centrale (Sciences zoologiques), Tervuren (Belgique)*, 282: 1-121.
- PAULY A., BROOKS RW., NILSSON LA., PESENKO YA., EARDLEY CD., TERZO M., GRISWOLD T., SCHWARZ M., PATINY S., MUNZINGER J. & BARBIER Y. 2001. - Hymenoptera Apoidea de Madagascar et des îles voisines. *Annales du Musée royal de l'Afrique centrale (Sciences Zoologiques), Tervuren (Belgique)*, 286: 1-406.
- PAULY A. & HORA Z., 2013. - Apini and Meliponini from Ethiopia (Hymenoptera Apoidea Apidae Apinae). *Belgian Journal of Entomology*, sous presse.
- PAULY A. & VERECKEN N., 2013. - *Les Meliponinae africaines*.
<http://www.atlashymenoptera.net/page.asp?ID=121>
- SCHLETTERER A., 1891. - Hymenoptera in expeditione sub auspicio regii imperii belgici perfecta in regione Africae ad Congo flumen inferius collecta detreminata sive descripta. *Annales de la Société Entomologique de Belgique*, 35: 1–34.
- SMITH F.G., 1954. - Notes on the biology and waxes of four species of African *Trigona* bees (Hymenoptera: Apidae). *Proceedings of the Royal Entomological Society (A)*, 29: 62-70.
- STADELMANN H., 1895. - Beiträge zur Kenntniss der Gattung *Melipona* sens. lat. *Sitzbericht der Königlich, Preussischen, Akademie der Wissenschaften, Berlin*, 1895: 615–623.
- VACHAL J., 1903. - Hyménoptères du Congo Français Rapportés par l'ingénieur J. Bouyssou. Mellifera. *Annales de la Société Entomologique de France*, 72: 358–400.

Chapitre 4 Présentation des zones d'étude

Après avoir présenté le contexte général, les objectifs, la synthèse bibliographique et une révision taxonomique, le chapitre 4 fournit une description générale des zones et localités dans lesquelles les travaux relatifs à l'étude de la diversité, de la densité de nids et des parasites ont été réalisés.

Le Gabon est un pays d'Afrique Centrale qui s'étend sur une superficie de 267 667 km² pour une population de 1 811 079 habitants (Barret, 1983, Direction Générale de la Statistique, 2015). Les pays limitrophes du Gabon sont la Guinée Equatoriale et le Cameroun au Nord, la République du Congo à l'Est et au Sud. L'Océan Atlantique borde les côtes dans la partie Ouest du Gabon. Le Gabon est l'un des pays faiblement peuplés d'Afrique avec une densité de population de 6,8 habitants au km² en 2013 (Direction Générale de la Statistique, 2015). Cette faible densité générale cache une forte inégalité de la répartition de la population (Direction Générale de la Statistique, 2015). En effet, 87% de la population est essentiellement urbaine et concentrée sur 1,1 % du territoire national (Direction Générale de la Statistique, 2015). Ainsi la densité dépasse 3700 habitants au km² dans la capitale administrative Libreville et 2 480 habitants au km² dans la capitale économique Port-Gentil (Direction Générale de la Statistique, 2015). L'économie au Gabon est orientée principalement vers l'exploitation des ressources naturelles, principalement l'exploitation pétrolière, forestière et des ressources minières (Barret, 1983). Les surfaces cultivées représentent 5% de la superficie totale du pays (Drouineau *et al.*, 1999). Cependant, l'agriculture vivrière basée sur la pratique de la jachère et l'agriculture itinérante sur brulis constitue une pression anthropique non négligeable et localisée aux abords des pôles de population tels que la capitale administrative Libreville (Drouineau *et al.*, 1999)(Figure 1).

Trois zones d'études ont été choisies pour réaliser les travaux relatifs à la présente thèse. Ces zones ont été choisies dans un premier temps en raison de l'existence de données sur la présence d'espèces d'abeilles (Apini et Meliponini). Ces données proviennent des collectes réalisées entre 1984 et 1987 au Gabon par Pauly (1998). Les zones d'étude ont été également choisies pour l'historique des pressions anthropiques (exploitation forestière et agriculture) au sein de ces dernières. Pour la réalisation des travaux du Chapitre 5 et 6, des points de collectes (appelés sites) et des transects ont été disposés de façon aléatoire dans une parcelle d'environ 4 X 5 km.

Localité de Kougouleu

La province de l'Estuaire abrite la localité de Kougouleu (Figure 2). Cette localité comme une grande partie de la province de l'Estuaire a fait l'objet d'une importante activité d'exploitation forestière. L'exploitation forestière dans cette région a été menée durant des décennies sans pratiques de gestion durable. Parallèlement à l'exploitation forestière, l'agriculture sur brulis avec des jachères de plus en plus courtes est également pratiquée dans la localité de Kougouleu. De plus la population dans la province de l'Estuaire est passée de 102577 à 895689 habitants

entre 1970 et 2013 (Lopez-Escartin, 1991; Direction Générale de la Statistique, 2015). Bien qu'essentiellement urbaines, les populations de cette province pratiquent depuis de nombreuses années le défrichage de la forêt le long des principaux axes routiers (Figure 1). Ainsi, si la densité de population au sein de la localité de Kougouleu est de 1,7 habitant au km², la pression anthropique liée à l'agriculture dans cette localité provient en grande partie des populations de la capitale Libreville dont la densité est de 3724.6 habitants au km² (Direction Générale de la Statistique, 2015). La localité de Kougouleu est située dans le bassin sédimentaire côtier dont l'altitude est généralement inférieure à 200 m au-dessus du niveau de la mer (Christy *et al.*, 2003). La pluviométrie moyenne est de 2400 mm (Drouineau & Robert 1999).

La concession forestière de Precious Woods Gabon

La concession forestière de Precious Woods Gabon (PW) a été mise en place en 1987 (Medjibe *et al.*, 2013). Cette concession forestière est située dans le Sud-est du Gabon à environ 30 km de la ville de Lastoursville (Figure 2). Elle est sous aménagement durable (CFAD) et couvre une superficie totale de 616 700 ha (Medjibe *et al.*, 2013). La densité de population de population est de 2 habitants au km² (Direction Générale de la Statistique, 2015). La végétation est composée d'une mosaïque de forêts-savanes, riche en jeunes peuplements d'Okoumés (Haurez, 2015). De nombreux cours d'eau de moyenne et de petite taille constituent le réseau hydrique au sein de la concession forestière de PW (Haurez, 2015). L'altitude varie de 200 m à 700 m d'altitude (Haurez, 2015). La pluviométrie moyenne est de 1500 mm (Drouineau & Robert 1999)

Les travaux ont été réalisés en milieu forestier proche des villages de Bambidie, Likokodiba et de Baposso.

Le parc national de la Lopé

Le parc national de la Lopé est une aire entièrement protégée depuis 2002 (Figure 2). Avant cette protection complète, la région de la Lopé a été soumise à l'exploitation forestière (Angoue, 1999). La végétation de ce parc comprend les savanes, les forêts de galeries et la forêt tropicale (White & Abernethy, 1996). La densité dans le parc national de la Lopé était de 1 habitants par km² en 2013 (Direction Générale de la Statistique, 2015). Et les populations occupaient 1,4% de la superficie du parc. La pluviométrie moyenne est de 1500 mm (Drouineau & Robert 1999). L'étude a été menée dans la zone tampon du parc à proximité du village de Massenguelani.



73

Références bibliographiques

- Barret J. 1983. Géographie et cartographie du Gabon, atlas illustré. Ed. EDICEF, Paris, 135p.
- Christy P., Jaffré R., Ntougou O., Wilks C. 2003. *La Forêt et la filière bois au Gabon : La forêt du Gabon au début du troisième millénaire*. Ministère des Affaires Etrangères, Paris, pp 389.
- Direction Générale de la Statistique 2015. Résultats globaux du Recensement Général de la Population et des Logements de 2013 du Gabon (RGPL-2013). Libreville. 195 pp. Available at <http://www.mays-mouissi.com/wp-content/uploads/2016/07/Recensement-general-de-la-population-et-des-logements-de-2013-RGPL.pdf>
- Drouineau S. & Robert N, 1999. L'aménagement forestier au Gabon historique, bilan, perspectives, <http://www.forafri.org/ressources/forafri/08.pdf> (12/11/2011).
- Haurez B. 2015. Role du gorille des plaines de l'ouest (gorilla gorilla gorilla) dans la régénération des forêts denses humides et interaction avec l'exploitation sélective de bois d'œuvre. Université de Liège – Gembloux Agro-Bio Tech. Gembloux, PhD (Belgique).
- Lopez-Escartin N. 1991. *Données de base sur la population : Gabon*. Centre Français sur la Population et le Développement, Paris.
- Medjibe V. P., Putz F. E., Romero C. 2013. Certified and Uncertified Logging Concessions Compared in Gabon: Changes in Stand Structure, Tree Species, and Biomass. *Environmental Management*, 51:524–540.
- Wilks, C. 1990. *La conservation des écosystèmes forestiers du Gabon*. IUCN Gland and Cambridge. Royaume Uni

Chapitre 5 Effect of anthropogenic disturbance on species composition of highly eusocial bees in the Congo Basin forest (Case study of Gabon) - and assessment of sampling method

Une fois les trois zones d'étude décrites dans le chapitre 4, le présent chapitre reprend les résultats et la discussion relative à l'étude de la diversité spécifique et la composition d'espèces des abeilles sociales (Apini et Meliponini) en fonction du type d'habitat en lien avec différentes activités humaines. Cette étude visait la collecte et l'identification des pollinisateurs ciblés. L'évaluation de l'efficacité des méthodes d'échantillonnage a été également réalisée.

Adapté de **Edgard Cédric Fabre Anguilet**, Taofic Alabi, Toussaint Bengone Ndong, Éric Haubruge, Bach Kim Nguyen, Frédéric Francis, *African Entomology*, (soumis).

Abstract

Pollinators play important roles for flowering plants by maintaining their reproduction and diversity. Diversity of pollinators is regularly impacted by anthropogenic activities. Concerning bees, their diversity differs in relation to the broad range of habitats in which they occur. As little information has been reported about the composition and structure of highly eusocial bee communities, especially in the Congo Basin forest, we investigated highly eusocial bees from three locations with different levels of anthropogenic disturbance in Gabon: (1) a disturbed forest area, (2) a logging concession, and (3) the border of a protected forest area. We also evaluated the effectiveness of yellow pan trap and hand vacuum used in this study. In total, 3596 bees were collected, representing 11 species. *Apis mellifera adansonii* Latreille, *Meliponula nebulata* (Smith), and *Hypotrigona gribodoi* (Magretti) were the most abundantly captured species. *Apis mellifera adansonii* represented 89% of the bees captured in the disturbed forest, whereas stingless bees were more abundant in the other two forest areas. The sample coverage was higher for hand vacuum compared to yellow pan trap. Species composition and richness were highest in the logging concession, followed by the protected forest border and the disturbed forest. Our results showed that the distribution areas of some stingless bee species are limited to the forest, suggesting that protected areas and logging concession are important to maintain the diversity of highly eusocial bees for a forest country like Gabon in which logging plays an important role in the economy.

Keywords: species richness, Apinae, habitat, disturbance, yellow pan trap, hand vacuum, central Africa.

5.1 Introduction

There is a strong relationship between habitat type and species community composition. When habitats are disturbed, the species community evolves accordingly (Didhame *et al.*, 2007). Such disturbance includes habitat fragmentation or replacement with another habitat, and may result in the disappearance and replacement of associated living organisms (Ewers & Didham, 2006). Such habitat modifications are largely related to human activities. Then, it is important to understand how these changes impact species diversity to implement effective conservation measures. Numerous studies have been published about monitoring of Hymenoptera, especially bees for their ecosystem services and the decline in observed pollinator abundance (Larsen *et al.*, 2014; Rubene *et al.*, 2015). These monitoring were carried out to study species diversity of bees according to ecosystems and impact of anthropogenic activities. In Africa, habitat loss threatens to reduce the diversity of bees (Dietemann, 2009). Like other pollinators, both stingless bees and honeybees are important pollinators of many cultivated and wild plants across a wide range of ecosystems (Heard, 1999; Slaa *et al.*, 2006). Furthermore, the honey produced by these highly eusocial bee species is consumed by some rural populations in Africa, along with providing incomes to beekeepers or honey hunters.

The ecology, nesting behavior, composition and structure of highly eusocial bee diversity remain poorly documented in some regions, particularly in central Africa. For instance, the Congo Basin forest has been poorly studied, despite being subject to major human disturbance in the form of mining, logging, and agriculture activities. Information remains limited about how these activities impact the composition of highly eusocial bee species in this forest area. However, stingless bees are associated with forest ecosystems, the loss of forest cover may reduce the diversity of this group (Darchen, 1972; Kadjobe, 2007; Brosi *et al.*, 2008; Brosi, 2009). Brosi (2009) and Brosi *et al.* (2008) suggested that species richness and abundance of stingless bees are related to forest cover in Costa Rica, with the species composition of eusocial bees varying with habitat types.

Gabon is a country located in central Africa, with 78% of the land being covered by rainforest, including approximately 51% used for logging purposes (Drouineau & Robert, 1999; Fabre Anguilet *et al.*, 2015). To date, sixteen species of stingless bees and one honeybee sub species have been collected and identified in this country (Fabre Anguilet *et al.*, 2015). Only one study was carried out on the geographical distribution of bees in Gabon. Indeed, Pauly (1998) presented the geographical distribution and flower species visited by Apoidea in Gabon. This

study, carried out near 30 years ago, reported the presence of honey bee and stingless bee species in many locations. However, the composition and structure of bee species in relation to human activities have not yet been recorded in this country.

The present investigation aims to improve our knowledge and understanding of the community structure of highly eusocial bees in relation to the type of habitats and human activities in Gabon. This study focused on comparing the species richness and composition of highly eusocial bees in natural forests and areas that have been disturbed by human activities for decades. This study is based on the hypothesis that species richness decreases with the level of disturbance of the forest habitat. In other words, species richness would be decreasing from a habitat consisting of a natural forest or a forest preserved to a habitat consisting of a forest highly degraded by activities such as agriculture. A fragmented forest would constitute an intermediate situation between both previously described. We also explored the efficiency of sampling methods. Our results are expected to contribute to baseline information towards improving the conservation of bees in Africa.

5.2 Material and methods

5.2.1 Study area

The study was conducted at three locations in Gabon: (1) in a disturbed area, (2) in a selective logging concession, and (3) at the limits of a protected forest area. The locations were also selected for data on the presence of highly eusocial bee species from the study conducted 30 years ago by Pauly (1998). The first location was near Kougouleu village (0° 24' 15" N, 9° 53' 16" E) in north-western part of Gabon (Figure 1). The second location was to the south of Likokodiba village (0° 46' 13" S, 13° 11' 14" E) in logging concession of Precious Woods Gabon (Figure 1). And the third location was on the border of Massenguelani village (0° 22' 11" S, 11° 47' 16" E), at the eastern limit of the Lope National Park (Figure 1). These three locations were abbreviated to “Koug”, “PW” and “Lope” respectively.

The Koug area has been subject to strong anthropogenic disturbance for more than 30 years, with logging and deforestation being conducted to establish food crops and orchards. Indeed, logging in this region has been repeatedly carried out without sustainable management practices (Wilks, 1990). The population of the province of Estuaire, in which Koug is located, expanded from 102,577 to 895,689 inhabitants between 1970 and 2013 (Lopez-Escartin, 1991; Direction Générale de la Statistique, 2015). The food crops and orchards in Koug area have been

established in part by the population living in this area, whose the density was 1.7 inhabitants per km² in 2013, but mainly by the population from the capital Libreville, whose the density was 3,724.6 inhabitants per km² in 2013 (Direction Générale de la Statistique, 2015). Thus, vegetation in Kouga area is now composed of food crops, orchards and pioneering trees of young secondary forest such as *Musanga cecropioides* R. Br. ex Tedlie.

The logging concession of Precious Woods Gabon was established almost 30 years ago, and selective logging has been practiced in this concession. The company is certified by the FSC (Forest Stewardship Council) for the sustained management forest. And the density was 2 inhabitants per km² in 2013 (Direction Générale de la Statistique, 2015).

The Lope national park was originally a wildlife reserve established in 1946, which has been completely protected since 1996, with the national park forming in 2002 (Brugiere, 1999; Présidence de la République Gabonaise, 2002). Before this complete protection, the Lope wildlife reserve was subjected to logging (Angoue, 1999). The vegetation in this park involves savanna, gallery forest and rainforest (White & Abernethy, 1996). As in logging concession of Precious Woods, the study area of Lope was covered by rainforest. The density in the Lope national park was 1 inhabitants per km² in 2013 (Direction Générale de la Statistique, 2015)

All three locations were in the tropical transition climate area between the equatorial climate in the north and the tropical climate in the south (Fig 1). This tropical climate area is characterized by average monthly temperatures between 21.7 and 29.4°C (Blanc & Frétey, 2000), and an approximate average annual rainfall of 2400 mm in Kouga area, 1700 mm in PW area and 1500 mm in Lope area (Drouineau & Robert 1999). The altitude is less than 150 m in Kouga study area, less than 300 m near the village of Massenguelani (Lope study area), and varies from 200 to 700 m in PW.

5.2.2 Bee sampling

Twenty sites were randomly selected in each location. Latitude and longitude at each site were recorded using a Global Positioning System (Garmin GPSMAP 62). Bees were captured using two methods: yellow traps and a hand vacuum. A yellow trap was placed 180 cm above the ground at each site. Each trap was filled with a mixture of 2/3 water and 1/3 of honey. The mixture was renewed twice a week and bees were collected the day after the mixture was renewed. This mixture was used to increase the number of bees collected, as shown by Wilson *et al.* (2016) with the use of nectar. In parallel, bees were captured using the hand vacuum,

twice a week at each site between 8:00 and 11:00 am local time. Bees on vegetation up to 5 m radius around yellow trap were captured. Bees were collected from October 2013 to March 2014. This period corresponds to the period of flowering and fruit production of many crops and forest plants (Ambougou Atisso, 1991, White & Abernethy, 1996). Only honeybees and stingless bees were selected for this study.

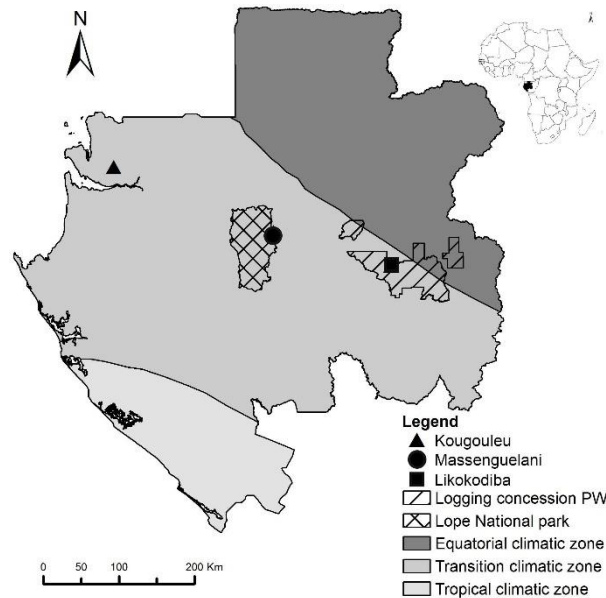


Figure1 Study locations in Gabon.

5.2.3 Bee identification

The stingless bee species were identified from descriptions by Eardley (2004), Eardley *et al.* (2010), and Pauly and Fabre Anguilet (2013). Comparisons were performed using the entomological collection of Gembloux Agro-Bio-Tech (University of Liege). Identification of bee species was confirmed by Alain Pauly from the Royal Belgian Institute of Natural Sciences.

