

Effet de l'infection par la microsporidie Nosema Ceranae sur la régulation de la température par l'abeille domestique

Marie-Paule Lofe, M. Saudreau, Samuel Guyot, David Georges Biron

▶ **To cite this version:**

Marie-Paule Lofe, M. Saudreau, Samuel Guyot, David Georges Biron. Effet de l'infection par la microsporidie Nosema Ceranae sur la régulation de la température par l'abeille domestique. 2ème Journées de la recherche apicole, Feb 2014, Paris, France. ITSAP, pp.19, 2014. hal-01268585

HAL Id: hal-01268585
https://hal.science/hal-01268585

Submitted on 3 Jun 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



2e JOURNÉES DE LA RECHERCHE APICOLE

Mercredi 5 et jeudi 6 février 2014

RÉSUMÉS DES INTERVENTIONS



Sous le haut patronage de

Liberté • Égalité • Fraternité
RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

MINISTÈRE
DE L'AGRICULTURE
DE L'AGROALIMENTAIRE
ET DE LA FORÊT

FranceAgriMer

ITSAP
INSTITUT DE L'ABEILLE

Résumés des interventions
et posters scientifiques

2e JOURNÉES DE LA RECHERCHE APICOLE

les 5 et 6 février 2014
MAS, 10 rue des Terres au Curé
75013 Paris

ITSAP
INSTITUT DE L'ABEILLE

Ce colloque est organisé par l'ITSAP-Institut de l'abeille, en partenariat avec FranceAgriMer et sous le haut patronage du ministère de l'Agriculture, de l'Agroalimentaire et de la Forêt.

PRÉSENTATION DES INTERVENTIONS

Mini-cerveau et méga-performances : ce que nous apprend le cerveau d'une abeille p.5
Martin GIURFA, Centre de recherches sur la cognition animale (CRCA) de Toulouse

Synthèse de l'offre en analyse des laboratoires par type d'analyse et par matrice p.6
Cécile FERRUS, ITSAP-Institut de l'abeille

Mise au point d'outils analytiques pour la recherche et la quantification de pesticides et leurs métabolites, dans l'abeille et deux produits de la ruche : la cire et le pain d'abeille p.7
Audrey BULETÉ, CNRS Vernaison

Étude de la dégradation des pesticides chez l'abeille en vue d'établir des diagnostics d'intoxication. Devenir et action des substances seules et associées p.8
Luc BELZUNCES, INRA Avignon – UMT PrADE

Effets des interactions toxicopathologiques sur la qualité du sperme, la fécondité et la durée de vie des reines chez l'abeille p.9
Jean-Luc BRUNET, INRA Avignon – UMT PrADE

Agents infectieux et qualité physiologiques et reproductrices des reines : identification de marqueurs sanitaires et physiologiques, indicateurs de la qualité de la reproduction p.10
Bertille PROVOST, SupAgro Montpellier

ECOBEE : un dispositif d'observation des abeilles en milieu ouvert p.11
Pierrick AUPINEL, INRA Le Magneraud

Nouvelles technologies d'enregistrement automatique des comportements pour mesurer les effets non intentionnels du thiaméthoxam chez l'abeille domestique - TECHBEE p.12
Axel DECOURTYE, ACTA, ITSAP-Institut de l'abeille – UMT PrADE

Quantification des conditions environnementales, populationnelles et sanitaires, favorables aux ruchers pour pallier l'affaiblissement des ruchers sur lavande par le suivi de l'observatoire p.13
André KRETZSCHMAR, INRA Avignon – UMT PrADE

Système de recensement des pertes de colonies en Suisse et axes de recherches actuels du Centre de recherche apicole p.14
Jean-Daniel CHARRIÈRE, Agroscope, Liebefeld – Berne (Suisse)

Diversité pollinique et défenses sanitaire des abeilles p.15
Dominique FORTINI, INRA Le Magneraud

Influence de l'alimentation pollinique sur la santé de l'abeille domestique et sur sa résistance à un stress biotique, *Nosema ceranae*. p.16
Garance DI PASQUALE, ACTA – UMT PrADE