5.2.4 Altitude data

The ArcGIS 10 software was used to extract values of altitude. The altitude was extracted from Advanced SpaPWorne Thermal Emission and Reflection Radiometer Global Digital Elevation Model Version 2 data (ASTER GDEM, 2011), downloaded via the United States Geological Survey's Earth Explorer (<http://earthexplorer.usgs.gov/>). The site layer was superimposed on that of ASTER GDEM, and the elevation data were extracted using geographic coordinates (latitude and longitude) of each site.

5.2.5 Data analysis

The sample coverage was used to evaluate the effectiveness of trapping methods and was defined as the proportion of the number of species recorded with this capture method by the total number of species observed on each site (Westphal *et al.*, 2008). The data were transformed to presence/absence (1/0) for each site based on capture methods. The data of each capture method were pooled to determine the number of species observed on each site. Then, sample coverage was calculated for each trapping method based on each site from the following ratio: s_i/S_i , where s_i was species richness observed with a capture method in a site i , and S_i species richness observed with both capture methods in a site i .

For each trapping method, frequency of occurrence of species was evaluated using the following equation: $F(A) = n(A)/N$, n being the number of sites where species A was collected, and N is the total number of sites. The frequency was evaluated for all sites and at for each location.

The number of individuals and species captured using the yellow trap and hand vacuum were pooled for each site. R 3.1.0 software was used to perform the analysis (R Core Team, 2016). Species accumulation curves were calculated for each location using the `accumcomp` function of the BiodiversityR package (Kindt & Coe, 2005). These curves were implemented following a sample-based species accumulation approach (Kindt & Coe, 2005). Non-parametric estimator (Jackknife order 1) of species richness was calculated for each location using the `specpool` function from `vegan` package (Oksanen *et al.*, 2016).

The analysis of spatial correlation between all pairs of sites in each location was performed based on Bray Curtis dissimilarities and Euclidean distances. For that, these distance matrices were calculated using `vegdist` function from `vegan` package. The Mantel test was used to test the overall relationship between distance and dissimilarity. Then, no spatial correlation was found in each location (Kougouleu: $r = 0.00$, $p\text{-value} = 0.500$; Lope: $r = -0.09$, $p\text{-value} = 0.790$; PW: $r = 0.01$, $p\text{-value} = 0.440$). Based on these results, generalized linear model (GLM) was chosen to implement statistical analysis.

The bee data were transformed into presence/absence binary data (1/0) for the species at each site. Species richness per site was calculated using the `diversityresult` function from the BiodiversityR package. Generalized linear model (GLM) was used to explain species richness in relation to location and altitude at each site. The Poisson distribution was used because it is

a more suitable for count data (O'Hara *et al.*, 2010). All assumptions of equivariance, independence, and normality of residuals were checked. The effects of location and altitude were tested using Chi test.

Species richness is a numeric value, with the n number of species at site i and site j not indicating whether it is the same species or not. To include species composition, the `manyglm` function from the `mvabund` package was used (Wang *et al.*, 2014). This function creates a separate GLM for each species, while using a common set of explanatory variables (Wang *et al.*, 2012). This function fits a GLM separately to each species, while using a common set of explanatory variables (Wang *et al.*, 2012). Binomial distribution was used, and assumptions about equivariance, independence, and normality of the residuals were checked. The analysis of deviance was carried using the `anova.manyglm` function of `mvabund` package. This function allows a multivariate test to assess the effect of location and altitude on the species community, along with a univariate test of each species (Wang *et al.*, 2014).

The frequency of occurrence of species in a location was calculated by the following formula: $F(A)_Z = n(A)_Z / NZ$, n being the number of sites where species A was captured at location Z , and N is the number of site at location Z . Then, the presence (P) of a species (A) at a location (Z) was calculated according to the formula of Canard and Poinso (2004): $P(A) = F(A)_Z / (F(A)_Z + F(A)_{Z'} + F(A)_{Z''})$, where $P(A)$ is the presence of species A , $F(A)_Z$ is the frequency of species A at location Z , $F(A)_{Z'}$ is the frequency of species A at location Z' , and $F(A)_{Z''}$ is the frequency of species A at location Z'' . Once the presence of each species has been calculated, the locations were classified for each species according to the classification of Canard and Poinso (2004): accidental habitat for $P(A) < 0.1$, accessory habitat for $0.1 \leq P(A) < 0.2$, preferential habitat for $0.2 \leq P(A) < 0.9$, elevation habitat for $0.9 \leq P(A) < 1$, exclusive habitat for $P(A) = 1$.

5.1 Results

A total of 3596 honeybees and stingless bees were captured. The bees were separated into four genera (*Apis*, *Dactylurina*, *Hypotrigona*, and *Meliponula*) and 11 species: *A. mellifera adansonii* Latreille, *D. staudingeri* (Gribodo), *H. gribodoi* (Magretti), *M. beccarii* (Gribodo), *M. bocandei* (Spinola), *M. cameroonensis* (Friese), *M. erythra* (Scheltterer), *M. ferruginea* (Lepeletier), *M. lendliana* (Friese), *M. nebulata* (Smith), and *M. togoensis* (Stadelmann). Hand vacuum enabled to collect all species, while four species were captured with the yellow pan trap: *A. mellifera adansonii*, *H. gribodoi*, *M. nebulata* and *M. togoensis*.

5.3.1 Efficient of capture methods

The sample coverage was higher for hand vacuum compared to yellow pan trap (Fig 2 a). According to location, the sample coverage was higher at Lope and PW, while it was slightly higher for yellow traps at Koug (Fig 2- b). Considering all sites, hand vacuum allowed to collect stingless bees with higher frequencies (Table 1). Only *M. nebulata* was more frequently collected with yellow pan trap. *Hypotrigona gribodoi*, *M. bocandei*, *M. togensis* and *M. nebulata* were more abundantly collected regardless trapping method (Table 1). Depending on location, hand vacuum also showed the greatest frequencies compared to yellow pan trap. The highest frequencies were recorded in PW (Table 1).

Table 1. Frequency of stingless bee species depending on trapping method.

Specie	All		Koug		Lope		PW	
	Y. p. trap	H. vacuum	Y. p. trap	H. vacuum	Y. p. trap	H. vacuum	Y. p. trap	H. vacuum
<i>A. mellifera adansonii</i>	81.7	76.6	85.0	65.0	55.0	65.0	100.0	100.0
<i>D. staudingeri</i>	0.0	36.7	0.0	30.0	0.0	15.0	0.0	90.0
<i>H. gribodoi</i>	16.7	68.3	0.0	45.0	20.0	95.0	30.0	100.0
<i>M. beccarii</i>	0.0	8.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	25.0
<i>M. bocandei</i>	0.0	41.7	0.0	5.0	0.0	15.0	0.0	65.0
<i>M. cameroonensis</i>	0.0	6.7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	20.0
<i>M. erythra</i>	0.0	11.7	0.0	0.0	0.0	5.0	0.0	30.0
<i>M. ferruginea</i>	0.0	11.7	0.0	0.0	0.0	5.0	0.0	50.0
<i>M. nebulata</i>	51.7	40.0	5.0	10.0	20.0	40.0	100.0	70.0
<i>M. lendliana</i>	0.0	3.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	10.0
<i>M. togoensis</i>	8.3	41.7	0.0	0.0	0.0	20.0	25.0	65.0

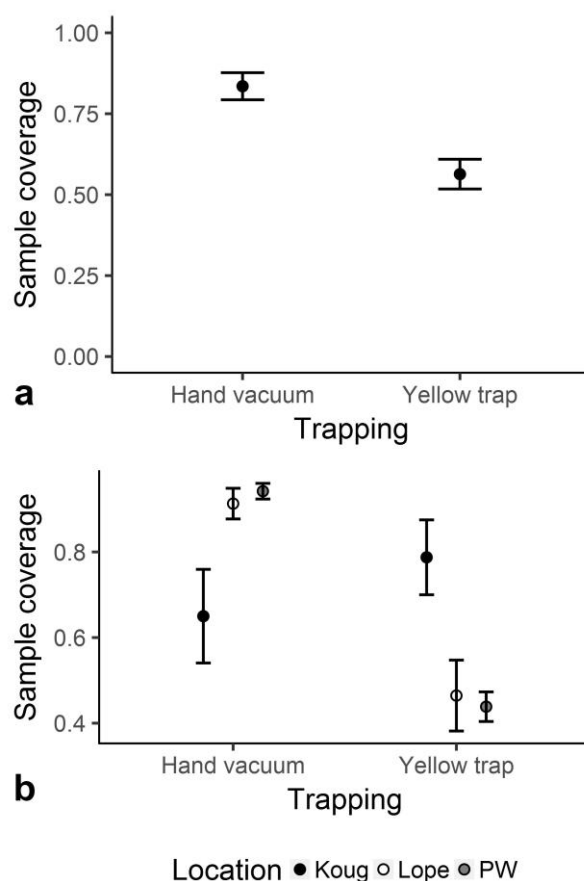


Figure 2. Sampling coverage: (a) according to sampling method, (b) according to location and sampling method.

5.3.2 Species community composition and structure

All species were recorded in the study area of the logging concession of Precious Woods. In contrast, the lowest number of species was recorded in Koug (Table 2). Estimated species richness was higher in the two forest locations (Jack1 $\pm$ SE = 11.95 $\pm$ 0.95; Lope: Jack1 $\pm$ SE = 9.90 $\pm$ 1.92) and lowest in the disturbed location (Koug: Jack1 $\pm$ SE = 6.90 $\pm$ 1.34). The species that was caught the most in all three locations were *A. mellifera adansonii*, followed by *M. nebulata* and *H. gribodoi* for stingless bees (Table 2). At Kougouleu, *A. mellifera adansonii* was the most captured species, representing 89.3 % of all captured bees (Table 2).

Table 2 Observed richness (S.obs) and percentage per species captured according to location. Species were sorted by their abundance.

PW S.obs = 11		Koug S.obs = 5		Lope S.obs = 8	
Species	Percentage (%)	Species	Percentage (%)	Species	Percentage (%)
<i>A. mellifera adansonii</i>	35.8	<i>A. mellifera adansonii</i>	89.3	<i>A. mellifera adansonii</i>	34.3
<i>M. nebulata</i>	22.6	<i>H. gribodoi</i>	4.6	<i>H. gribodoi</i>	31.1
<i>H. gribodoi</i>	15.3	<i>M. nebulata</i>	4.0	<i>M. nebulata</i>	20.6
<i>M. togoensis</i>	8.4	<i>D. staudingeri</i>	1.8	<i>M. togoensis</i>	8.1
<i>D. staudingeri</i>	6.4	<i>M. bocandei</i>	0.3	<i>D. staudingeri</i>	2.8
<i>M. bocandei</i>	5.7			<i>M. bocandei</i>	2.8
<i>M. ferruginea</i>	3.0			<i>M. ferruginea</i>	0.1
<i>M. beccarii</i>	2.1			<i>M. erythra</i>	0.1
<i>M. cameroonensis</i>	0.3				
<i>M. togoensis</i>	0.3				
<i>M. lendliana</i>	0.2				

The PW species accumulation curve showed an asymptote at 15 sites (out of 20 sites), while of the Lope site showed a linear increase, with no asymptote (Fig 3). The Koug species accumulation seemed to converge toward an asymptote (Fig 3). Then, sampling at PW and Koug was enough to capture the taxonomic richness present at these locations.

The highest average number ($\pm$ SD) of species was captured per site at PW (6.15 ± 1.53), followed by Lope (2.85 ± 0.98). The lowest average number of species was captured per site at Kougouleu (1.30 ± 0.92). The relationship between the number of species recorded per site and location was highly significantly different (GLM Residual Deviance= 23.065, df = 57, p-value < 0.001). There was no significant relationship between species richness per site and altitude (GLM Residual Deviance= 23.053, df = 56, p-value > 0.05). There was no significant relationship for the interaction between location and altitude on species richness per site (GLM Residual Deviance= 19.212, df = 54 and p-value > 0.05).

Species composition was highly significantly different depending on location (LTR = 231.92, p-value = 0.001). While altitude had no significant effect on species composition (LTR = 20.58, p-value > 0.05), as well as the interaction between location and altitude (LTR = 17.66, p-value > 0.05). Excepting *M. erythra* and *M. lendliana*, the location had a significantly effect on other species (Table 3). The altitude and interaction between location and altitude did not impact species composition (Table 3).

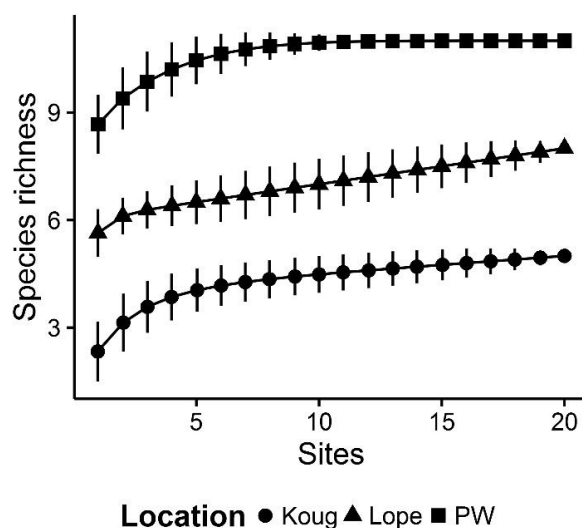


Figure 3. Species accumulation curves based on location. Vertical bars represent the standard deviation.

Table 3 Effect of location, altitude, and interaction of both on species presence.

	Location		Altitude		Location:Altitude	
	Deviance	P-value	Deviance	P-value	Deviance	P-value
<i>A. mellifera adansonii</i>	6.913	0.021*	8.047	0.082	0.000	0.931
<i>M. bocandei</i>	20.782	0.001***	0.125	0.947	5.876	0.341
<i>M. nebulata</i>	42.048	0.001***	3.709	0.510	1.816	0.587
<i>M. togoensis</i>	28.853	0.001***	2.487	0.745	0.082	0.835
<i>M. beccarii</i>	11.927	0.004**	0.466	0.936	0.000	0.931
<i>M. erythra</i>	1.656	0.747	0.066	0.947	0.375	0.678
<i>H. gribodoi</i>	53.976	0.001***	1.621	0.835	4.096	0.430
<i>D. staudingeri</i>	41.007	0.001***	0.199	0.947	4.322	0.430
<i>M. ferruginea</i>	10.852	0.010**	1.366	0.835	1.091	0.611
<i>M. lendliana</i>	4.534	0.176	0.558	0.936	0.000	0.931
<i>M. cameroonensis</i>	9.375	0.010**	1.934	0.810	0.000	0.931

* Significant difference; ** and *** highly significant difference

5.3.3 Species frequency and how it is linked with location

The number of sites, the frequency of collection and the preferential habitat in relation to species and location were summarized (Table 4). The most common species were *A. mellifera adansonii*, *H. gribodoi*, and *M. nebulata*, which were collected from the largest number of sites, regardless of location (Table 4). *Apis mellifera adansonii* was the most frequently collected species at all locations (Table 4). Stingless bees were most frequently collected in forest locations. The highest frequency of stingless bee species was recorded in PW (Table 4). All three locations appeared to represent preferential habitat for *A. mellifera adansonii* based on presence/absence data, while Koug appeared to be an accidental habitat for stingless bees (Table 4). PW was the exclusive habitat for *M. beccarii*, *M. cameroonensis*, and *M. lendliana* (Table 4). Lope contained the greatest variability in species classification, with preferential habitat, accidental habitat, or accessory habitat for stingless bees.

Table 4. Classification of locations for each species according to frequency (F) and presence.

F = Frequency of recording of a species.

	PW			Koug			Lope		
	F (%)	Presence	Classification	F (%)	Presence	Classification	F (%)	Presence	Classification
<i>A. m. adansonii</i>	100	0.36	Preferential habitat	100	0.36	Preferential habitat	75	0.28	Preferential habitat
<i>D. staudingeri</i>	90	0.81	Preferential habitat	5	0.05	Accidental habitat	15	0.14	Accessory habitat
<i>H. gribodoi</i>	100	0.49	Preferential habitat	10	0.05	Accidental habitat	95	0.46	Preferential habitat
<i>M. beccarii</i>	25	1.00	Exclusive habitat	0	0.00	Accidental habitat	0	0.00	Accidental habitat
<i>M. bocandei</i>	65	0.77	Preferential habitat	5	0.06	Accidental habitat	15	0.17	Accessory habitat
<i>M. cameroonensis</i>	20	1.00	Exclusive habitat	0	0.00	Accidental habitat	0	0.00	Accidental habitat
<i>M. erythra</i>	05	0.50	Preferential habitat	0	0.00	Accidental habitat	5	0.50	Preferential habitat
<i>M. ferruginea</i>	30	0.86	Preferential habitat	0	0.00	Accidental habitat	5	0.14	Accessory habitat
<i>M. nebulata</i>	100	0.61	Preferential habitat	10	0.06	Accidental habitat	55	0.33	Preferential habitat
<i>M. lendliana</i>	10	1.00	Exclusive habitat	0	0.00	Accidental habitat	0	0.00	Accidental habitat
<i>M. togoensis</i>	70	0.78	Preferential habitat	0	0.00	Accidental habitat	20	0.22	Preferential habitat

5.4 Discussion

Our study showed that the species composition and species richness of highly eusocial bees in Gabon (central Africa) differ between forest and disturbed forest habitats.

Numerous authors used nest counts to evaluate the abundance of highly eusocial bees, but this inventory method only allows the record of a limited number of species (Kadjobe & Roubik, 2006). To obtain an accurate measurement of diversity, it is necessary to use an efficient sampling method. Nielsen *et al.* (2011) defined efficient sampling method as sampling which allows collecting "a high number of individuals and species with the use of a low number of man-hours". For that, sampling methods should be adapted to studied organisms and constraints

related to the survey. The sampling methods used in the present study did not take into account nest abundance of bee, but allowed to record a high number of species and achieved the objectives of the study. Hand vacuum is much more efficient than the yellow pan traps. Indeed, the hand vacuum has the largest number of species caught, as well as the highest catch frequencies. But yellow pan traps offer the advantage of requiring fewer man-hour (Wilson *et al.*, 2016). It would be useful to evaluate the effectiveness of the blue pan trap and to take into account the seasonality effect. Indeed, Moreina *et al.* (2016) found that stingless bees were more attracted to the blue pan traps than yellow pan trap in Brazil. Another prospect is the use of attractive volatile products to enhance the efficiency of passive trapping.

Our results support the hypothesis that species richness of bees is lower in disturbed areas. For instance, we captured the lowest number of species at Koug compared to the two forest locations. In addition, more than 50% fewer stingless bee species were caught at Koug in our study compared to a study conducted 30 years ago by Pauly (1998). Certain species, like *M. erythra*, *M. togoensis*, and *M. Lendliana*, were not caught at this location during our study. The decrease in species is probably linked to the loss of forest habitat at Koug, with human disturbance altering the stingless bee community (Samejima *et al.*, 2004). The two forested locations had the highest species richness. This result is similar to that obtained by Mpawenimana *et al.* (2013) for the *Meliponula* genus. Our results also confirmed that stingless bees are strongly associated with forest habitats, supporting the results from Brosi *et al.* (2008). This strong association was also reflected in the higher percentage of stingless bees found at the two forested locations compared to the disturbed location. The high presence of honeybees at all three locations may be explained by the fact that this species is common to many habitats (Kadjobe 2006; Abdullahi *et al.*, 2011), with colonies involving tens of thousands of workers compared to stingless bees (Roubik, 1983; Paterson, 2008). The fact that the logging concession location may have had the greatest species richness indicates that this activity in this region of Gabon did not have a negative impact on highly eusocial bee species. Pauly (1998) also recorded the same species as detected here near or in PW. Mayaux *et al.* (2013) showed that agriculture is the main cause of deforestation in the Congo Basin forest, while selective logging has only a limited impact on the forest cover. In the province of Ogooue Lolo, in which PW is located, population density 2 inhabitants per km² in 2013 (Direction Générale de la Statistique, 2015). In addition, in certified forest roads are closed after logging, thereby reducing population's access to forest areas. These points may explain the differences observed between Koug and PW. However, it would be interesting to study the impact of logging on the food

resources, nesting, and foraging behavior of highly eusocial bees in this part of Africa. According to Eltz et al, (2002), Tonyale and Kwapong, (2015) and Kadjobe and Roubik (2006), the availability of nest cavities and food resources, and the density of large trees have an impact on the nest density. And the felling of trees in a selective logging is carried out following a selection of tree species and diameter.

The lack of an asymptote in the rarefaction curve of Koug and Lope may be due to the presence of rare species that were not captured. For example, the nests of the *Liotrigona* genus were observed by Pauly and Fabre Anguilet (2013) at Koug; yet, we did not capture any bees from this genus. Species richness and species composition per site appeared to be mainly linked with habitat rather than altitude. However, it is difficult to draw conclusions about the impact of altitude in our study, because the range of the altitudes between the localities and within the locality was low.

Our results on species presence and frequency at different locations also highlights the strong preference of stingless bees for forest habitats, with *A. mellifera adansonii* being the most abundant species in all habitats. This result is consistent with that of Nkoba (2012) on the predicted probability of nest presence for some stingless bee species in Kenya. We may have only captured *M. Camerounensis* at PW because this species is only distributed in the eastern part of Gabon according to Pauly (1998). Given that forest habitat is the preferential habitat for stingless bees (in particular *M. lenliana*, *M. ferruginea*, *M. erythra*, and *M. becarrii*), the loss of diversity of stingless bees could be used as a biodindicator of habitat loss in the context of the sustainable management of forest ecosystems in Gabon. Therefore, it would be useful to study the sensitivity of each species to different levels of habitat disturbance.

In conclusion, our study showed that forest habitats support a considerable diversity of highly eusocial bees. Then, effort is required to restore bee diversity in disturbed areas (e.g., deforested area) through the use of dedicated conservation initiatives, such as replanting trees. Given the history of human activities in the three locations and the results obtained in this study, it is possible to claim that selective logging would not affect species richness of highly eusocial bees. Thus, selective logging and additional measures restricting access to forest roads should be maintained and strengthened in Gabon and the Congo Basin region. In perspective, an assessment of the potential impact of agribusiness should be conducted.

Acknowledgements

The authors thank the Gabonese government and Commission Economique du Bétail, de la Viande et des Ressources halieutiques, the Agence Nationale des Parcs Nationaux and Precious Woods Gabon for support. We also thank Alain Pauly (Royal Belgian Institute of Natural Sciences) for helping to identification some species; Yves Brostaux (University of Liege - Gembloux Agro-Bio Tech) for help with statistical analysis and Gil LECLERCQ.

References

- ABDULLAHI G., SULE H., CHIMOYA I.A., ISAH M. 2011. Diversity and relative Distribution of Honeybees Foraging Plants in some selected Reserves in Mubi Region, Sudan Savannah Ecological zone of Nigeria. *Advances in Applied Science Research*. 2: 388 – 395
- AMBOUGOU ATISSO V., 1991. *Apis mellifera adansonii* Lat. et les plantes utiles mellifères gabonaises (Département de l'Ivindo), recherches palynologiques. Thèse de doctorat : Université Paris 6 (France).
- ANGOUE C.A. 1999. Une gestion du milieu selon les rapports historiques et économiques de l'homme à la terre dans la réserve de faune de la Lopé (Gabon). In Bahuchet S., Bley D., Pagezy H., Vernazza-Licht N. (Ed.) L'homme et la forêt tropicale. 477 – 485. Société d'Écologie Humaine, Marseille.
- ASTER GDEM Validation Team 2011. ASTER global digital elevation model version. <http://earthexplorer.usgs.gov/> . Accessed 2 August 2016
- BLANC, P. & FRETEY, T. 2000. Les reptiles de la réserve de faune de la Lopé et de la forêt des abeilles (Gabon). *Bulletin de la Société Zoologique de France* 125 : 281-292.
- BROSI, B J., DAILY, G.C., SHIH, T.M., OVIEDO, F. & DURÁN, G. 2008. The effects of forest fragmentation on bee communities in tropical countryside. *Journal of Applied Ecology* 45: 773-783.
- BROSI, B.J. 2009. The complex responses of social stingless bees (Apidae: Meliponini) to tropical deforestation. *Forest Ecology and Management* 258: 1830-1837.
- BRUGIERE, D. 1999. Une analyse du Réseau des Aires Protégées du Gabon. *Nature et Faune* 15 : 4-14.

- DARCHEN, R. 1972. Ecologie de quelques trigones (*Trigona* sp) de la savane de Lamto (Cote d'Ivoire). *Apidologie*, 3 : 341-367.
- DIDHAME R.K., TYLIANAKIS J.M., GEMMELL N.J., RAND T.A. & EWERS R M (2007) Interactive effects of *habitat modification and species invasion on native species decline*. *Trends in Ecology Evolution* 22: 489-496.
- DIETEMANN V, PIRK CWW, CREWE R (2009) Is there a need for conservation of honeybees in Africa? *Apidologie* 40 : 285-295.
- DIRECTION GENERALE DE LA STATISTIQUE 2015 Résultats globaux du Recensement Général de la Population et des Logements de 2013 du Gabon (RGPL-2013) Libreville 195 pp Available at <http://www.mays-mouissicom/wp-content/uploads/2016/07/Recensement-general-de-la-population-et-des-logements-de-2013-RGPLpdf>. Accessed 2 June 2016
- DROUINEAU S, ROBERT N (1999) L'aménagement forestier au Gabon historique, bilan, perspectives, <http://www.forafri.org/ressources/forafri/08pdf>. Accessed 12 November 2011.
- EARDLEY C D (2004) Taxonomic revision of the African stingless bees (Apoidea: Apidae: Apinae: Meliponini). *African Plant Protection* 10: 63-96
- EARDLEY C D, KUHLMANN M, PAULY A (2010) Les genres et sous-genres d'abeilles de l'Afrique subsaharienne *Abc Taxa* 9 : 1-144
- EWERS R M, DIDHAM R K (2006) Confounding factors in the detection of species responses to habitat fragmentation. *Biological Reviews* 81: 117-142.
- FABRE ANGUILET EC, NGUYEN BK, BENGONE NDONG T, HAUBRUGE E, FRANCIS F (2015) Meliponini and Apini in Africa (Apidae: Apinae): a review on the challenges and stakes bound to their diversity and their distribution. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement* 19: 382-391
- HEARD TA (1999) The Role of Stingless Bees In Crop Pollination. *Annual Review of Entomology* 44: 183-206.
- KAJOBE R & ROUBIK DW (2006) Honey-Making Bee Colony Abundance and Predation by Apes and Humans in a Uganda Forest Reserve. *Biotropica* 38: 210-218.

- KAJOBE R (2007) Nesting biology of equatorial Afrotropical stingless bees (Apidae; Meliponini) in Bwindi Impenetrable National Park, Uganda. *Journal of Apicultural Research* 46: 245-255.
- KINDT R, COE R (2005) Tree diversity analysis A manual and software for common statistical methods for ecological and biodiversity studies. World Agroforestry Centre (ICRAF), Nairobi.
- LARSEN, N.J., MINOR, M.A., CRUICKSHANK, R.H. & ROBERTSON, A.W. 2014. Optimising methods for collecting Hymenoptera, including parasitoids and Halictidae bees, in New Zealand apple orchards. *Journal of Asia-Pacific Entomology* 17:375–381.
- LOPEZ-ESCARTIN N 1991 Données de base sur la population: Gabon. Centre Français sur la Population et le Développement, Paris.
- MAECHLER M, ROUSSEEUW P, STRUYF A, HUBERT M, HORNIK, K (2016) Cluster: Cluster Analysis Basics and Extensions R package version 2.0.5.
- MAYAUX P, PEKEL JF, DESCLÉE B, DONNAY F., LUPI A, ACHARD F, CLERICI M, BODART C, BRINK A, NASI R, BELWARD A (2013) State and evolution of the African rainforests between 1990 and 2010. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* 368: 20120300.
- MOREIRA, E.F., SILVA SANTOS, R.L., PENNA, U.L, COCA, C.A., DE OLIVEIRA F.F. & VIANA B.F. 2016. Are pan traps colors complementary to sample community of potential pollinator insects? *Journal of Insect Conservation* 20:583–596.
- MPAWENIMANA A, NZIGIDAHERA B, NDAYIKEZA L, HABONIMANA B (2013) Les abeilles du genre *Meliponula* Cockerell, 1934 (Hymenoptera: Apoidea), potentialité pour la méliponiculture au Burundi. *Bulletin scientifique de l'Institut national pour l'environnement et la conservation de la nature* 11 : 31-37.
- NIELSEN, A., I. STEFFAN-DEWENTER, C. WESTPHAL, O. MESSINGER, S. G. POTTS, S. P. ROBERTS & PETANIDOU T. 2011. Assessing bee species richness in two Mediterranean communities: Importance of habitat type and sampling techniques. *Ecological Research* 26:969–983.

- NKOBA, K (2012) *Distribution, behavioural biology, rearing and pollination efficiency of five stingless bee species (Apidae: Meliponinae) in Kakamega forest, Kenya*, Kenyatta University, Nairobi.
- O'HARA RB, KOTZE DJ (2010) Do not log-transform count data. *Methods in Ecology and Evolution*: 1:118-122.
- OKSANEN J, BLANCHET F G, KINDT R et al (2016) vegan: Community Ecology Package R package version 2.4-1 <http://CRAN.R-project.org/package=vegan> . Accessed 12 November 2016.
- Paterson, P D (2008) *L'apiculture*. Quæ, CTA, Presses agronomiques, Versailles.
- PAULY, A (1998) Hymenoptera Apoidea du Gabon Musée Royal de l'Afrique Centrale Tervuren, Belgique. *Annales Sciences Zoologiques* 282 : 1-121.
- PAULY A, FABRE ANGUILET EC (2013) Description de *Liotrigona gabonensis* sp nov, et quelques corrections à la synonymie des espèces africaines de mélipones (Hymenoptera : Apoidea : Apinae : Meliponini). *Belgian Journal of Entomology* 15 : 1-13
- PRESIDENCE DE LA REPUBLIQUE (2002) Décret n° 607/PR/MEFEPEPN, portant création d'une aire protégée comprenant le parc national de la Lopé et ses zones aménagées à des fins d'utilisation multiple <http://www.clientearth.org/ressources-externes/gabon/parcs-nationaux/ordonnance-6-2002-du-22-aout-2002-portant-modification-de-certaines-dispositions-de-la-loi-16-2001-du-31-decembre-2001-portant-code-forestier-en-republique-gabonaisePDF> . Accessed 29 March 2015.
- R CORE TEAM (2016) R: A language and environment for statistical computing R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria <http://www.R-project.org/> . Accessed 12 October 2016.
- Roubik D W (1983) Nest and colony characteristics of stingless bees from Panama (Hymenoptera: Apidae). *J Kans Entomol Soc* 53: 327-355.
- ROUBIK D W (1999) The foraging and potential outcrossing pollination ranges of African honey bees (Apiformes: Apidae ; Apini) in Congo Forest. *Journal of the Kansas Entomological Society* 72: 394-401

- RUBENE D., SCHROEDER & RANIUS T. 2015. Estimating bee and wasp (Hymenoptera: Aculeata) diversity on clear-cuts in forest landscapes-an evaluation of sampling methods. *Insect conservation and diversity* 8, 261–271.
- SLAA EJ, CHAVES LAS, MALAGODI-BRAGA KS, HOFSTEDE FE (2006) Stingless bees in applied pollination: practice and perspectives. *Apidologie* 37: 293-315.
- WANG Y, NAUMANN U, WRIGHT S, WARTON D (2012) Mvabund- an R package for model-based analysis of multivariate abundance data. *Methods Ecol Evol* 3: 471-474.
- WANG,Y, NAUMANN,U, WRIGHT,S, WARTON, D (2014) Mvabund: Statistical Methods for Analysing Multivariate Abundance Data R package version 393 <http://CRAN.R-project.org/package=mvabund>
- WESTPHAL C, BOMMARCO R, CARRÉ G, LAMBORIN E, MORISON N, PETANIDOU T, POTTS SG, ROBERTS SPM, SZENTGYORGYI H, TSCHEULIN, T, VAISSIÈRE BE, WOYCIECHOWSKI M, BIESMEIJER JC, KUNIN, WE, SETTELE, J, STEFFAN-DEWENTER I (2008) Measuring bee diversity in different European habitats and biogeographical regions. *Ecological Monographs* 78: 653–671.
- WHITE L, ALBERNETHY K. 1996. Guide de la végétation de la réserve de la Lopé. ECOFAC Gabon.
- WILKS, C. (1990) La conservation des écosystèmes forestiers du Gabon. IUCN Gland and Cambridge. Royaume Uni
- WILSON, J.S., JAHNER, J.P., STARLEY, L., CALVIN, C.L, IKERD, H. & GRISWOLD T. 2016. Sampling bee communities using pan traps: alternative methods increase sample size. *Journal of Insect Conservation* 20:919–922.

Chapitre 6 Preliminary study of nest density and nest detection of honey bee and stingless bee in two habitat types in Gabon

Les abeilles Apini et Meliponini nidifient dans les cavités naturelles. Les nids peuvent faire l'objet d'un inventaire afin d'apprécier l'évolution des populations dans différents habitats. Aussi, le chapitre 6 présente la méthodologie et les résultats obtenus suite à l'étude de la densité des nids, les facteurs ayant un impact et les contraintes liées à ce type d'étude.

Adapté de **Edgard Cédric Fabre Anguilet**, Bach Kim Nguyen, Taofic Alabi, Toussaint Bengone Ndong, Éric Haubruge, Frédéric Francis, *African Journal of Ecology*, (soumis).

Abstract

Investigation at population levels is needed to understand the factors that may affect the bees in Gabon. Aside assessing bee diversity by trapping or visual observations, the abundance of honeybees and stingless bees can be carried out on the basis of inventory the nests in different habitats. The influence of cavity availabilities, food resources and nest predations on the nest density has been analyzed in various studies. However, the ability to detect a nest in a habitat is not documented. In this study, the nests of honeybees and stingless bee in disturbed habitat and in forest habitat were counted. At the end of this count, the nests of *Apis mellifera* were the most observed, and there was no significant difference between the two habitats. The nearest watercourse had a significant effect on the presence of the nests, unlike the diameter of the trees. Finally, the probability of nest detection was low in the forest habitat. It would be interesting to take into account the probability of nest's detection in order to better appreciate the abundance of honeybees and stingless bees.

Keywords: Apini, Meliponini, nest count, environmental factor, anthropogenic impact, central Africa

6.1 Introduction

The study and understanding of the abundance of a population in its habitat and the factors of influence are the main objectives in Ecology (Eltz *et al.*, 2002). For this purpose, bees have been the topic of numerous population monitoring in view of their role as pollinators (Larsen *et al.*, 2014; Rubene *et al.*, 2015). These arthropods are subdivided into solitary and social bees. Among the latter, there are honeybees and stingless bees that have several interests: for direct role as pollinators but also for commercial use due to the sale of the hive products, mainly honey. The use of these products also has a cultural aspect, especially in traditional medicine (Reyes-González *et al.*, 2014; Abeshu and Geleta, 2016).

Assessment of nest density is a method used to understand nesting behavior of honey bees and stingless bees. Then, the nest density of these bees was studied in South America, Asia and Africa. In 54 African countries, the nest density of stingless bees was studied in three countries, Ivory Coast, Uganda and Ghana, while the nest density of honey bees was studied in South Africa, Botswana, Sudan and Libya (Darchen, 1972; McNally *et al.*, 1996; Kadjobe and Roubik, 2006; Jaffé *et al.*, 2009; Tornyie and Kwanpong, 2015). Thus, there are few or no data on the nest density of honeybees and stingless bees in many parts of Africa. Such is the case of central Africa area, which is covered by the second continuous block of tropical forests in the world and in which many human activities are carried out (logging, mining and agriculture).

Three main factors related to nest density of honey bees and stingless bees have been retained in the published literature in Africa: the availability of nest cavities, the availability of food resources and nest predation. The availability of nest cavities appears to influence the nest density of stingless bees. According to Eltz *et al.* (2002), this importance has been more or less marked. Whereas Tonyle and Kwapong, (2015) suggested that it was the density of large trees that was important. For Eltz *et al.* (2002), nest density of stingless bees depended on availability of food resources whereas Kadjobe and Roubik (2006) did not find an influence of “general food availability”. As for the predation of the nests, Kadjobe and Roubik (2006) found a strong influence of this on the distribution and the nest density, particularly human predation. If these studies have been focused on these three major factors, the probability of nest detection has not been assessed. Indeed, the nest count is carried out from the observation of the nests on the trees and on the ground. The results obtained may be affected by the ability to detect nests, tree cover canopy and the lack of observation of nests of certain species, as pointed out by Kadjobe and Roubik (2006).

The present study aims to investigate the density of nests of honey bees and stingless bees using another approach using spatial data. The objective is to evaluate the influence of the selected environmental and anthropogenic spatial data on the nest density in a forested area and in a disturbed area. Altitude, tree cover canopy and nearest watercourse distance were selected as spatial environmental data. The distance to the watercourse was added because in his description of the nesting behavior of stingless bees, Darchen showed that some species nest near watercourses in Gabon (available for downloading at https://www.canal-u.tv/video/cerimes/abeilles_forestieres_africaines.7612). Based on the assumption that human predation has an influence on the nest density, the distance to the nearest villages and the distance to the nearest road were chosen as anthropogenic spatial data. Finally, the study evaluated the proportion of nests detected and the number of species present whose nests were observed.

6.2 Material and methods

6.2.1 Study area

Kougouleu (0° 24' 15" N, 9° 53' 16" E) and the logging concession of Precious Woods Gabon were selected to conduct the study (Figure 1). During numerous decades, forest habitat at Kougouleu has been subject to anthropogenic disturbance related to logging and deforestation of slash and burn farming. Then, food crops, orchards and pioneering trees of young forest constitute the vegetation at Kougouleu. If the population density at Kougouleu was 1.7 inhabitants per km² in 2013, the different crops found in this area were established by the resident populations at Kougouleu but also by those coming from the capital Libreville, where the population density was 3,724.6 inhabitants per km² in 2013 (Direction Générale de la Statistique, 2015). The rainforest constitutes the main vegetation in the logging concession of Precious Woods Gabon, and the population density was 2 inhabitants per km² in 2013 (Direction Générale de la Statistique, 2015). Selective logging is practiced in this concession which is FSC certified (Forest Stewardship Council). The altitude is lower than 150m at Kougouleu, and varies between 250 and 400 m in the logging concession of Precious Woods Gabon.

6.2.2 Nests count and density

Thirty surface transects of 20 x 500 m each were randomly disposed at Kougoulou and at the south of Likokodiba Village (0° 46' 13" S, 13° 11' 14" E) in the logging concession of Precious

Woods. Highly eusocial bee nests were searched by visual inspection in each transects during the period of flowering and fruit production of many crops and forest plants (Ambougou Atisso, 1991), more precisely from October 2013 to March 2014. The latitude and longitude of each nest found were recorded using a Global Positioning System (Garmin GPSMAP 62). Nest density per hectare was calculated from nests count per area covers by each transect and all transects according to the study area. Nests density was estimated for all species and for each recorded species. In parallel, trapping and active capture were carried out in 20 sites randomly positioned in each location to compare species richness caught and species richness of nests count.