Étude des molécules effectrices de l'immunité anti-varroa chez l'abeille et élaboration d'un complément alimentaire immunoprotecteur p.17
Angélique VÉTILLARD, Univ. J.-F. Champollion

PRÉSENTATION DES POSTERS SCIENTIFIQUES

Effet de l'infection par la microsporidie *Nosema ceranae* sur la régulation de la température par l'abeille domestique p.19
David BIRON, UMR CNRS/Univ. Blaise Pascal

Nouvelles méthodes très sensibles pour l'analyse de pesticides (nicotinoïdes, pyrethrinoïdes et pyrazoles) dans le miel p.20
Jean-Marc BONMATIN, CNRS Orléans

Analyse spatio-temporelle des virus associés aux colonies d'abeilles p.21
Marianne COULON, UMR CNRS/Univ. Blaise Pascal

Influence de la température sur les charges virales d'abeilles infectées p.22
Anne DALMON, INRA Avignon – UMT PrADE

Une toxine issue du monde marin pour lutter contre *Varroa* p.23
Fabienne DULIN, Univ. De Caen

Le rôle des réseaux de laboratoires et du laboratoire national de référence dans le diagnostic des maladies de l'abeille p.24
Stéphanie FRANCO, Anses Sophia Antipolis

Influence de l'infestation *Varroa* sur la pression virale chez l'abeille domestique : exemple de la dynamique de progression du parasite sur un nouveau territoire p.25
Fanny MONDET, INRA Avignon – UMT PrADE

La réponse du peptidome de l'abeille domestique *Apis mellifera*, lors d'une cinétique d'infection par la microsporidie *Nosema ceranae* p.26
Catherine TEXIER, UMR CNRS/Univ. Blaise Pascal

Comparaison de traitements à base d'acide formique contre *Varroa* dans plusieurs régions de France p.27
Julien VALLON, ITSAP-Institut de l'abeille – UMT PrADE

Les facteurs menaçant la survie des colonies d'abeilles en Algérie p.28
Noureddine ADJLANE, Univ. de Boumerdes – Algérie

RésApi, un réseau prototype de ruchers ateliers pour comprendre les pertes hivernales de colonies : résultats préliminaires de la campagne 2012-2013 p.29
Constance BERI, ITSAP-Institut de l'abeille – UMT PrADE

La validation des méthodes de diagnostic moléculaire, passeport indispensable pour la standardisation et l'harmonisation des techniques PCR pour la détection des principaux agents pathogènes de l'abeille p.30
Eric DUBOIS, Anses Sophia Antipolis

Résistance de *Varroa destructor* à l'Apistan© et au Bayvarol© en Algérie p.31
Salima KOUMAD, ENSA Alger

Dénombrement des varroas phorétiques : méthode, indice, enjeux p.32
Alban MAISONNASSE, ADAPI – UMT PrADE

Analyses biochimiques en vue d'évaluer la qualité des miels p.33
Lalatiana RAKOTOZAFY, Laboratoire Industries Agroalimentaires

Rôle des cultures oléagineuses dans l'alimentation des abeilles en zones de grandes cultures p.34
Orianne ROLLIN, ITSAP-Institut de l'abeille – UMT PrADE

Un nouveau protocole pour étudier les effets des pesticides sur le butinage chez l'abeille : les effets non létaux de la pymétrozine p.35
Michel SOKOLOWSKI, Univ. de Picardie

Mini-cerveau et méga-performances : ce que nous apprend le cerveau d'une abeille

Martin GIURFA

Centre de recherches sur la cognition animale (CRCA) de Toulouse
CNRS - Université Paul Sabatier - Toulouse III - UMR 5169
118 Route de Narbonne, 31062 Toulouse cedex 9, France