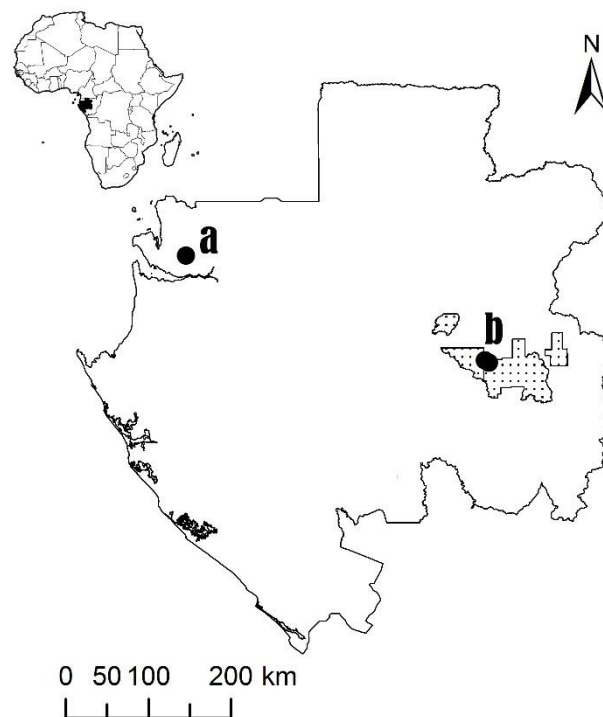


Figure 1. Study locations in Gabon. (a) Kougouleu whose forest habitat has been disturbed during the last thirty years by food crops. (b) Logging concession of Precious Woods Gabon.

6.2.3 Environmental and anthropogenic data

To characterize nest habitats, three variables were used: distance from nests to the nearest watercourse, altitude and tree canopy cover. The distance from nests to the nearest road and village were used to characterize anthropogenic impact on nesting. For that, three layers (hydrology, road and village) and Shuttle Radar Topographic Mission (SRTM) data version 4.1 were obtained from World Resources Institute (WRI, 2013), map service of Precious Woods

Gabon and United States Geological Survey (available on-line from <https://earthexplorer.usgs.gov/>). Tree canopy cover raster for year 2000 and Forest cover loss raster 2000-2014 were also obtained from Hansen *et al.* (2013) (available on-line from https://earthenginepartners.appspot.com/science-2013-global-forest/download_v1.2.html).

Tree canopy cover represents the canopy closure for all vegetation taller than 5 m height, the latter is encoded as a percentage per output grid cells (Hansen *et al.*, 2013). While, Hansen *et al.* (2013) defined forest cover loss as "a stand-replacement disturbance or the complete removal of tree cover canopy", and the cell grids of forest cover losses are encoded as either 1 (loss) or 0 (no loss).

The raster maps of the Euclidean distance were implemented with ARCMAP 10.3 from hydrology, road and village layers for location at Kougouleu and at Likokodiba area. Forest covers loss 2000-2014 data was re-encoded as 0 (loss) and 1 (no loss) and merged with Tree canopy cover data for the year 2000 using Times function of ARCMAP 10.3 to obtain a tree canopy cover data for the year 2014. All Transects were subdivided into 25 plots 20 x 25 m and a point was positioned at the center of each plot. The distances from nests to the nearest watercourse, road and village were extracted from the respective raster maps of Euclidean distance. As well as, altitude and tree canopy cover of nests were extracted from the respective raster maps of SRTM and tree canopy cover for the year 2014. In the absence of a nest in a plot, the center point of the plot was used to extract the previous data (Figure 2). Thus, the nests were considered presence data and the points at the center of the plots as pseudo-absence data.

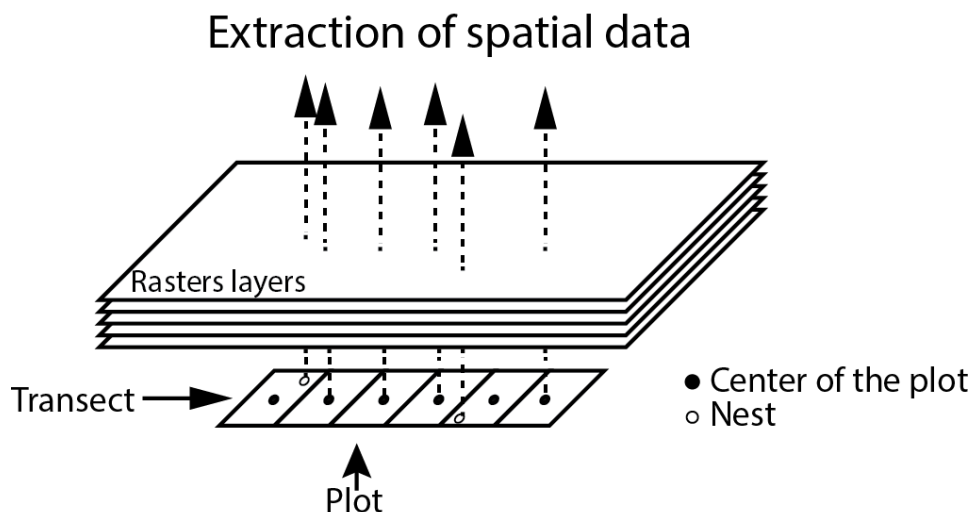


Figure 2. Extraction of spatial data from distances, forest cover and altitude.

6.2.4 Nests count and detection probability

Three hundred points were randomly disposed at Kougouleu and in the logging concession of Precious Woods Gabon, more precisely south of Baposso village. Honey bee and stingless bee nests were searched by visual inspection for bees in flight and nest entrance on the tree near each point position. Nests observed were counted for each tree. After, the tree was cut down and a new thorough visual inspection was performed to search nest bees that were not discovered during the first visual inspection. Nest bees discovered during the second inspection were counted for each tree. The falling of the trees was carried out according to the conditions of management and exploitation in force in the forest concession of Precious Woods Gabon. Diameter at breast height (dbh) of each tree was also measured (Larpkern *et al.*, 2011). Then, the presence of nests was estimated from the total number of nests counted and the numbers of trees sampled, and the proportion of detection by the number of nests counted during the first inspection versus the total number of nests counted.

6.2.5 Bee identification

In the case of honey bees, colonies were identified from the bees at the entrance of the nest. In the case of stingless bees, samples were taken mainly after the tree was felled and stored in alcohol at 70°C for identification. This identification was carried out from descriptions by Eardley (2004), Eardley *et al.* (2010), and Pauly and Fabre Anguilet (2013) and from the comparison with the entomological collection of Gembloux Agro-Bio-Tech, University of Liege.

Data analysis

All the statistical tests were carried out using R 3.1.0 software (R Core Team, 2016). Kruskal-Wallis test was performed to compare the nest density per transect according to study areas. The presence of nests was analyzed in terms of presence / absence (1/0), with the data of nests as presence and the data in the center of the plots of transects as absence. Given the low number of nest observations, the effect of environmental and anthropogenic factors in the presence of nests was modeled using generalized linear mixed effect models (GLMMs), with binomial family and zero-inflation as a single constant. This model was implemented using glmmADMB function from glmmADMB package (Bolke *et al.*, 2012). Study area, environmental and anthropogenic data were used as fixed effect while transect was used as random effect. Then, the effect of different factors in the presence of the nest was tested for all species and for the

species present in the two study areas according to the formula: presence ~ location + distance to the watercourse + tree cover canopy + distance to the road + distance to the village +(1/transect).

The nest presence data in tree sampling were analyzed using two approaches. In a first step, the dbh data were classified according to several intervals of diameter: less 20 cm, 20 to 39 cm, 40 to 59 cm and more 60 cm. Then, the presence of the nest was analyzed using generalized linear model (GLM) from RVAideMemoire package (Hervé 2017). This modeling was done according to the formula: presence ~ study area + diameter class, and binomial family. An analysis of deviance was performed with Anova function in the car package (Fox and Weisberg, 2011). This analysis was carried out from the presence data of the species present in the two study areas. In the second step, the probability of detection of a species was determined as the percentage of the nest observed before felling by the number of nests registered after felling.

6.3 Results

6.3.1 Nests count and density

Trapping and active capture allowed the identification of 5 species at Kougouleu: *Apis mellifera adansonii* Latreille, *Dactylurina staudingeri* (Gribodo), *Hypotrigona gribodoi* (Magretti), *Meliponua bocandei* (Spinola) and *M. nebulata* (Smith); and 11 species in the Likokodiba area: *A. mellifera adansonii*, *D. staudingeri*, *H. gribodoi*, *M. beccarii* (Gribodo), *M. bocandei*, *M. cameroonensis* (Friese), *M. erythra* (Scheltterer), *M. ferruginea* (Lepeletier), *M. nebulata*, *M. lendliana* (Friese), and *M. togoensis* (Stadelmann). Transects cover 30 ha per location studied, and nests of two species were recorded at Kougouleu: *Apis mellifera adansonii* and *Dactylurina staudingeri* (Table 1). Nests of three species were found in Likokodiba area: *A. mellifera adansonii*, *Meliponua bocandei* and *M. nebulata* (Table 1). Nineteen nests were observed in the forest area compared with 16 nests in the disturbed area. The nest density of *A. mellifera adansonii* per transect was not significantly different in the forest area (0.63 ± 0.15) compared to the disturb area (0.56 ± 0.14) (Chi-squared = 0.127, df = 1, p-value = 0.720).

Table 1 Nests number and nest density of honey bees and stingless bee according to location.

Species	Kougouleu		Likokodiba area	
	Total nests	Nest density	Total nests	Nest density
<i>A. mellifera adansonii</i>	15	0,50	12	0,40
<i>D. staudingeri</i>	1	0,03		
<i>M. bocandei</i>			5	0,16
<i>M. nebulata</i>			2	0,06

Figure 3 shows the mean values of environmental and anthropogenic factors extracted from spatial data. Analysis of the environmental factor (distance to watercourse, altitude and tree cover canopy), anthropogenic factors (distance to roads and villages) and the factor location on the presence of nests of all species showed that only the distance to the nearest watercourse had a significant increasing effect (Table 2). Similar results were obtained when only *A. mellifera adansonii* was considered (Table 2).

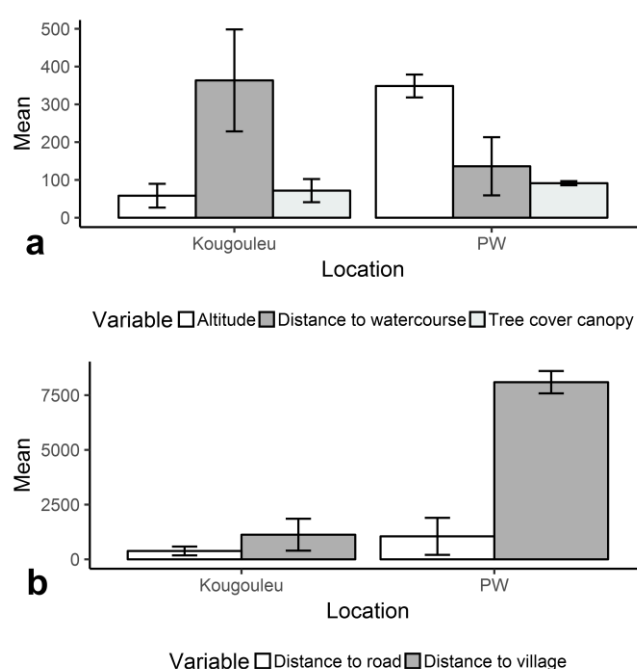


Figure3 Environmental (a) and anthropogenic (b) data according to study area. The distances and the altitude are expressed in meters and the forest cover in percentages.

Table 2 Significant effects of environmental and anthropogenic factors on the presence of nests.

	All species		<i>A. mellifera adansonii</i>	
	Deviance	p-value	Deviance	p-value
Distance to watercourse	4.0889	0.040*	4.6600	0.030*
Altitude	2.3157	0.120	3.3346	0.067
Tree cover canopy	0.1125	0.730	0.0961	0.756
Location	0.6514	0.410	0.4227	0.515
Distance to road	0.3534	0.550	0.5466	0.459
Distance to village	1.8522	0.170	2.5880	0.107

* Significant difference

6.3.2 Nests count and detection probability

Of the 300 points positioned in each study area, 82 trees were inspected at Kougouleu and 298 trees near Baposso (Table 3). The largest number of nests was recorded in the Baposso area. The majority of the registered nests belonged to the *A. mellifera adansonii* species, regardless of the area studied. The analysis of the effect of study area and diameter class on the presence of the nest showed a significant effect of the study area (Chi-squared = 6.6084, df = 1, p-value = 0.01) and not significant for the diameter class (Chi-squared = 6.4513, df = 1, p-value = 0.09). Hundred percent of the nests recorded in the Kougouleu area were observed before the tree was felled (Table 3). In the Baposso area, all stingless bee nests were recorded once the trees were felled, while 64.3% of nests of *A. mellifera adansonii* were observed before felling.

Table 3 Nests observed and recorded according to the study area. Nests observed correspond to nest recorded before trees were felled and total nest corresponds to nest recorded after trees were felled.

Study area	Total tree	Total nest	Total nest/species	Nest observed/species	Species
Kougouleu	82	17	16	16	<i>A. mellifera</i>
			1	1	<i>D. staudingeri</i>
Bapossa	298	22	14	9	<i>A. mellifera</i>
			4	0	<i>M. bocandei</i>
			2	0	<i>M. ferruginea</i>
			2	0	<i>M. nebulata</i>

6.4 Discussion

This study provided an initial estimate of the nest density, particularly that of the honey bee in a disturbed area and forest area in Gabon (Central Africa). The nest densities of honey bee obtained were higher than those obtained in other regions of Africa. Indeed, the nest densities found by Kajobe and Roubik (2006) and Jaffé *et al.* (2009) varied from 0.04 to 0.12 nest per ha. This difference can be explained by the fact that the area investigated in our study was lower and therefore the research effort potentially greater. In addition, the aggressiveness of *A. mellifera adansonii* on the approach of nests would also allow to spot nests easier (Fletcher, 1978). Our data shows that in the presence of numerous species of stingless bees, nest counting does not enable to observe a large number of species. This weakness of the method of nest counting had already been pointed out by Kadjobé and Roubik (2006). The nest densities of stingless bee species observed was lower than the average nest density (1.9 nests per hectare) obtained by Tornyle and Kwapong (2015). However, the nest densities obtained in our study areas remain within the range of nest densities obtained by Kajobe and Roubik 2006. The non-significant difference of honeybees nest density between disturbed area and forest area confirms that honeybees are common to different habitats (Kadjobe 2006; Abdullahi *et al.*, 2011).

Our study does not show any significant effect of the selected anthropogenic factors, specifically distance to the village and to the road. Based on the assumption that nest predation had an effect on density, because honey hunters left villages and traveled the roads, we could expect that these factors had an effect on the presence of nests. Conversely, a significant effect of distance to the nearest watercourse was obtained on the presence of nests. This result would confirm the observations of Darchen (unpublished) if the number of stingless bee species observed had been greater. Water is a resource used by *Apis mellifera* during warm periods for thermoregulation of its nest (Lensky, 1964). The availability of this resource is important for the colony of honey bees in hot zones such as Gabon. It would also be interesting to carry out a study on the distance of nests to watercourses, taking into account other factors such as absconding and cavity availability in order to confirm the significant effect of distance from the nearest watercourse obtained in the present study. If the difference in altitude between location was greater than 200m, the altitude range between transects within each location was small. Thus, the variability of the altitude was more related to the location compared to the transects. And since the location did not have a significant effect on the presence of the nests, it was logical that altitude did not also have a significant effect on the presence of nests. No significant effect observed on the forest cover could be explained by the large distribution of honeybee's

nests in several habits, which is a species common to several habitats, constituted the majority of nests observed.

The second inventory showed no significant effect of tree diameter on the presence of nests. The fact that honeybee nests represented the majority of the nests observed could also be explained by the lack of significantly effect of tree diameter observed. *A. mellifera adansonii* is a subspecies with a strong tendency to swarm and abscond the cavities it occupies (Villieres, 1987). Thus, *A. mellifera adansonii* occupies the available cavities and absconds these when they become narrow, or for some other reason. The absconding behavior of cavities could justify the absence of a significant effect of the diameter of the sampled trees on the presence of the nest. Finally, our study confirms the hypothesis of the low detection capacity of nests in forest habitat. Indeed, in the forest habitat, the observation rate of the colonies was low or zero for stingless bees compared to honeybees. The size of the nest-entrance of stingless bee species (from 1 to 2cm according to Mogho Njoya (2009)), the smaller size of stingless bee colonies in comparison with honeybee colonies, and the height of the forest trees make it difficult to observe nests in general, and especially stingless bee nests.

If our study provided first data on the density of bees in forested and disturbed habitat, it revealed the great weakness of the visual nest counting. It would be necessary to consider a new efficient methodology for inventorying bee nests or to taking into account the probability of species's detection before drawing conclusions on its abundance in a habitat.

Acknowledgement

The authors thank the Gabonese government and Commission Economique du Bétail, de la Viande et des Ressources halieutiques, the Agence Nationale des Pacs Nationaux and Precious Woods Gabon for support. We also thank Alain Pauly (Royal Belgian Institute of Natural Sciences) for helping to identification some species; Yves Brostaux (University of Liege - Gembloux Agro-Bio Tech) for help with statistical analysis.

References

- Abeshu, M. A. and Geleta, B. 2016. Medicinal Uses of Honey. *Biology and Medicine*, 8:1-7.
- AMBOUGOU ATISSO V., 1991. *Apis mellifera adansonii* Lat. et les plantes utiles mellifères gabonaises (Département de l'Ivindo), recherches palynologiques. Thèse de doctorat : Université Paris 6. Paris.

- Bolker, B., Skaug, H., Magnusson, A. and Nielsen, A. 2012. *Getting started with the glmmADMB package* <http://glmmadmb.r-forge.r-project.org/glmmADMB.html> Accessed 16 January 2017.
- Darchen R., 1972. Écologie de quelques trigones (*Trigona* sp.) de la savane de Lamto (Côte d'Ivoire). *Apidologie*, 3(4), 341-367
- Direction Générale de la Statistique 2015. Résultats globaux du Recensement Général de la Population et des Logements de 2013 du Gabon (RGPL-2013). Libreville. 195 pp. <http://www.mays-mouissi.com/wp-content/uploads/2016/07/Recensement-general-de-la-population-et-des-logements-de-2013-RGPL.pdf> Accessed 12 september 2016
- Eltz, T., Bruhl C. A., Van Der Kaars S. and Linsenmair K. E. 2002. Determinants of stingless bee nest density in lowland dipterocarp forests of Sabah, Malaysia. *Oecologia* 131:27–34.
- Fox J. and Weisberg S. 2011. *An {R} Companion to Applied Regression*, Second Edition. Thousand Oaks CA: Sage. <http://socserv.socsci.mcmaster.ca/jfox/Books/Companion> Accessed 16 february 2017.
- Fletcher J.D.C. 1978. The african bee, *Apis mellifera adansonii*, in Africa. *Annual Review of Entomology*. 23:151-157.
- Hansen M. C., Potapov P. V., Moore R., Hancher M., Turubanova S. A., Tyukavina A., Thau D., Stehman S. V., Goetz S. J., Loveland T. R., Kommareddy A., Egorov A., Chini L., Justice C. O., and Townshend J. R. G. 2013. “High-Resolution Global Maps of 21st-Century Forest Cover Change.” *Science*, 342: 850–53.
- Hervé M., 2017. RVAideMemoire: Diverse Basic Statistical and Graphical Functions. R package version 0.9-63. <https://CRAN.R-project.org/package=RVAideMemoire> Accessed 16 february 2017.
- Jaffé R. et al., 2009. Estimating the density of honeybee colonies across their natural range to fill the gap in pollinator decline censuses. *Conserv. Biol.*, 24: 583-593.
- Kajobe R. and Roubik D.W., 2006. Honey-making bee colony abundance and predation by apes and humans in a Uganda Forest Reserve. *Biotropica*, 38: 210-218.

- Larpkern P., Totland Ø. and Moe S. R., 2011. Do disturbance and productivity influence evenness of seedling, sapling and adult tree species across a semi-deciduous tropical forest landscape? *Oikos* 120: 623–629. doi: 10.1111/j.1600-0706.2010.18967.x
- Larsen N.J., Minor, M.A., Cruickshank R.H. and Robertson A.W. 2014. Optimising methods for collecting Hymenoptera, including parasitoids and Halictidae bees, in New Zealand apple orchards. *Journal of Asia-Pacific Entomology* 17:375–381.
- Lenky Y. 1964. Les régulations thermiques dans la ruche en été. *Les Annales de l'Abeille*, 7 :23-45.
- Mogho Njoya M. T., 2009. *Diversity of Stingless Bees in Bamenda Afromontane Forests – Cameroon: Nest architecture, Behaviour and Labour calendar*. PhD Thesis: Wilhelms Universität Bonn - Institut für Nutzpflanzenwissenschaften und Ressourcenschutz Rheinische Friedrich (Deutschland)
- R CORE TEAM 2016. R: A language and environment for statistical computing R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria <http://www.R-project.org/> . Accessed 12 October 2016.
- Reyes-González A., Camou-Guerrero, A., Reyes-Salas O., Argueta A. and Casas A. 2014. Diversity, local knowledge and use of stingless bees (Apidae: Meliponini) in the municipality of Nocupétaro, Michoacan, Mexico. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 10:47.
- Rubene D., Schroeder and Ranius T. 2015. Estimating bee and wasp (Hymenoptera: Aculeata) diversity on clear-cuts in forest landscapes-an evaluation of sampling methods. *Insect conservation and diversity* 8: 261–271.
- Tornyie F. and Kwapong P.K., 2015. Nesting ecology of stingless bees and potential threats to their survival within selected landscapes in the northern Volta region of Ghana. *African Journal of Ecology*, 53: 398–405.
- Villieres B (1987) L'apiculture en Afrique tropicalc. Groupe de Recherche et d'Echanges Technologiques, Paris

**QUATRIEME PARTIE : CONTRIBUTION À L'ÉTUDE DU
VARROA ET DU PETIT COLÉOPTÈRE DES RUCHES :
PRÉVALENCE ET IMPACT SUR LA DOMESTICATION**

Chapitre 7 First survey on prevalence and infestation rates of Varroa mites in Gabon

Les chapitres de la troisième partie ont permis d'illustrer que la perte de l'habitat forestier constitue une menace pour la diversité des populations d'abeilles étudiées. Le présent chapitre examine la prévalence et le taux d'infestation du parasite *Varroa* chez l'abeille *Apis mellifera adansonii* au Gabon.

Adapted from **E. C. Fabre Anguilet**; T. Alabi, T. Bengone Ndong, B. K. Nguyen, E. Haubruge and F. Francis. *Comm. Appl. Biol. Sci, Ghent University*, 81/3, 299-305, 2016

Summary

Varroa mites cause considerable damage to *Apis mellifera* L colonies in North America, Europe and Asia. To control this parasite, beekeepers in these parts of the world must use chemical acaricides. In Africa, this pest has been identified, and a survey of *Varroa* infestation rates showed a high level of variation across honey bee sub-species. Generally, African colonies seemed to be resistant or tolerant to the presence of *Varroa mites*. The objective of our study is to explore the presence, prevalence and infestation rates of the *Varroa* mite in Gabon. The presence and quantitative assessment of *Varroa mites* were performed in 55 wild colonies of *Apis mellifera adansonii* Latreille in two locations. Our results showed that: (1) 70% and 48% of the wild colonies studied were infested with *Varroa destructor* according to location, and (2) the *Varroa* infestation rate was lower than 0.5 mite per 100 bees regardless of location. The infestation rates obtained were very low compared to those observed in other African regions. Future work should explore the reasons for the observed low infestation rates.

Keywords: *Apis mellifera adansonii*, *Varroa* mite, wild colonies, central Africa, Gabon.

7.1 Introduction

Pollinators play an important role in the reproduction of wild and cultivated plants. According to Gallai *et al.* (2009), pollination services correspond to around 9.5% of the total value of world agriculture production used for human consumption in 2005. Among pollinators, honey bees, *Apis mellifera* Linnaeus, are the subject of considerable attention in view of the importance of their use worldwide and numerous health threats to their colonies. The *Varroa* mite is one of the main threats to honey bees and consequently on apiculture (Genersch *et al.*, 2010; Chemurot *et al.*, 2016). This mite causes damage to both brood and adult bees, and constitutes a vector for numerous viral infections (Boecking and Genersch, 2008). The *Varroa* mite causes considerable damage to *Apis mellifera* Linnaeus colonies in North America, Europe and Asia. To control this parasite, beekeepers in these parts of the world use chemical acaricides.

To date, four *Varroa* mite species have been identified: (1) *Varroa jacobsoni* Oudemans, (2) *Varroa aunderwoodi* Delfinado-Baker and Aggarwal, (3) *Varroa rindereri* de Guzman and Delfinado-Baker, and (4) *Varroa destructor* Anderson and Trueman (Boecking and Genersch, 2008; Rosenkranz *et al.*, 2010). The virulence of these species varies among different races or subspecies of *A. mellifera*, and *V. destructor* has worldwide spread (Rosenkranz *et al.*, 2010). Thus, *Varroa destructor* has been recorded in various African countries (Fazier *et al.*, 2010; Akinwande *et al.*, 2012; Adjlane and Haddad, 2014; Mumbi *et al.*, 2014; Strauss *et al.*, 2015; Chemurot *et al.*, 2016). In temperate climates, colonies infested by this ectoparasite usually collapse within a 2–3-year period, if no treatment is used (Rosenkranz *et al.*, 2010). However, in Africa, honey bee subspecies are resistant to *V. destructor* (Strauss *et al.*, 2015; Mortensen *et al.*, 2016). *Varroa* infestation rates vary across regions in Africa for various reasons. For example, Muli *et al.* (2014) and Mumbi *et al.* (2014) associated *Varroa* infestation rate variation with elevation. However, Mortensen *et al.* (2016) showed that honeybee sub species, rather than elevation, influences infestation rate.

Most published studies on the *Varroa* infestation rate have been conducted in apiaries, but the status of wild colonies has been less explored. In Gabon (central Africa), no study has been published on the presence of *Varroa* mites. *Apis mellifera adansonii* Latreille has been the only honey bee subspecies identified in this country (Ambougou Atisso, 1991; Pauly, 1998; Radloff and Hepburn, 1999). Honey hunting is still performed by rural populations, and there are very few apiaries in Gabon (Fabre Anguilet *et al.*, 2015). Thus, the aim of this work is to provide background information on the prevalence and infestation rate of *Varroa* mites in wild honey

bee colonies in Gabon. We also focus on the correlation between the *Varroa* infestation rate and elevation. In order to achieve the aim of the study, we conducted a survey of wild honey bee colonies in two locations in Gabon.

7.2 Materials and Methods

7.2.1 Study area

The study was conducted in Kougoulevu in north-western Gabon, and in the logging concession of Precious Woods (PW) in eastern parts of Gabon (Figure 1). Due to deforestation and development of rural crops, vegetation in Kougoulevu is mainly characterized by the presence of orchards and food crops. In contrast, rainforest dominates the logging concession of PW. Both these areas have two dry season and two rainy season (Drouineau *et al.*, 1999). The highest altitude in Gabon does not exceed 1000 m, and Kougoulevu is located in the coastal sedimentary basin whose altitude is generally less than 200 m above sea level (Christy *et al.*, 2003), whereas the forest concession is in the region of plateaus whose altitude varies from 200 to 1000 m above sea level (Christy *et al.*, 2003).

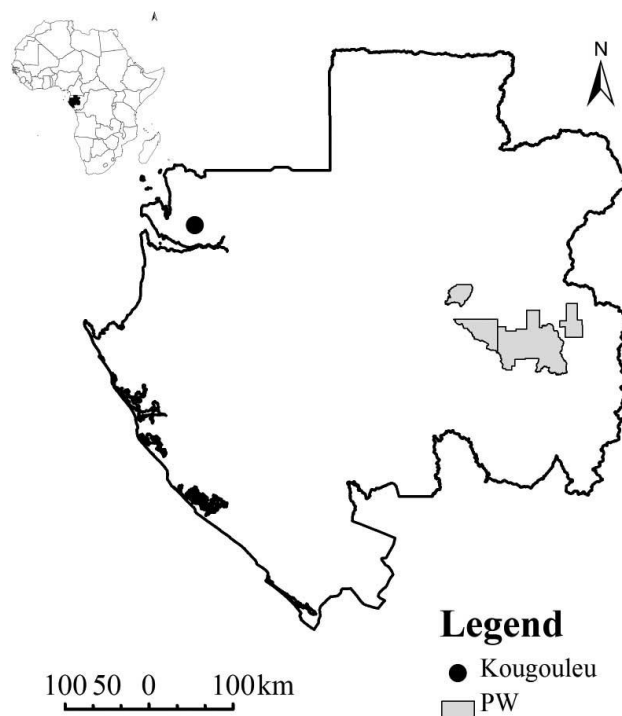


Figure 1. Study locations in Gabon: Kougoulevu and PW (Logging Concession of Precious Woods Gabon).

7.2.2 Data collection

In total, 55 wild honey bee nests were sampled: 30 in Kougouleu and 25 in PW. These samplings were carried out during the rainy season from October to December 2013 and 2014. In each nest, worker bees were collected three times. Each sample contained approximately 350 bees. Honey bees were placed in 70% ethanol before mite collection.

For each sampling, GPS coordinates of nests were recorded using a Garmin GPSMAP 62. These coordinates were used to collect elevation data (Figure 2), from the ASTER Global Digital Elevation Model (GDEM, vertical accuracy generally between 10 and 25 m) using ArcGIS 10.2 (Esri, Readlands, CA, USA). GDEM was downloaded from the United States Geological Survey EarthExplorer (USGS EarthExplorer) online data.

Honey bees were shaken in 70% ethanol for five minutes to release the mites (adapted from OIE, 2008; Dietemann *et al.*, 2013). Then, honey bees were separated from the mites by using a double sieve: the first to retain worker honey bees and the second to collect mites. Then, the contents of each part of the sieve was placed on a white surface to observe mites. Once mites were collected, they were counted and placed in 1.5 ml vials. The identification of *Varroa* mites was carried out from the morphological method (adapted from Dietemann *et al.*, 2013).

In this study, mite prevalence was defined as the proportion of nests infected by mites, and the infestation rate was defined as the number of mites per 100 bees. This rate is determined using equation 1 in Dietemann *et al.* (2013).

$$Varroa \text{ infestation rate} = \frac{\text{number of mites}}{\text{number of bees}} * 100 \quad [1]$$

The prevalence of mites was determined for each studied area, and the infestation rate was determined for each honey bee sample.

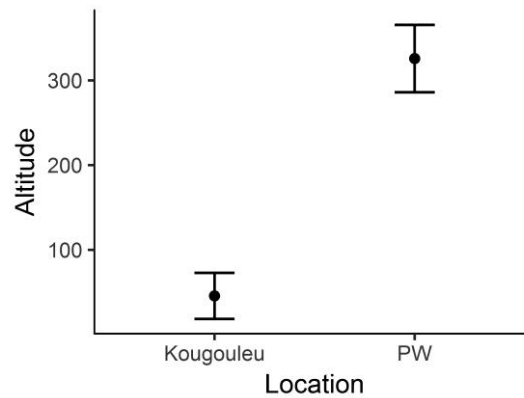


Figure 2. Range of nests altitude according to study area (PW = logging concession of Precious Woods)

7.2.3 Data analysis

The presence/absence data of *Varroa* in wild honey bee nests were cumulated for the two years according to study area, and analyzed with the software R 3.2.3. A chi-square test of homogeneity was used to compare the proportion of the nest infested based on location. To compute the correlation between *Varroa* infestation rate and altitude, the number of *Varroa* mites per 100 workers was averaged according to nest in the first step. Thereafter, a Kendall's rank correlation test was performed between the average number of *Varroa* mites per 100 workers in each nest, and the altitude, using the R 3.2.3 software

7.3 Results

The presence of *Varroa* mites was observed in both localities. Captured mites were identified as *Varroa destructor* (Figure 3). Of the 30 and 25 nests respectively sampled in Kougouleu and PW, *Varroa* mites were present in 70% of nests in the first location and 48% in the second. However, no significant difference was found for the prevalence of *Varroa* mites according to location (chi-squared = 1.9097, $p = 0.167$). No symptoms relating to the presence of the *Varroa* mite was observed in the sampled wild colonies.

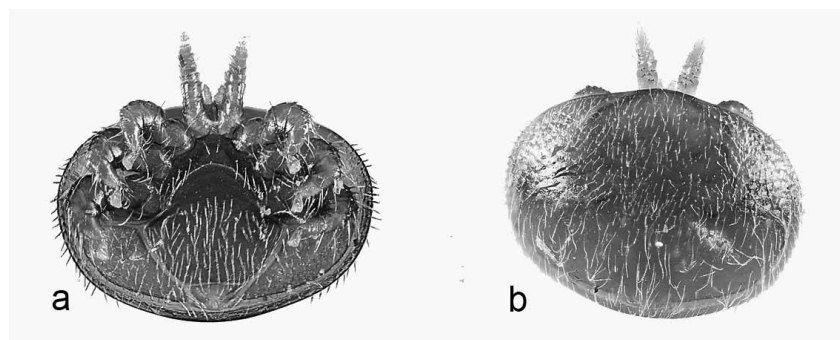


Figure 3. *Varroa destructor*. (a) ventral view, (b) dorsal view.

Average *Varroa* infestation rates in wild honey bee nests ranged from 0 to 1.81 at Kougouleu and from 0 to 0.38 at PW (Figure 4). The average infestation rate per location observed was lower in PW (Figure 5). There was no correlation between *Varroa* mite infestation rate and elevation ($z = -1.7353$, $p = 0.08$, $\tau = -0.17$).

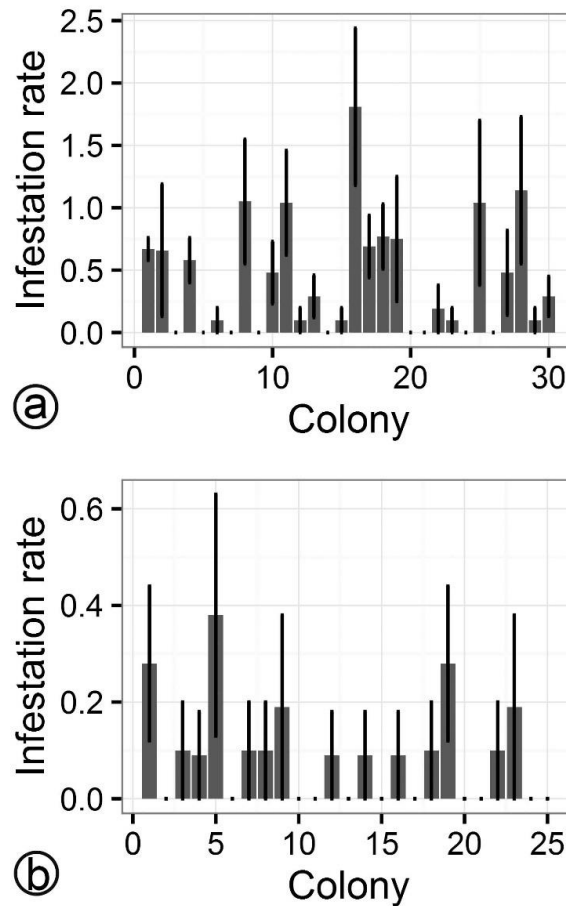


Figure 4. Average number of *Varroa* mites per 100 bees in wild colonies according to location: (a) Kougouleu, (b) PW. The vertical bars represent standard error.

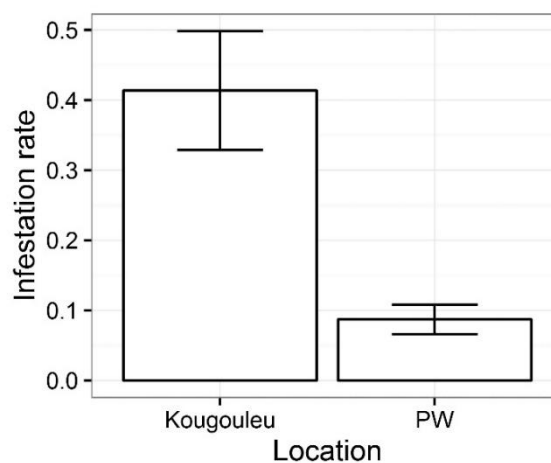


Figure 5. Average number of *Varroa* mites per 100 bees in wild colonies according to location. The vertical bars represent standard error.

7.4 Discussion

Our results show that the *Varroa* mite is present in wild honey bee colonies in Gabon. The prevalence observed is in the range of those observed in Uganda, Nigeria, Kenya, and Tanzania (Akinwande *et al.*, 2012; Muli *et al.*, 2014; Mumbi *et al.*, 2014; Chemurot *et al.*, 2016). Prevalence in these countries ranged from 40 to 83%. However, different sampling sizes were used in these studies to assess the prevalence of *Varroa* mites; thus, it is difficult to compare prevalence among the studies. *Varroa* infestation rates obtained in the present study are much lower than those obtained in Africa. Indeed, the recorded average rates are all below 0.5 mites per 100 bees, unlike those obtained by Adjlane and Haddad (2014), Muli *et al.* (2014), and Chemurot *et al.* (2016). These authors obtained rates of infestations that varied between 1 and 8 mites per 100 bees. The *Varroa* infestation rates obtained from this study may also explain the absence of symptoms observed in infested nests. According to Raberg *et al.* (2009), resistance against a parasite is the ability to limit parasite burden, while tolerance is the ability to limit damage caused by a given burden. Thus, this low infestation rate suggests that *A. m. adansonii* might have developed resistance against *Varroa* mites in our studied areas. *Apis mellifera adansonii* presents strong aggressive, grooming and absconding behaviors (Fletcher, 1978). This set of behaviors could explain the effectiveness of *A. m. adansonii* against the *Varroa* mite. Indeed, Aumeier (2001) and Bak and Wilde (2015) suggest that grooming is more intense among aggressive subspecies. These subspecies are more sensitive to external stimuli.

Unlike the results of Muli *et al.* (2014) and Mumbi *et al.* (2014), our results showed no correlation between *Varroa* infestation rate and elevation. However, elevations across locations in our study were lower compared to those of the previous authors. Our results agree with the findings of Mortensen *et al.* (2016) since the *Varroa* infestation rate is not influenced by elevation. In the future, regular surveys will be needed to determine whether *Varroa* infestation rates change over time or under the influence of anthropogenic or environmental factors in Gabon.

Literature

- Adjlane N. & Haddad N. (2014). Detection of deformed wing virus in the local bee colonies *Apis mellifera intermissa* in Algeria and its relationship with *Varroa destructor*. *Mellifera*. **28**:3-10.
- Akinwande K. L., Badejo M. A. & Ogbogu S. (2012). Incidence of the koran halotype of *Varroa destructor* in southwest Nigeria. *Journal of Apicultural Research*. **51**(4): 369-370.