Le cerveau d'une abeille contient à peine 960 000 neurones et son volume atteint seulement 1 mm^3. Cependant, il est à la base de capacités comportementales remarquables basées sur la présence de phénomènes d'apprentissage et mémorisation dont les mécanismes essentiels ne diffèrent pas considérablement de ceux des vertébrés. Nous montrons que des apprentissages d'ordre supérieur qui jusqu'à présent étaient considérés comme le patrimoine de certains vertébrés (catégorisation, apprentissage de règles, etc.) peuvent être maîtrisés par ces insectes. Nous tirons avantage de l'accessibilité du mini cerveau de l'abeille et de la possibilité d'étudier des réseaux spécifiques de neurones par des techniques invasives comme l'imagerie calcique, l'électrophysiologie et la neuropharmacologie, entre autres, afin de dévoiler les mécanismes sous-jacents à ces performances cognitives. Nous montrons qu'il est possible d'identifier les neurones et réseaux neuronaux qui sous-tendent des apprentissages d'ordre supérieur, et de comprendre comment le cerveau d'une abeille apprend sur le monde qui l'entoure. Nous combinons ainsi des études de neurosciences et de comportement afin de comprendre les phénomènes de l'apprentissage et la mémoire à partir du cerveau miniature d'une abeille qui excelle dans ces capacités.

Synthèse de l'offre en analyse des laboratoires par type d'analyse et par matrice

Cécile FERRUS

ITSAP-Institut de l'abeille,
149 rue de Bercy, 75595 Paris cedex 12, France

Afin d'aider la filière à comprendre les problèmes sanitaires des colonies d'abeilles rencontrés par la profession apicole mais aussi d'aider à la caractérisation des produits de la ruche, l'ITSAP-Institut de l'abeille a réalisé, en 2011, une étude sur l'offre en analyses des laboratoires sur les matrices apicoles et les produits de la ruche, auprès d'un maximum de laboratoires français et des pays limitrophes (Allemagne, Belgique, Italie, Suisse), via des questionnaires identiques.

Cette étude a permis de mieux connaître les laboratoires et leurs offres en analyses et a donné lieu à la création d'une base de données regroupant plus de cinquante laboratoires, référencés en fonction des analyses qu'ils pratiquent sur les matrices apicoles (miel, gelée royale, pollen, abeilles, couvain, pain d'abeilles, cire, etc.).

Cette base de données des laboratoires d'analyses, mise en accès libre sur le site internet de l'ITSAP-Institut de l'abeille depuis début 2012, référence les prestations analytiques des laboratoires sur la caractérisation des produits de la ruche (analyses physico-chimiques, sensorielles, microbiologiques, palynologiques et analyses de mise en évidence de pratiques d'adultération du miel), la recherche d'agents pathogènes et de parasites, la recherche de résidus (produits vétérinaires, antibiotiques, pesticides, métaux lourds, hydrocarbures aromatiques polycycliques, etc.) ainsi que les analyses relatives aux organismes génétiquement modifiés.

Cet annuaire destiné à tous les acteurs de la filière apicole (apiculteurs, structures de développement de l'apiculture, chercheurs, vétérinaires, etc.) a pour but de faciliter la connaissance de l'offre proposée par les laboratoires en termes d'analyses sur les matrices apicoles, concernant les analyses indispensables à la filière apicole.

Cette base de données comprend trois entrées pour accéder aux informations :

- La rubrique « *Annuaire* » permet de consulter les coordonnées de chaque laboratoire ainsi que son offre détaillée en analyses.
- La rubrique « *Recherche d'analyse* » permet de faire des recherches par type d'analyse pour comparer l'offre des différents laboratoires proposant cette analyse.
- La rubrique « *Liste des analyses* » permet de visualiser l'ensemble des analyses réalisables sur les matrices apicoles.

Les informations consultables sur la base de données sont données à titre indicatif et se basent sur les informations transmises par les laboratoires à l'Institut. La liste des laboratoires référencés dans cet annuaire n'est pas exhaustive.

Ce travail a permis de faire un état des lieux sur l'offre en analyses sur les matrices apicoles proposées par les laboratoires. Une mise à jour des données sera effectuée régulièrement. Aussi, en 2014, une mise à jour générale de l'offre en analyses proposées par les différents laboratoires référencées dans l'annuaire sera faite.

D'autre part, une autre étude a été menée fin 2012 auprès des laboratoires pour mieux connaître, par type d'analyse, ce que chaque laboratoire préconise concernant les échantillons (modalités de prélèvement, de conditionnement, de stockage, d'envoi des échantillons, etc.). Ce travail a mis en évidence une grande hétérogénéité entre les préconisations des laboratoires pour certaines analyses.