- Ambougou Atisso V. 1991. *Apis mellifera adansonii* Lat. et les plantes utiles mellifères gabonaises (Département de l'Ivindo), recherches palynologiques. Thèse de doctorat, Université Paris 6 ; Paris, France. 160pp.
- Aumeier P. (2001). Bioassay for grooming effectiveness towards *Varroa destructor* mites in Africanized and Carniolan honey bees. *Apidologie* **32**(1): 81-90.
- Bak B. and Wilde J. (2015). Grooming behavior by worker bees of various subspecies of honey bees to remove *Varroa destructor* mites. *Journal of Apicultural Research*, **54**(3): 207-215.
- Boecking O. & Genersch E. (2008). Varroosis—the ongoing crisis in beekeeping. *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit*. **3** :221–228.
- Chemurot M., Akol A. M., Masembe C., De Smet L., Descamps T. & De Graaf D. C. (2016). Factors influencing the prevalence and infestation levels of *Varroa destructor* in honeybee colonies in two highland agro-ecological zones of Uganda. *Experimental and Applied Acarology*. **68**:497–508.
- Christy P., Jaffré R., Ntougou O., Wilks C. (2003). La Forêt et la filière bois au Gabon : La forêt du Gabon au début du troisième millénaire. Ministère des Affaires Etrangères, Paris, pp 389.
- Dietemann V., Nazzi F., Martin S. J., Anderson D. L., Locke B., Delaplane K. S., Wauquiez Q., Tannahill C., Frey E., Ziegelmann B., Rosenkranz P. & Ellis J. D. (2013). Standard methods for *Varroa* research. *Journal of Apicultural Research*. **52**(1): 1-54.
- Fabre Anguilet E. C., Nguyen B. K., Bengone Ndong T., Haubruge E. & Francis F. (2015). Meliponini and Apini in Africa (Apidae: Apinae): a review on the challenges and stakes bound to their diversity and their distribution. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*. **19**(4), 382-391.
- Fletcher D. J. C. (1978). The African bee, *Apis mellifera adansonii*, in Africa. *Annual Review of Entomology*. **23**:151-171.
- Gallai N., Salles J.M., Settele J. & Vaissiere B.E. (2009) Economic valuation of the vulnerability of world agriculture confronted with pollinator decline. *Ecological Economics*. **68**: 810–821.
- Genersch, E. (2010). Honey bee pathology: current threats to honey bees and beekeeping. *Applied Microbiology and Biotechnology*. **87**: 87–97.
- Fazier M., Muli E., Conklin T., Schmehl D., Torto B., Frazier J., Tumlinson J., Evans J. D. & Raina S. (2010). A scientific note on *Varroa destructor* found in East Africa; threat or opportunity? *Apidologie* **41**(4): 463–465.

- Mortensen A. N., Schmehl D. R., Allsopp M., Bustamante T. A., Kimmel C. B., Dykes M. E. & Ellis J. D. (2016). Differences in *Varroa destructor* infestation rates of two indigenous subspecies of *Apis mellifera* in the Republic of South Africa. *Experimental and Applied Acarology*. **68**:509–515.
- Mumbi C. T., Mwakatobe A. R., Mpinga I. H., Richard A. & Machumu R. (2014). Parasitic mite, *Varroa* species (Parasitiformes: Varroidae) infesting the colonies of African honeybees, *Apis mellifera scutellata* (Hymenoptera: Apidae) in Tanzania. *Journal of Entomology and Zoology Studies*. **2**:(3), 188-196.
- Muli E., Patch H., Frazier M., Frazier J., Torto B., Baumgarten T., Kilonzo J., Ng'ang'a Kimani J., Mumoki F., Masiga D., Tumlinson J. & Grozinger C. (2014). Evaluation of the distribution and impacts of parasites, pathogens, and pesticides on honey bee (*Apis mellifera*) populations in East Africa. *PLoS ONE*. **9**(4): e94459.
- OIE (2008) Varroosis of honey bees (infestation of honey bees with *Varroa* spp.). In *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals* (6th edition). Office International des Épizooties, Paris, France. pp. 1-6.
- Pauly A. 1998. Hymenoptera Apoidea du Gabon. Musée Royal de l'Afrique Centrale Tervuren, Belgique. *Annales Sciences Zoologique*, **282**: 1-121.
- Raberg L., Graham A. L. and Read A. F. (2009). Decomposing health: tolerance and resistance to parasites in animals. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 364 : 37–49.
- Radloff S. E. & Hepburn H. R. (1999). Honeybees, *Apis mellifera* Linnaeus (Hymenoptera: Apidae), of equatorial Africa. *African Entomology*, **7**(2): 265-269.
- Rosenkranz P., Aumeier P., Ziegelmann B. (2010). Biology and control of *Varroa destructor*. *Journal of Invertebrate Pathology*. **103**: S96–S119
- Strauss U., Pirk C. W. W., Crewe R. M., Human H. & Dietemann V. (2015). Impact of *Varroa destructor* on honeybee (*Apis mellifera scutellata*) colony development in South Africa. *Experimental and Applied Acarology*. **65**:89

Chapitre 8 Parasitisme d'*Apis mellifera adansonii* (Latreille 1804) et de *Meliponula bocandei* (Spinola 1853) par *Aethina tumida* (Murray 1867): premier recensement au Gabon et impact sur la domestication

La présence du *Varroa destructor* a été mis en évidence au Gabon dans le précédent chapitre. La chapitre 8 aborde la question relative à la présence d'un autre parasite chez *Apis mellifera adansonii* et de *Meliponula bocandei*. Il s'agit du petit Coléoptère des ruches *Aethina tumida*. L'impact de ce Coléoptère lors du transfert des colonies de *M. bocandei* dans des ruches est également évalué.

Adapté de **Edgard Cédric Fabre Anguilet**, Taofic Alabi, Éric Haubruge, Bach Kim Nguyen, Toussaint Bengone Ndong & Frédéric Francis. *Entomologie Faunistique* 2017, 70, 3-11

Résumé

Le petit coléoptère des ruches, *Aethina tumida* (Murray 1867), a été signalé dans de nombreux pays d'Afrique subsaharienne. Ce parasite est considéré comme une menace mineure pour les colonies importantes d'*Apis mellifera* (Linnaeus 1758) en Afrique, mais une menace majeure lors du transfert des colonies sauvages de *Meliponula bocandei* (Spinola 1853) dans des ruches. Aucune donnée n'a été publiée sur la situation du Gabon et la situation des colonies sauvages est mal connue. Aussi, la présente étude a pour objet : (1) de faire un premier état de la prévalence d'*A. tumida* dans les colonies sauvages d'*A. mellifera* et *M. bocandei* au Gabon ; (2) de vérifier l'efficacité de la mise en place d'une quarantaine lors du transfert de *M. bocandei* dans une ruche contre *A. tumida*. Ainsi, 59 nids d'*A. mellifera* et 25 nids de *M. bocandei* ont été inspectés dans deux localités. Douze colonies de *M. bocandei* ont été transférées dans des ruches avec une quarantaine de 4 jours et douze ont été transférées sans quarantaine. *Aethina tumida* a été observé dans plus de 70 % des colonies d'*A. mellifera* inspectées et dans une seule colonie de *M. bocandei*. Aucun dégât n'a été observé dans les colonies d'*A. mellifera*. Plus de 60 % des couvains de *M. bocandei*, mis en quarantaine ou non, ont été détruits par *A. tumida* lors du transfert dans des ruches. Cette étude met en évidence la présence d'*A. tumida* au Gabon et la nécessité de développer une méthode de domestication plus efficace de *M. bocandei* dans des ruches.

Mots-clés : Coleoptera, Nitidulidae, parasite, abeille domestique, abeille sans dard, prévalence, Afrique centrale.

8.1 Introduction

Le petit coléoptère des ruches, *Aethina tumida* (Murray 1867) (Coleoptera, Nitidulidae), est un ravageur des ruches d'*Apis mellifera* (Linnaeus 1758) à travers de nombreuses régions du monde. Ce coléoptère des ruches, originaire d'Afrique Subsaharienne, a été identifié aux USA, au Canada, en Italie, en Australie, aux Philippines et dans de nombreux pays en Afrique (Hood, 2004; Giangaspero & Turno, 2015; Neumann *et al.*, 2016). Au stade larvaire, *A. tumida* occasionne de nombreux dégâts dans les ruches en consommant le couvain et les réserves (pollen et miel), et en laissant des déchets fermentés (Hayes *et al.*, 2015). En Australie, ce coléoptère a été à l'origine de la perte de 4994 ruches entre 2002 et 2006 (Rhodes & McCorkell, 2007). Cette perte a été obtenue sur la base d'un échantillon de 329 apiculteurs disposant chacun de plus de 50 ruches. En Afrique, *A. tumida* est considéré comme une menace mineure (Neumann & Elzen, 2004; Neumann & Ellis, 2008). En effet dans cette région, ce coléoptère est à l'origine d'importants dégâts dans les colonies affaiblies ou malades (Ellis, 2005; Ellis & Hepburn, 2006). De plus, un comportement de confinement d'*A. tumida* dans les ruches a été mis en évidence en Afrique, notamment chez *A. mellifera* *carpensis* (Eschscholtz 1822) (Ellis, 2005; Ellis & Hepburn, 2006). Ce comportement explique en partie l'impact moins important du coléoptère observé en Afrique.

D'autres espèces d'abeilles sociales sont également parasitées par *A. tumida*, c'est le cas des Meliponini. Selon Mutsaers (2006), les colonies de *Dactylurina staudingeri* (Gribodo 1893) abritent ce coléoptère. Ce dernier a été identifié comme une des causes de l'échec du transfert des colonies sauvages de Meliponini dans les ruches en Afrique (Eardley & Kwapong, 2013). En effet, l'élevage des abeilles domestique *A. mellifera* et des Meliponini en Afrique est réalisé en général à partir de colonies sauvages soit attirées soit transférées dans des ruches (Dietemann *et al.*, 2009). Dans le cadre du transfert des colonies de *Meliponula bocandei* (Spinola 1853) dans les ruches, Nkoba (2012) a identifié *A. tumida* comme un parasite à l'origine de la perte des colonies. Kwapong *et al.* (2010) préconisent de transférer uniquement le couvain et les abeilles dans une ruche, car le petit coléoptère est attiré par le pollen et le miel. Cette attractivité a été mise en évidence également avec les substances volatiles du pollen d'*A. mellifera* (Torto *et al.*, 2007).

Des travaux ont été menés sur l'écologie et la biologie de ce coléoptère des ruches. Ainsi le cycle de développement de ce parasite est bien connu, de même que les comportements et les méthodes de lutte mis en oeuvre par certains de ses hôtes. Bien qu'*A. tumida* soit endémique à

la zone d'Afrique subsaharienne, aucune donnée scientifique n'a été publiée sur la présence et la prévalence de ce parasite au Gabon (Fabre Anguilet *et al.*, 2015). De plus, les études menées ont été réalisées dans les ruches, la situation des colonies sauvages d'abeilles sociales est mal connue. En effet, *A. tumida* a été identifié comme parasite des colonies de *M. bocandei* lors des transferts de celles-ci dans les ruches, cependant les données sur la présence du coléoptère dans les colonies sauvages ne sont pas connues. Au Gabon, les populations rurales pratiquent la cueillette des miels d'abeilles *A. mellifera adansonii* (Latreille 1804) et de Meliponini qui s'accompagne de la destruction des colonies sauvages d'abeilles. Des projets de vulgarisation de l'élevage sont mis en place afin de réduire cette dépendance à la récolte de miels par les populations rurales gabonaises. Outre l'effet bénéfique des abeilles sur la pollinisation des plantes et sur le plan agricole et économique, Ngama *et al.* (2016) ont mis en évidence le fait que l'activité des abeilles *A. mellifera adansonii* permet d'éloigner les éléphants. Cela permet d'envisager l'usage de ruchers dans la gestion des conflits homme-éléphant au Gabon. Pour atteindre tous ces objectifs, il est important de faire l'état des lieux afin d'identifier d'éventuelles menaces. Identifier les parasites et pathogènes dans les colonies sauvages permettra de mieux se préparer dans le cadre de la vulgarisation de l'élevage.

Aussi, l'objectif du présent travail est de mettre en évidence la présence d'*A. tumida* au Gabon, de faire un premier état de l'infestation des colonies sauvages d'*A. mellifera adansonii* et de *M. bocandei*. Enfin, il s'agit également d'évaluer l'impact d'*A. tumida* lors du transfert des colonies des cavités naturelles vers les ruches suivant les recommandations de Kwapong *et al.* (2010). La stratégie est de transférer uniquement le couvain et les abeilles afin de limiter la destruction de la colonie transférée par ce coléoptère des ruches. Ce transfert de couvain et la mise en quarantaine sont expérimentés afin de déterminer l'impact sur la présence d'*A. tumida* dans les ruches de *M. bocandei* et leur destruction par les larves de ce parasite.

8.2 Matériel et Méthode

8.2.1 Sites d'étude

L'étude a été menée dans la localité de Kougouleu (0°24'15" N, 9°53'16" E) dans la partie Nord- Ouest du Gabon, et dans la concession forestière de Precious Woods Gabon (Figure 1). Ces deux zones ont été choisies afin de mener l'étude dans deux types d'habitats que l'on retrouve essentiellement au Gabon : l'habitat constitué de cultures vivrières et l'habitat forestier. La végétation de la localité de Kougouleu est constituée de cultures vivrières, de vergers et d'une forte présence de parasoliers africains, *Musanga cecropioides* (R.Br. ex Tedlie

1819). La concession forestière de Precious Woods Gabon se trouve dans la partie Est du Gabon à environ 30 km de la ville de Lastoursville (0°49'0" S, 12°42'0" E). La forêt tropicale humide constitue l'essentiel de l'habitat rencontré dans cette concession. La végétation est composée de nombreuses essences forestières, notamment *Aucoumea klaineana* (Pierre 1896), *Pterocarpus soyauxii* (Hooker 1895), *Distemonanthus benthamianus* (Baill. 1870). Le climat dans ces deux zones d'étude est de type tropical, caractérisé par une longue saison sèche et une longue saison de pluie (Drouineau et al., 1999).

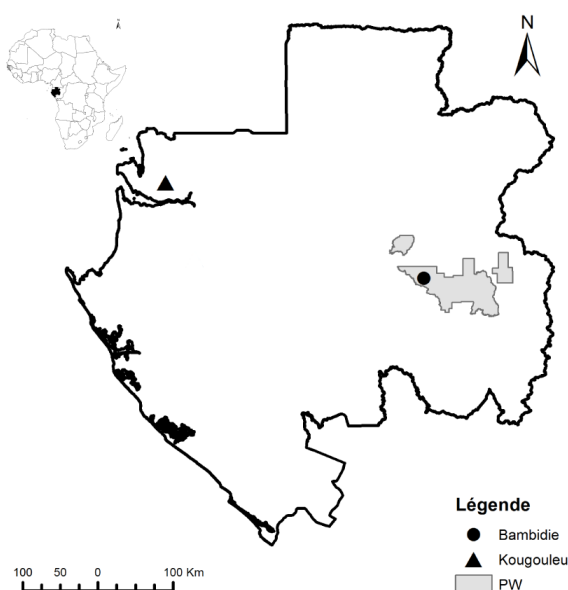


Figure 1 . Localisation géographique des zones d'étude au Gabon.



Figure 2. Colonie d'*A. mellifera adansonii* dans un tronc d'arbre au sein de la concession de Precious Woods.

8.2.2 Étude de la prévalence d'*Aethina tumida* dans les colonies d'*Apis mellifera adansonii*

Cinquante-neuf cavités, 33 à Kougouleu et 26 au sein de la concession forestière de Precious Woods, abritant une colonie d'*A. mellifera adansonii* ont été ouvertes durant la saison pluvieuse qui s'étend d'octobre à décembre, 2013 et 2014. Ces colonies ont fait l'objet d'une recherche minutieuse de la présence d'*A. tumida*. Au vu de la configuration variable des cavités (Figure 2), de la difficulté à capturer la totalité des coléoptères observés, il a été décidé de travailler en termes de présence/absence du coléoptère dans les colonies. Deux coléoptères par colonie infestée ont été capturés et conservés dans l'éthanol 70°. Les rayons ont fait l'objet également d'observations afin de rechercher la présence de larve d'*A. tumida* ou les dégâts occasionnés par celles-ci. Les colonies ont soit fait l'objet de transfert dans les ruches, soit elles ont été laissées en l'état. Dans ce dernier cas les ouvrières ont récupéré les réserves avant que les colonies désertent les cavités ouvertes pour coloniser de nouvelles cavités.

8.2.3 Étude de la prévalence d'*Aethina tumida* dans les colonies de *Meliponula bocandei*

L'étude de la prévalence d'*A. tumida* dans les colonies sauvages de *M. bocandei* a été réalisée dans la concession forestière de Precious Woods Gabon durant la période d'octobre à décembre des années 2013 et 2014. Vingt-cinq cavités abritant une colonie de *M. bocandei* ont été ouvertes. Une fois la cavité ouverte, les pots de pollen et de miel ainsi que le couvain ont été séparés et isolés. La cavité ouverte a été inspectée durant 5 minutes. En effet, au-delà de cette durée d'observation, la cavité ouverte attire de nombreux coléoptères *A. tumida* et cela occasionne des faux positifs. La recherche d'*A. tumida* aux stades adulte et larvaire a été menée sur le couvain, les pots de pollen et de miel. Comme dans le cas d'*A. mellifera adansonii*, les données ont été enregistrées en termes de présence/absence. Les colonies ont été transférées dans des ruches.

8.2.4 Impact d'*Aethina tumida* sur le transfert des colonies de *Meliponula bocandei* dans les ruches

A la suite des inspections des nids de *M. bocandei*, 24 colonies non infectées par *A. tumida* ont été transférées dans des ruches selon les recommandations de Kwapong *et al.* (2010). D'une part, le couvain des nids sélectionnés a été isolé dans un récipient, et d'autre part les abeilles ont été capturées à l'aide d'un aspirateur à main. Le couvain et les abeilles ont été par la suite déposés dans le compartiment à couvain de la ruche conçue suivant un plan de l'Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA) avec quelques modifications (Figure 3). Ainsi, les dimensions intérieures du plan d'origine de 20 x 20 cm par compartiment ont été augmentées à

45 x 45 cm au vu de la taille des colonies dans les cavités naturelles (Figure 3). Les ruches ont été fermées hermétiquement à l'aide d'un ruban adhésif, afin de s'assurer qu'aucun parasite ne puisse pénétrer dans les ruches avant leur transport au sein du rucher. Les trous d'entrée des ruches ont été fermés suivant qu'elles ont été mises en quarantaine ou non.

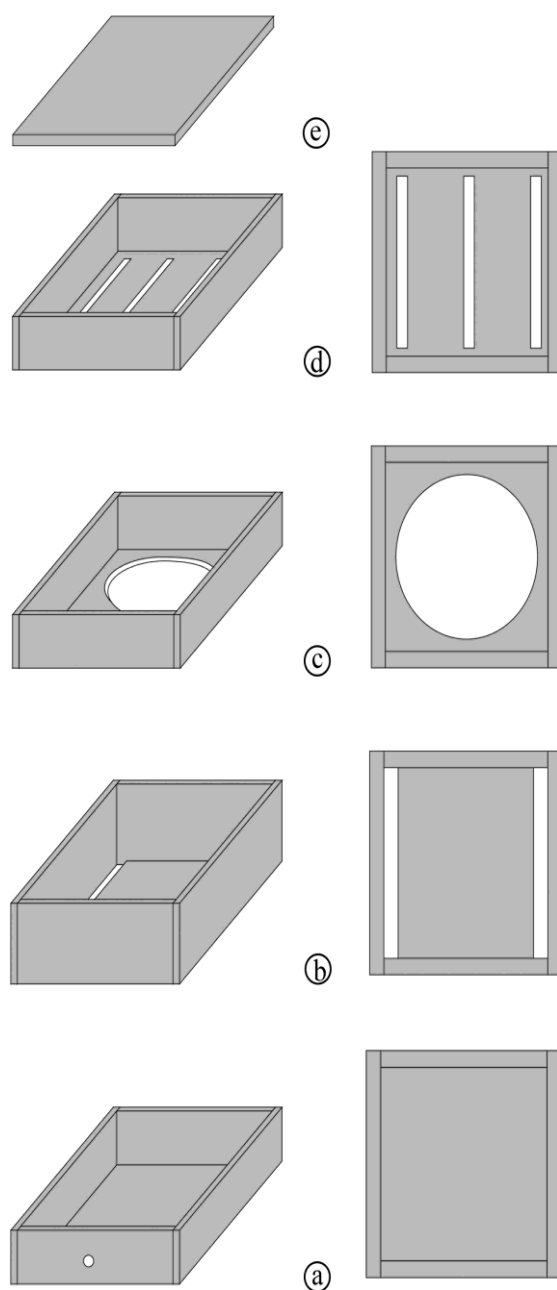


Figure 3. Ruche modifiée de l'Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA). À gauche une vue en perspective et à droite une vue de dessous des compartiments : a premier compartiment avec un trou d'entrée (45 x 45 x 5 cm) ; b compartiment à couvain (45 x 45 x 12 cm) avec deux ouvertures à la base (40 x 1 cm) ; c compartiment extension du couvain (45 x 45 x 4 cm) avec une ouverture de 35 cm de diamètre à la base ; d compartiment pour pot de

pollen et miel (45 x 45 x 7 cm) avec trois ouvertures à la base (40 x 2 cm) ; e toit de la ruche. Les dimensions des compartiments correspondent aux dimensions intérieures.

Ainsi, deux couches de ruban adhésif ont été appliquées sur le trou d'entrée de 12 ruches, et des trous ont été réalisés sur le ruban à l'aide d'une épingle afin que l'air puisse entrer dans lesdites ruches. Ces ruches ont été isolées dans une pièce pendant 3 jours afin de permettre aux abeilles de s'acclimater dans ces ruches et de commencer à rebâtir le nid à l'abri de toute intervention externe. Puis les ruches ont été déposées au sein du rucher expérimental localisé à proximité du village de Bambidie (0°43'58.94" S, 12°58'6.24" E). Une couche d'un mélange de cire et de propolis a été appliquée sur le trou d'entrée des 12 autres ruches, afin d'empêcher l'entrée des parasites la nuit du dépôt dans les ruches. En effet, les observations de l'infestation des ruches ont été réalisées le lendemain de la mise en place des ruches au sein du rucher. Ces dernières ont été placées dans le rucher expérimental durant la soirée qui a suivi le transfert. Toutes les ruches ont été déposées dans une fosse à eau (45 x 45 x 15 cm) afin d'éviter l'attaque d'éventuels ennemis rampants tels que les fourmis. Une solution sucrée a été déposée dans le compartiment réservé à la construction des pots de pollen et de miel de la ruche (Figures 3 et 4).

Le lendemain de la mise en place d'une ruche dans le rucher, le trou d'entrée de celle-ci a été débarrassé de la cire ou du ruban adhésif appliqué précédemment par les abeilles. La présence d'*A. tumida* aux stades adultes et larvaires a été enregistrée durant trois semaines, de même que la présence de dégâts occasionnés par les larves. La présence de pollen ou de résine sur les pattes des ouvrières lors du retour dans la ruche a été considérée comme un transfert réussi.

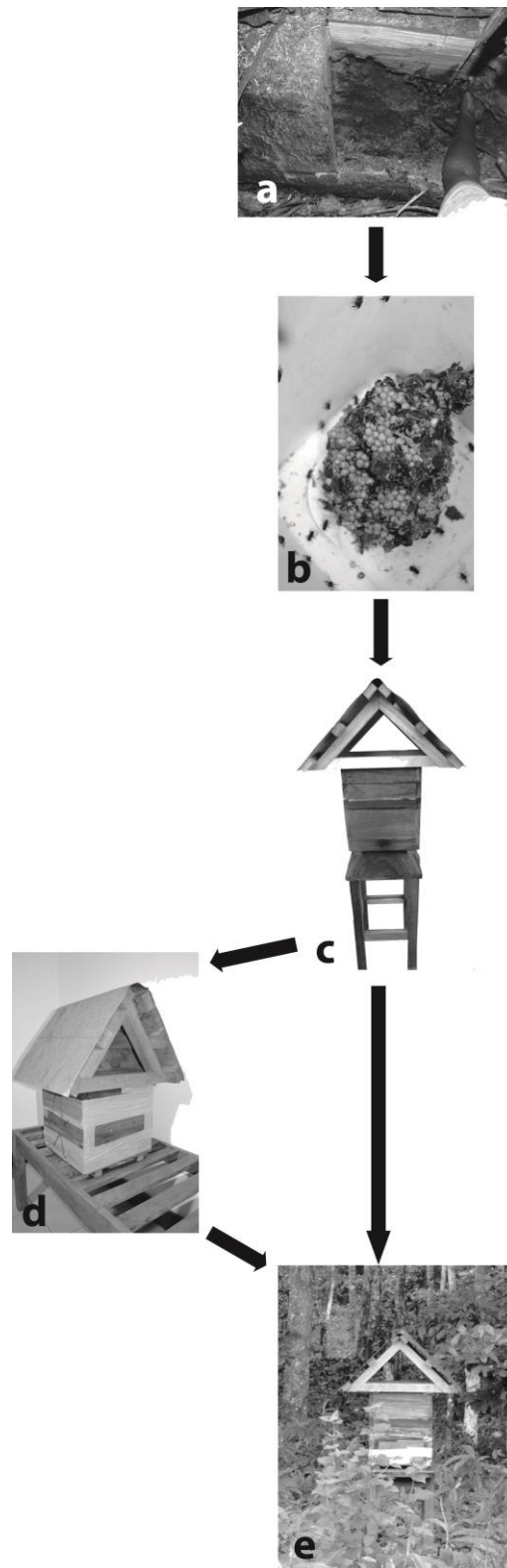


Figure 4. Schéma de transfert de colonies sauvages de *M. bocandei* dans une ruche : a ouverture de la cavité ; b Isolement du couvain et des abeilles ; c Installation du couvain et des abeilles dans la ruche ; d mise en quarantaine ou non de la ruche dans une salle fermée ; e installation de la ruche mise en quarantaine ou non dans le rucher.

8.2.5 Analyse des données

Les pourcentages des colonies d'*A. mellifera adansonii* et de *M. bocandei* infestées par *A. tumida* ont été calculés et analysés à l'aide du logiciel R 3.2.3. La présence d'*A. tumida* a été modélisée en fonction des localités et des nids sauvages d'*A. mellifera adansonii* étudiés et en fonction des espèces (*A. mellifera adansonii* et *M. bocandei*) et des nids étudiés au sein de la concession forestière de PW à l'aide de plusieurs Modèles Linéaires Généralisés Mixtes (GLMM, Tableau 1). Les données étant exprimées en termes de présence/absence (0/1), la loi binomiale a été utilisée pour réaliser les différents modèles.

L'absence de surdispersion des résidus des modèles de même que l'ajustement des modèles aux données ont été vérifiés à l'aide du package RVAideMemoire 0.9-53 (Hervé, 2016). Des tests Chi2 ont été réalisés après ces vérifications pour comparer le modèle avec et sans facteur fixe. Ces tests ont été effectués afin de tester si le facteur fixe avait un effet significatif sur la modélisation de la variable présence et par conséquent un effet sur la présence d'*A. tumida* dans les colonies inspectées.

Les données de présence/absence d'*A. tumida* ont été enregistrées en fonction de la mise ou non en quarantaine de la ruche lors du transfert des colonies sauvages de *M. bocandei* (R Core Team, 2015).

Tableau 1: Modèle Linéaire Généralisé Mixte de la présence d'*A. tumida*.

Variable réponse	Facteur fixe	Modèle	
Présence d' <i>A. tumida</i> chez <i>A. mellifera adansonii</i>	Localité	Modèle 1	GLMM (Présence ~ Localité + (1 Nid), loi=binomiale)
		Modèle 2	GLMM (Présence ~ 1 + (1 Nid), loi=binomiale)
Présence d' <i>A. tumida</i> dans la concession forestière PW	Espèce	Modèle 3	GLMM (Présence ~ Espèce + (1 Nid), loi=binomiale)
		Modèle 4	GLMM (Présence ~ 1+(1 Nid), loi=binomiale)

8.3 Résultats

8.3.1 Prévalence d'*Aethina tumida* dans les colonies sauvages

Les pourcentages de colonies sauvages d'*A. mellifera adansonii* infestées par *A. tumida* ont été supérieurs à 70 % et ne dépendent pas du facteur localité ($\chi^2 = 0.714$, $df = 1$, $p\text{-value} = 0.398$, Figure 5). Aucune larve d'*A. tumida* n'a été observée durant l'étude dans les colonies d'*A. mellifera adansonii* infestées par ce parasite. Concernant la présence d'*A. tumida* dans les colonies de *M. bocandei* au sein de la concession forestière de Precious Woods, seule une colonie sur 25 a présenté des traces de dégradation liées à ce parasite. Dans cette colonie, *A. tumida* a été observé aux stades adulte et larvaire, de même que les dégâts occasionnés par les larves dans le couvain et les pots de pollen ont été observés. Ainsi, la présence du coléoptère dans les colonies sauvages dans la concession forestière de PW est significativement plus importante chez *A. mellifera adansonii* par rapport à *M. bocandei* ($\chi^2 = 54.649$, $df = 1$, $p\text{-value} < 0.001$).

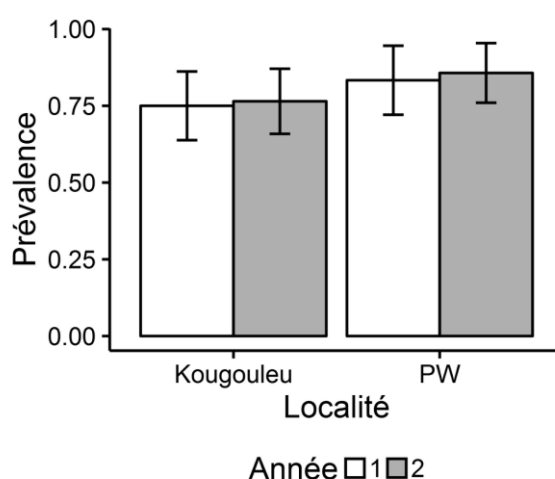


Figure 5. Prévalence d'*A. tumida* dans les colonies sauvages d'*A. mellifera adansonii*. PW = concession forestière de Precious Woods. La prévalence est exprimée en proportion avec erreur standard.

8.3.2 Prévalence d'*A. tumida* lors du transfert dans les ruches de *M. bocandei*

A la suite du transfert des colonies de *M. bocandei* dans les ruches, *A. tumida* a été observé dans plus de 60 % des ruches quel que soit la mise ou non en quarantaine (Figure 6, $p\text{-value} = 0.640$). Les colonies infestées ont été entièrement détruites par les larves d'*A. tumida* (Figure 7). Sur les quatre ruches non parasitées et mises en quarantaine, seuls trois transferts ont abouti à un

succès. Les deux ruches n'ayant pas été mises en quarantaine et non parasitées ont été toutes désertées.

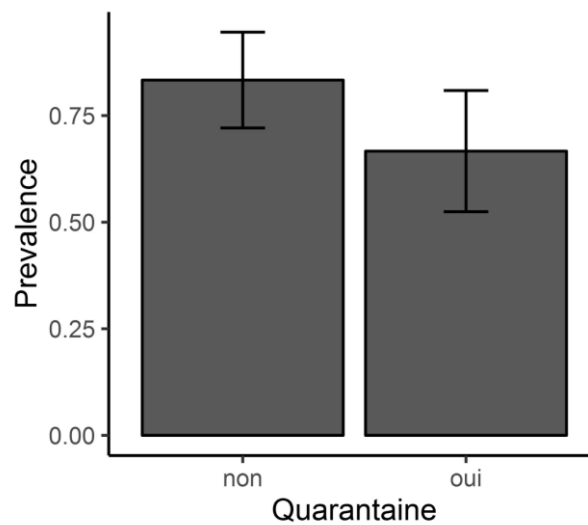


Figure 6: Prévalence d'*A. tumida* dans les ruches après transfert de colonies sauvages de *M. bocandei* dans la concession forestière de Precious Woods. La prévalence est exprimée en proportion avec erreur standard.

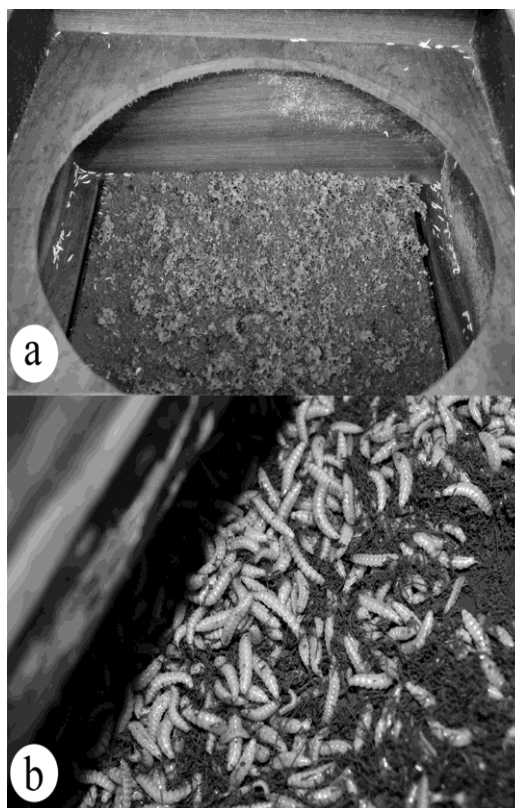


Figure 7: a Colonie de *M. bocandei* entièrement détruite par des larves d'*A. tumida* ; b larves d'*A. tumida*.

8.4 Discussion

L'observation des cavités naturelles abritant des colonies sauvages d'*A. mellifera adansonii* et de *M. bocandei* a permis de mettre en évidence la présence d'*A. tumida* au Gabon. Cette observation est en accord avec le caractère endémique d'*A. tumida* en Afrique subsaharienne (Ellis & Hepburn, 2006). De plus, le climat tropical humide du Gabon permet à ce coléoptère de trouver les conditions favorables à son développement. En effet, des températures supérieures à 25 °C, l'humidité relative de l'air supérieure à 34 % et des sols humides correspondent à des conditions favorables au cycle de développement d'*A. tumida* (De Guzman & Frake, 2007 ; Annand, 2011 ; Meikle & Patt, 2011). L'absence de larves et de dégâts dans les colonies sauvages permet d'émettre l'hypothèse que comme d'autres sous espèces africaines, *A. mellifera adansonii* a développé des mécanismes efficaces de lutte contre ce coléoptère des ruches au Gabon. Aussi, la mise en place de l'apiculture au Gabon doit s'accompagner de certaines mesures afin d'éviter qu'*A. tumida* ne constitue un problème : maintenir d'importantes colonies dans les ruches qui pourront confiner *A. tumida* ; la réduction du trou d'entrée afin de permettre aux gardiennes de mieux repousser le parasite lors de ses tentatives d'intrusion dans la ruche. En cas de présence importante, un piégeage à l'intérieur de la ruche permettra de réduire la population d'*A. tumida* et de réduire également le risque de désertion de la ruche par *A. mellifera adansonii*. Ce piégeage peut être réalisé à l'aide des pièges du commerce ou en disposant un morceau de carton ondulé d'environ 10 cm de côté dans la ruche. Ces dispositifs permettent pour le premier de capturer les parasites adultes et le second de capturer les parasites adultes et de retirer les oeufs pondus dans le carton.

Au vu de la très faible présence d'*A. tumida* dans les colonies, *M. bocandei* aurait développé également des mécanismes de défense contre ce parasite. En effet, des mécanismes de défense ont été observés chez d'autres espèces de Meliponini. Ainsi, en Australie, *Austroplebeia australis* (Friese 1898) jette hors du nid les oeufs et les larves d'*A. tumida*, tandis que les adultes sont soit rejetés soit ensevelis dans de la résine (Halcroft *et al.*, 2011). Une autre méthode de défense contre les intrus observée chez les Meliponini est la fermeture ou la réduction de l'entrée du nid avec de la résine durant la nuit (Roubik, 2006). Ainsi, l'étude des méthodes de lutte mises en place par *M. bocandei* contre les parasites, particulièrement contre *A. tumida*, permettra de mieux appréhender les relations entre cette espèce et le petit coléoptère des ruches.

Le transfert du couvain et des abeilles *M. bocandei* dans les ruches n'a pas permis de réduire significativement le taux d'infestation des ruches par *A. tumida*. La mise en quarantaine reste

également peu efficace. Ces résultats contrastent avec les recommandations de Kwapong *et al.* (2010) sur le transfert de *M. bocandei* dans les ruches. Toutefois, ces opérations nécessitent d'être reconduits en prenant en compte les facteurs saison et taille des colonies, afin d'évaluer l'effet de ces derniers sur l'efficacité de telles opérations. Aussi, il est nécessaire d'étudier l'occupation d'une nouvelle cavité par des colonies sauvages de *M. bocandei* et l'adapter pour coloniser des ruches et mettre en place un élevage de cette espèce au Gabon. En effet, l'essaimage chez les Meliponini est différent de celui d'*A. mellifera*. Dans un premier temps, les ouvrières de Meliponini choisissent une nouvelle cavité, puis amènent des matériaux et des ressources alimentaires (pollen et miel) pour aménager la nouvelle cavité avant que la reine ne l'occupe (Oliveira *et al.*, 2013). On peut supposer que cette période est mise à profit par les ouvrières pour sécuriser la nouvelle cavité contre d'éventuels parasites. Une meilleure connaissance de la durée de ce processus et des mécanismes de lutte contre *A. tumida* permettront d'adapter au mieux une durée de quarantaine afin de donner aux ouvrières de *M. bocandei* le temps et les matériaux nécessaires (cire, propolis et résines) pour sécuriser au mieux la ruche après le transfert.

Bibliographie

- Annand N., 2011. *Small Hive Beetle Biology: Providing control options*. Australian Government Rural Industries Research and Development Corporation. 58 p., <https://rirdc.infoservices.com.au/downloads/11-044>, (20/05/2016).
- Bates D., Mächler M., Bolker B. & Walker S., 2015. Fitting linear mixed-effects models using lme4. *Journal of Statistical Software*, **67**(1), 1-48.
- De Guzman L.I. & Frake A.M., 2007. Temperature affects *Aethina tumida* (Coleoptera: Nitidulidae) development. *Journal of Apicultural Research*, **46**, 88–93.
- Dietemann V., Pirk C.W.W. & Crewe R., 2009. Is there a need for conservation of honeybees in Africa? *Apidologie*, **40**(3), 285-295.
- Drouineau S. & Robert N., 1999. L'aménagement forestier au Gabon historique, bilan, perspectives, <http://forafri.cirad.fr/ressources/forafri/08.pdf>, (12/11/2011).
- Eardley C. & Kwapong P., 2013. Taxonomy as a Tool for Conservation of African Stingless Bees and Their Honey. In: Vita P., Pedro S. & Roubik D.W. (ed.), *Pot-honey: a legacy of stingless bees*, 261-268. Springer, New York.