Annuaire en accès libre sur http://www.itsap.asso.fr rubrique « *Laboratoires* ».

Mise au point d'outils analytiques pour la recherche et la quantification de pesticides et leurs métabolites, dans l'abeille et deux produits de la ruche : la cire et le pain d'abeille

Claire JABOT, Emmanuelle VULLIET, Barbara GIROUD, Antoine VAUCHEZ, Maëva FIEU, Laure WIEST, Audrey BULETÉ

Université de Lyon, Institut des Sciences Analytiques,
Service Central d'Analyse, UMR 5280 CNRS,
Université Lyon1, ENS-Lyon, 5 rue de la Doua, Villeurbanne, France

Le but de ce projet de recherche est de mettre au point et de valider des méthodes d'analyses innovantes permettant la détection de deux familles de pesticides (néonicotinoïdes et pyréthrinoïdes) ainsi que certains de leurs métabolites à des seuils de sensibilité permettant d'atteindre des niveaux sublétaux pour l'abeille (inférieurs au ng/g).

Pour ce faire, l'optimisation de nombreux paramètres à toutes les étapes de l'analyse est nécessaire : préparation des échantillons (extraction de type QuEChERS), séparation par Chromatographie Liquide Ultra Haute Performance (UHPLC) et détection par Spectrométrie de Masse en tandem (MS/MS). L'acquisition d'un spectromètre de masse à analyseur triple quadripôle de dernière génération est une des ressources nécessaires à la réussite de ce projet.

Les matrices étudiées sont non seulement les abeilles mais également le pain d'abeille et la cire qui sont deux produits de la ruche encore peu étudiés et susceptibles d'accumuler des résidus ou des métabolites de produits phytosanitaires.

Lors de l'étude *« Abeille témoin de la pollution de l'environnement »* (programme 2007-2010, ONIRIS Nantes), le Service Central d'Analyse a mis au point et validé une analyse multi-résidus sur une liste de 80 produits phytosanitaires dans le miel, les abeilles et le pollen. Les limites de quantification obtenues étaient alors de quelques dizaines de ng/g (Wiest et *al*, 2011).

En 2011, le Service Central d'Analyse a répondu à un nouveau Programme européen initié par le ministère de l'Agriculture. L'objectif est alors de se focaliser sur une douzaine de molécules de deux familles chimiques : les néonicotinoïdes et certains de leurs métabolites et les pyréthrinoïdes, deux familles suspectées d'avoir des actions neurotoxiques sur les abeilles à des doses sublétales, c'est-à-dire inférieures au ng/g. Pour autant, ces effets sublétaux peuvent avoir les mêmes conséquences qu'une dépopulation des ruches en cas de désorientation des abeilles et ne doivent pas être négligés. C'est pourquoi il est nécessaire de mettre au point une méthode d'analyse performante afin de permettre d'établir des diagnostics d'intoxication par le suivi de pesticides mais aussi de leurs métabolites.

Pour compléter l'étude, l'analyse sera mise au point non seulement dans l'abeille mais aussi le pain d'abeille et la cire, matrices susceptibles d'accumuler ces toxiques et qui sont, dans de nombreux cas d'intoxication les seules disponibles. Atteindre de tels seuils de sensibilité est un véritable challenge analytique. De plus, les pyréthrinoïdes sont des composés classiquement analysés par couplage chromatographie gazeuse – spectrométrie de masse et non en chromatographie liquide, ce qui représente un axe d'innovation du projet.

Pour obtenir des seuils de sensibilité inférieurs au ng/g, la stratégie analytique mise en œuvre est la suivante :

- la préparation de l'échantillon en amont de l'analyse (extraction et purification) : étape primordiale permettant (i) d'extraire les composés d'intérêt (pesticides) des différentes matrices (pain d'abeille, cire, abeille) avec des rendements idéalement proches de 100 % et (ii) d'éliminer un maximum d'interférents présents dans la matrice qui pourraient gêner la détection de nos composés.
- la séparation des composés d'intérêt par l'utilisation de la Chromatographie liquide ultra haute performance (UHPLC). Cette technique séparative permet l'utilisation de colonnes de faible granulométrie qui génère des pics très fins via une très bonne résolution de ces derniers augmentant ainsi la sensibilité de la réponse.
- la détection des composés d'intérêt par l'utilisation de la spectrométrie de masse en tandem en mode MRM (*Multiple Reaction Monitring*), technique sélective et sensible.