- Ellis J.D., 2005. Reviewing the confinement of small hive beetles (*Aethina tumida*) by western honey bees (*Apis mellifera*). *Bee World*, **86**(4), 88-101.
- Ellis J.D. & Hepburn H.R., 2006. An ecological digest of the small hive beetle (*Aethina tumida*), a symbiont in honey bee colonies (*Apis mellifera*). *Insectes Sociaux*, **53**, 8-19.
- Fabre Anguilet E.C. *et al.*, 2015. Meliponini and Apini in Africa (Apidae: Apinae): a review on the challenges and stakes bound to their diversity and their distribution. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, **19**(4), 382-391.
- Giangaspero M. & Turno P., 2015. *Aethina tumida*, an Exotic Parasite of Bees. *Clinical Microbiology*, **4**(5), e128.
- Halcroft M., Spooner-Hart R. & Neumann P., 2011. Behavioral defense strategies of the stingless bee, *Austroplebeia australis*, against the small hive beetle, *Aethina tumida*. *Insectes Sociaux*, **58**, 245- 253.
- Hayes A.R., Rice S.J., Amos B.A. & Leemon D.M., 2015. Increased attractiveness of honeybee hive product volatiles to adult small hive beetle, *Aethina tumida*, resulting from small hive beetle larval infestation. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **155**, 240-248.
- Hervé M., 2016. RVAideMemoire: Diverse Basic Statistical and Graphical Functions. R package version 0.9-53, <https://CRAN.R-project.org/package=RVAideMemoire>, (05/04/2016).
- Hood W.M.M., 2004. The small hive beetle, *Aethina tumida*: a review. *Bee World*, **85**(3), 51-59.
- Kwapong P., Aidoo K. & Combey R., 2010. *Stingless Bees – Importance, Management and Utilization: A Training Manual for Stingless Beekeeping*. Unimax Macmillan Ltd, Accra, 72 p.
- Meikle W.G. & Patt J.M., 2011. The effects of temperature, diet, and other factors on development, survivorship, and oviposition of *Aethina tumida* (Coleoptera: Nitidulidae). *Journal of Economic Entomology*, **104**, 753-63.
- Mutsaers M., 2006. Beekeepers' observations on the small hive beetle (*Aethina tumida*) and other pests in bee colonies in West and East Africa. In: Veselý V. & Tišira D. (Eds.), *Proceedings of the Second European Conference of Apidology EurBee*, Prague Czech

- Republic, p. 44. <http://www.eurbee.org/Files/Sbornik%20EurBee%20pro%20web250107.pdf>, (18 mai 2016).
- Neumann P. & Elzen P.J., 2004. The biology of the small hive beetle (*Aethina tumida*, Coleoptera: Nitidulidae): Gaps in our knowledge of an invasive species. *Apidologie*, **35**(3), 229-247.
- Neumann P. & Ellis J.D., 2008. The small hive beetle (*Aethina tumida* Murray, Coleoptera: Nitidulidae): distribution, biology and control of an invasive species. *Journal of Apicultural Research and Bee World*, **47**(3), 181-183.
- Neumann P., Pettis J.S. & Schäfer M.O., 2016. Quo vadis *Aethina tumida*? Biology and control of small hive beetles. *Apidologie*, 1-40.
- Ngama S. *et al.*, 2016. How Bees Deter Elephants: Beehive Trials with Forest Elephants (*Loxodonta africana cyclotis*) in Gabon. *PLoS ONE*, **11**(5), e0155690.
- Nkoba K., 2012. *Distribution, behavioural biology, rearing and pollination efficiency of five stingless bee species (apidae: meliponinae) in Kakamega forest, Kenya*. Thesis in Agricultural Entomology in the School of Pure and Applied Sciences of Kenyatta University, Kenya, 237 p.
- Oliveira R.C., Menezes C., Soares A.E.E. & Fonseca V.L.I., 2013. Trap-nests for stingless bees (Hymenoptera, Meliponini), *Apidologie*, **44**(1), 29- 37.
- R Core Team, 2015. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, <https://www.R-project.org/>, (05/04/2016).
- Rhodes J. & McCorkell B., 2007. Small Hive Beetle *Aethina tumida* in New South Wales Apiaries 2002- 6: survey results 2006. New South Wales Department of Primary Industry, 1-32, http://www.dpi.nsw.gov.au/__data/assets/pdf_file/0_005/167378/Small-Hive-Beetle-Aethina-tumida-in-New-South-Wales-Apiaries-2002-6-Survey-Results-2006.pdf, (19/05/2016).
- Roubik D.W., 2006. Stingless bee nesting biology. *Apidologie*, **37**(2), 124-143.
- Torto B. *et al.*, 2007. Composition of volatiles from fermenting pollen dough and attractiveness to the small hive beetle *Aethina tumida*. a parasite of the honeybee *Apis mellifera*. *Apidologie*, **38**(4), 380- 389.

CINQUIEME PARTIE : CONCLUSIONS GENERALES ET PERSPECTIVES

Chapitre 9 Conclusions générales et perspectives

Ce chapitre constitue une synthèse des travaux réalisés afin de répondre aux objectifs fixés dans le cadre du premier chapitre de ce manuscrit de thèse. Enfin, des perspectives à ce travail sont également abordées afin de donner diverses orientations quant à la poursuite de travaux en lien avec le présent travail sur les pollinisateurs au Gabon.

La présente thèse est partie des faits selon lesquels la diversité des abeilles hautement eusociales, Apini et Meliponini, varie en fonction du type d'habitat et de l'impact des activités humaines, de même que des menaces liées à leur habitat et des pathologies existaient dans le Monde. Ces abeilles présentent un intérêt pour la pollinisation des plantes à fleurs et de nombreuses populations tirent profit de leurs produits à travers de nombreux pays en Afrique (Kuhlmann 2009 ; Bradbear, 2010; Ollerton *et al.*, 2011). Aussi, le présent travail se veut être une contribution à la compréhension de la communauté d'espèces d'abeilles hautement eusociales dans un contexte africain en général et gabonais en particulier marqué par le peu d'études consacrées à ces abeilles et la prédation des nids par les populations rurales (Fabre Anguilet *et al.*, 2015). Plus concrètement, le présent travail visait à apporter un éclairage sur :

- Les relations entre diversités spécifiques et composition d'espèces des abeilles Apini et Meliponini et le niveau de perturbation de l'habitat forestier en lien avec les activités humaines ;
- Les facteurs qui influencent la densité des nids des abeilles sociales étudiées et particulièrement celle d'*Apis mellifera* ;
- La prévalence de parasites importants des abeilles étudiées dans le monde.

Dans un premier temps, l'étude a réalisé un état des connaissances sur les Apini et Meliponini en Afrique et au Gabon en particulier. Cette étude a permis de réaliser une synthèse bibliographique sur la taxonomie et la composition des espèces d'abeilles dites hautement eusociales en Afrique et au Gabon. Il ressort pour l'essentiel que la communauté des abeilles étudiée montre une diversité d'espèces au Gabon importante à l'échelle africaine et une distribution d'un grand nombre d'espèces sur l'ensemble du territoire. Les travaux de Brosi *et al.* (2009) montrent que l'habitat forestier est l'habitat préférentiel des Meliponini. Le fait que Gabon appartienne au massif forestier du Bassin du Congo et dispose de 78% de son territoire couvert par la forêt pourrait expliquer en partie la forte diversité spécifique à l'échelle africaine observée dans ce pays (Drouineau, 1999).

L'étude a contribué à établir la composition d'espèces dans trois localités ayant un historique d'activités humaines différentes. Au vu de l'historique de ces localités, l'étude a montré que l'exploitation forestière sélective n'affecte pas en termes de diversité spécifique la communauté d'espèces d'abeilles étudiées, mais la perte d'habitat forestier liée à la combinaison exploitation forestière, route, accroissement de la population et pratiques agricoles occasionne une forte diminution de la richesse et de la composition d'espèces. En effet, la localité de Kougouleu

étant située sur un axe routier principal au Gabon, elle est facilement accessible aux populations, particulièrement celles de Libreville. De Wachter (1997) estime que lorsque la densité de population atteint une valeur de 30 à 40 habitants au km², le système agricole basé sur la pratique de la jachère ne permet pas un retour de la forêt, ce qui conduit à une dégradation de l'habitat forestier. À l'échelle de la province de l'Estuaire, la densité de population est de 43,2 habitants au km² (Direction Générale de la Statistique, 2015). Cette valeur atteint la limite de densité de population proposée par De Wachter (1997). La faible densité de la population dans la région du parc national de la Lopé (1 habitant au km²) et au sein de la concession de forestière de Precious Woods (2 habitants au km²), couplée au faible taux de déforestation due à l'exploitation forestière au Gabon (0,34% entre 1990 et 2000 ; 0,09% entre 2000 et 2010 selon Wasseige *et al.*, 2014) expliquerait le faible impact des pressions anthropiques liées à l'exploitation forestière et l'agriculture dans ces deux régions et par conséquent la plus grande diversité spécifique des abeilles étudiées dans lesdites régions. Cette étude présente également l'intérêt de faire l'état de la communauté d'espèces et de pouvoir la mettre en perspective avec les résultats de l'inventaire de Pauly (1998) obtenus il y a 30 ans environ. Ainsi, il a été possible d'observer une diminution du nombre d'espèces de Meliponini dans la localité de Kougouleu de l'ordre de 50% par rapport aux données de Pauly (1998). Les espèces concernées par cette disparition telles que *M. erythra*, *M. togoensis* et *M. lendliana* ont pu être identifiées. Cette diminution peut être liée à la perte d'habitat forestier consécutif à la pression de l'agriculture dans la localité de Kougouleu. La méthodologie de capture des abeilles a mis en avant le peu d'efficacité des bacs jaunes et elle n'a permis de procéder à la collecte des abeilles au niveau de la canopée. Toutefois, nous pourrions considérer que l'absence de collecte au niveau de la canopée n'affecte pas nos conclusions au niveau de la localité de Kougouleu au sein de laquelle la végétation est essentiellement constituée de cultures vivrières et d'arbres fruitiers.

L'étude a contribué à déterminer la densité de nids, particulièrement celle d'*Apis mellifera* dans un habitat perturbé et dans un habitat forestier. Au vu des résultats, la présence de cours d'eau aurait un effet significatif sur la présence de nids. De même que les limites liées à la détection des nids durant un inventaire basé sur l'observation visuelle des nids ont été clairement établies. En effet, en milieu forestier la hauteur des arbres peut constituer un obstacle à l'observation des nids. À ce propos, Kadjobe et Roubik (2006) estiment qu'au-delà de 7m il devient difficile d'observer les nids des Meliponini. L'étude apporte une information complémentaire sur les facteurs ayant une influence sur la présence de nid et par conséquent sur la densité de nids. En effet, l'impact de la distance du nid au cours d'eau le plus proche est une information

complémentaire à celles apportées par Eltz *et al.* (2002), Kadjobé et Roubik (2006), Tonyle et Kwapong (2015). Ces auteurs évoquent l'effet de la disponibilité des ressources alimentaires, la disponibilité des cavités pour l'établissement des colonies d'abeilles et la prédation des nids. Le fait que les variables anthropiques choisies (distance à la route et distance au village le plus proche) n'aient pas montré un effet significatif, serait dû soit à la faible densité de population dans la concession forestière de Precious Woods, soit au comportement d'essaimage et de désertion des cavités prononcées chez *A. mellifera adansonii*.

En ce qui concerne les parasites importants que l'on retrouve chez les abeilles Apini et Meliponi, l'étude a mis en évidence clairement pour la première fois la présence de deux parasites importants que sont le varroa et le petit coléoptère des ruches au Gabon, ainsi que leur taux d'infestation qui reste faible dans les colonies sauvages. Toutefois, le petit coléoptère des ruches constitue une menace majeure à la domestication de l'abeille *M. bocandei* comme l'a fait observer Nkoba (2012).

L'altitude est un facteur environnemental utilisé pour l'étude de la communauté d'espèces d'abeilles. En effet, les résultats obtenus par Hoiss *et al.* (2012) semble montrer que l'altitude constitue un facteur qui influence la communauté d'espèces. Ce facteur a été pris en compte tout au long de nos travaux. Si aucun effet significatif de l'altitude n'a été observé, il est difficile de conclure que ce facteur n'intervient pas dans la diversité spécifique d'abeilles au Gabon. En effet, les différences d'altitudes prélevées au sein des localités et entre localités n'étaient pas importantes pour pouvoir percevoir l'effet de l'altitude.

Le Gabon est un pays d'Afrique centrale avec une faible densité de population et dans lequel l'exploitation des ressources naturelles, notamment l'exploitation forestière occupe une place importante en termes d'occupation de superficie. L'étude a contribué non seulement à répondre à un besoin d'information sur la diversité et la composition d'espèces des abeilles étudiées, mais également à donner un aperçu de son évolution suivant les modifications de l'habitat forestier et les activités humaines. Les résultats de cette étude pourront constituer une base dans la mise en place d'une stratégie de préservation des communautés d'espèces d'abeilles Apini et Meliponini au Gabon, mais aussi dans le cadre d'une domestication de celles-ci. En effet, les informations sur les densités de nids sauvages contribueront à l'amélioration des stratégies d'implantation et de vulgarisation de l'élevage d'abeilles à miel principalement. Ainsi des erreurs comme la disposition de dizaines de ruches dans l'espoir de les voir occupées par les colonies sauvages pourront être évitées. En fonction des objectifs, le nombre de ruches pourra

être ajusté et le recours à la multiplication des colonies adopté afin de limiter les échecs déjà rencontrés.

Le présent travail permet d'envisager des perspectives à court et moyen terme. Au sujet de la taxonomie des Meliponini, l'étude a fait ressortir la nécessité de poursuivre la clarification de cette dernière (confère chapitre 2 et Annexe 1). En effet, l'identification des espèces est un élément clé de l'étude de la diversité spécifique. Les espèces des genres *Hypotrigona* et *Liotrigona* qui présentent de nombreuses similitudes sur le plan morphologique. L'étude recommande de poursuivre l'identification à l'aide d'outils moléculaires tels que le barcoding préconisé par Parker *et al.* (2009).

En ce qui concerne l'étude des communautés d'espèces, il convient d'améliorer les outils et les méthodes d'investigation. Car la présente étude a mis en lumière les limites des méthodes d'investigation de la diversité et l'abondance de populations d'abeilles étudiées. Ainsi pour le piégeage il convient d'évaluer d'autres types de pièges et d'évaluer l'utilisation de produits attractifs dans les pièges afin d'améliorer leur efficacité. En effet les Apini et les Meliponini au Gabon sont attirés par la sueur humaine, les fèces d'animaux et les restes de repas (Pauly, 1998). Ce comportement peut être mis à profit pour élaborer des pièges attractifs sur base de produits volatils. L'observation de nids ayant montré ses limites dans le cadre de l'évaluation de la densité des nids dans le milieu forestier il convient de songer à d'autres méthodes d'investigation de l'abondance de nids. Les analyses moléculaires comme proposées par Jaffe *et al.* (2009) peuvent constituer une alternative intéressante, mais il faudra au préalable établir le lien entre diversité génétique observée et densité de nids. Avec les avancées technologiques, il serait intéressant d'évaluer la possibilité de détecter les sons émis par les colonies à l'aide d'outils d'écoute performants.

Même si l'exploitation forestière ne semble pas avoir d'impact sur la diversité d'abeilles Apini et Meliponini, il convient d'étudier l'impact de cette activité sur le comportement de nidification et les ressources alimentaires. Enfin sur le plan des menaces parasitaires et de la domestication, il convient de faire une enquête sur l'ensemble des menaces parasitaires et autres. De même que l'étude des moyens de lutte contre le petit coléoptère des ruches est nécessaire dans le cadre de la domestication.

Références bibliographique

- Bradbear N. 2010. Le rôle des abeilles dans le développement rural. Rome : FAO, <http://www.fao.org/docrep/013/i0842f/i0842f00.pdf>, (12/11/2011)..
- De Wachter P., 1997. Économie et impact de l'agriculture itinérante Badjoué (sud-Cameroun). *Civilisations*, 44 :62-93.
- Dietemann V., Pirk C. W. W., Crewe R. 2009. Is there a need for conservation of honeybees in Africa? *Apidologie*, 40 (3) : 285–295.
- Direction Générale de la Statistique 2015. Résultats globaux du Recensement Général de la Population et des Logements de 2013 du Gabon (RGPL-2013). Libreville. 195 pp. Available at <http://www.mays-mouissi.com/wp-content/uploads/2016/07/Recensement-general-de-la-population-et-des-logements-de-2013-RGPL.pdf>
- Drouineau S. & Robert N., 1999. L'aménagement forestier au Gabon historique, bilan, perspectives, <http://forafri.cirad.fr/ressources/forafri/08.pdf>, (12/11/2011).
- Kuhlmann M. 2009. Patterns of diversity, endemism and distribution of bees (Insecta: Hymenoptera: Anthophila) in southern Africa. *South African Journal of Botany*, 75, 726–738.
- Ollerton J., Winfree R. & Tarrant S. 2011. How many flowering plants are pollinated by animals? *Oikos*, 120(321), 321-326

Annexe 1

Stingless bees (Hymenoptera: Apoidea: Meliponini) from Gabon

Adapted from **FABRE ANGUILET Edgard Cédric**, ALABI Taofic, NGUYEN Bach Kim, NDONG BENGONE Toussaint, HAUBRUGE Éric, FRANCIS Frédéric.

In Pot-Pollen in Stingless Bee Melittology, Springer. (Accepted).

Abstract

We present an overview of the diversity, distribution, nesting behaviour, traditional knowledge and use of stingless bees in Gabon, Central Africa. A total of 16 species were recorded and grouped into five genera: *Cleptotrigona*, *Dactylurina*, *Meliponula*, *Hypotrigona* and *Liotrigona*. The species identification of *Hypotrigona* and *Liotrigona* based on morphological characteristics remains difficult. The distribution of stingless bees is poorly documented in Gabon. However, several species have been reported to have wide distributions. Stingless bees build exposed nests or nests in tree cavities, in the ground or in termite mounds and anthills. The inhabitants of Gabon hunt honey to support traditional medicine. Future research should focus on investigating how human activities impact the diversity of stingless bees in Gabon, along with assessing the threats and constraints of implementing a breeding program for stingless bees.

Keywords: taxonomy • diversity • distribution • nesting behavior.

Annexe 2

Tableau I.- Nombre de types polliniques identifiés

Types polliniques identifiés	A	H	A et H	A ou H
Miel (M)	23	4	2	29
Pollens de réserve (P)	12	11	6	29
M et P	6	1	2	9
M ou P	29	14	6	49

A = *Apis mellifica adansonii*,

H = *Hypotrigona sp.*

Tableau II.- Répartition des types polliniques identifiés dans les différentes formes de réserves alimentaires

TAXONS	A		H	
	M	P	M	P
Caesalpiniaceae <i>griffonia physocarpa</i>	+			
Compositae <i>vernonia sp</i>	+	+		+
Euphorbiaceae <i>Bridelia cf atroviridis</i>	+			
<i>Croton oligandrus</i>		+	+	+
<i>Drypetes gossweileri</i>		+		
<i>Macaranga monandra</i>	+	+		
<i>Margaritaria discoidea</i>			+	
<i>Manihot esculenta</i>	+	+		
Melastomaceae <i>Dissotis multiflora</i>	+			
<i>Dichostemma glaucescens</i>	+			
Mimosaceae <i>Pentaclethra eetveldeana</i>			+	+
Moraceae <i>Musanga cecropioides</i>	+	+		
Palmae <i>Elaeis guineensis</i>	+	+		+
Pandaceae <i>Panda oleosa</i>			+	+
Passifloraceae <i>Adenia sp</i>	+	+		+
<i>Barteria fistulosa</i>	+			

A : *Apis mellifica adansonii*,

H = *Hypotrigona sp.*

+ : indique la présence du pollen dans M ou P.