Après optimisation, plusieurs paramètres (linéarité, limite de détection et de quantification, rendement, répétabilité…) ont été étudiés afin de valider la méthode.

Ensuite, grâce à une collaboration avec nos deux partenaires experts dans la profession (FNOSAD et ADARA), nous avons mis en œuvre cette nouvelle méthode afin d'analyser 60 échantillons réels de chaque matrice (abeille, pain d'abeille et cire) provenant de sept régions de France.

Étude de la dégradation des pesticides chez l'abeille en vue d'établir des diagnostics d'intoxication. Devenir et action des substances seules et associées

Yannick POQUET[1,2], Sylvie TCHAMITCHIAN[1,2], Jean-Luc BRUNET[1,2], Luc P. BELZUNCES[1,2]

[1]INRA, Laboratoire de Toxicologie Environnementale, UR 406 Abeilles et Environnement, CS 40509, Avignon, France
[2]UMT, Protection des Abeilles dans l'Environnement, CS 40509, Avignon, France

Les abeilles dans l'environnement peuvent être exposées à différents polluants, dont les pesticides. L'exposition aux pesticides peut se produire soit directement et de manière aiguë, dans la majorité des cas lors d'un traitement par pulvérisation, soit indirectement et de manière répétée, par contact avec des surfaces florales traitées ou par ingestion de pollen ou de nectar contaminé. Dans les deux cas d'exposition, des mortalités peuvent survenir, associées ou non à des effets sublétaux délétères. Aussi, il paraît important de rechercher la cause des mortalités observés, généralement par la quantification des pesticides présents dans les abeilles quand une intoxication par un ou plusieurs produits phytopharmaceutiques est suspectée. Cependant, en mode d'exposition répété, les méthodes analytiques ne permettent pas, dans la majorité des cas, de déceler le toxique pouvant être à l'origine de la mortalité à cause de la faiblesse des doses en jeu et des mécanismes de métabolisation des pesticides. L'attention a donc été portée sur la recherche des pesticides après intoxication aiguë en vue de diagnostiquer les causes de mortalité.

Afin d'établir un diagnostic d'intoxication fondé sur la présence de pesticides dans l'abeille, il est nécessaire de pouvoir estimer les doses reçues par les individus au moment de l'intoxication et de les comparer aux doses susceptibles d'induire une toxicité chez l'abeille. Pour cela, il est impératif de pouvoir déterminer la date présumée de l'intoxication et d'estimer la vitesse de dégradation des pesticides dans les abeilles. Il a donc été proposé d'étudier la vitesse de dégradation de pesticides chez l'abeille et de modéliser les cinétiques de dégradation de façon à pouvoir estimer la dose initiale reçue par l'abeille au moment de l'intoxication. Dans ce but, les abeilles sont soumises expérimentalement à des traitements insecticides par pulvérisation et suivies pour doser les résidus au cours du temps. Les résultats ont montré que les pesticides étaient rapidement dégradés chez les abeilles et qu'après 48 h, il était très difficile de quantifier des résidus de pesticides. Les cinétiques de biodégradation obtenues ont été modélisées et ont été testées pour retrouver les doses initiales. La modélisation montre qu'il est possible de retrouver la dose initiale même après 48 heures. Ces résultats ouvrent donc des perspectives d'amélioration des diagnostics d'intoxication des abeilles par les pesticides.

Remerciements :

Travaux financés en partie par FranceAgriMer (Convention 11-43R), l'INRA, la Fondation MACIF et Terre d'Abeilles.

Effets des interactions toxicopathologiques sur la qualité du sperme, la fécondité et la durée de vie des reines chez l'abeille

G. KAIRO, F. BEN ABDELKADER, M. BONNET, S. TCHAMITCHAN, M. COUSIN, A. BADIOU, J. SÉNÉCHAL, D. CRAUSER, J.-P. VERMANDERE, C. DUSSAUBAT, Y. LE CONTE, C. ALAUX, N. BARBOUCHE, L.-P. BELZUNCES, J.-L. BRUNET[1,2]

[1]INRA, Laboratoire de Toxicologie Environnementale, UR 406 Abeilles et Environnement, CS 40509, Avignon, France
[2]UMT, Protection des Abeilles dans l'Environnement, CS 40509, Avignon, France

Depuis plusieurs années, une diminution de la longévité des reines est relatée et s'inscrit dans un climat général de déclin des populations d'abeilles domestiques (*Apis mellifera*). La reine après plusieurs accouplements au début de sa vie, rythme le développement de la colonie par son activité de ponte et les phéromones qu'elle produit. Nous avons voulu vérifier l'hypothèse que la baisse de la longévité des reines pourrait être liée à une baisse de fécondité elle-même provoquée par une mauvaise qualité des semences des mâles. Dans cette optique, des études dont l'objectif était d'élever des mâles et de les contaminer avec différents stresseurs environnementaux ont été conduites en conditions de laboratoire et semi contrôlées. Pour la première fois, des faux-bourdons ont été élevés et contaminés de leur naissance à leur maturité sexuelle et la qualité de leur sperme a pu être analysée par différents épreuves d'exploration.

Parmi les stresseurs étudiés, deux insecticides la clothianidine, un néonicotinoïde, et le fipronil, un phénylpyrazole, en combinaison ou non avec un parasite intestinal *Nosema ceranae* ont causé des perturbations de la qualité du sperme avec, entre autre, des modifications physiologiques au niveau du liquide séminal et des spermatozoïdes tout en induisant également des modifications physiologiques chez les mâles. Ces résultats nous confortent dans notre hypothèse d'une baisse de la qualité du sperme par les insecticides et ouvrent de nouvelles perspectives de recherche, notamment en ce qui concerne les conséquences sur la longévité des reines. De plus, la mise au point unique de deux méthodes d'exposition des mâles aux pesticides en conditions de laboratoire et semi-contrôlées (sous tunnel) laissent entrevoir, pour la première fois chez l'abeille *Apis mellifera*, la mise au point d'un test de reprotoxicité.

Remerciements :

Travaux financés en partie par FranceAgriMer (FEAGA 11-42R), l'Agence Universitaire de la Francophonie, la Région PACA et le département de recherche Santé des plantes et environnement de l'INRA.

Agents infectieux et qualité physiologiques et reproductrices des reines : identification de marqueurs sanitaires et physiologiques, indicateurs de la qualité de la reproduction

Bertille PROVOST[1], Pauline BENET[1], Jean-Luc BRUNET[2], Yves LE CONTE[2], Marc-Edouard COLIN[1]

[1]Laboratoire de Pathovigilance et de Développement Apicole – Unité de Services, d'Analyses et d'Expertises – Montpellier SupAgro.
[2]UR INRA 406- Abeilles et Environnement – INRA Avignon

Les difficultés constatées dans les ruchers d'élevage et de production ainsi que les affaiblissements de colonies sont parfois attribuables à une diminution de la population d'ouvrières pouvant provenir d'une déficience de la reine. À ce jour, il est apparu un déficit de connaissances concernant la qualité des reines ; très peu de données sont disponibles concernant les agents infectieux et plus précisément leurs effets pathogènes sur la reine, et encore moins sur la physiologie de la reproduction.

L'objectif principal de ce travail, qui a bénéficié d'une subvention FEAGA dans le cadre de l'appel à projet Recherche 2011/2013, est donc d'acquérir une base de données concernant ces agents infectieux et les marqueurs physiologiques des reines satisfaisantes et des reines présentant des problèmes avérés de ponte.

Cette étude comparative a été réalisée sur des échantillons de grandes tailles (n = 30 reines environ) provenant d'exploitations apicoles capables de garantir l'homogénéité des reines et une traçabilité des souches et des conditions d'élevage. Des échantillons de reines performantes produites en début ou fin de saison apicole de l'année ont été prélevés, après avoir été jugées satisfaisantes par l'apiculteur en termes de ponte. Les échantillons ont été fournis par des sélectionneurs ou des multiplicateurs de reines adhérents aux Associations de développement de l'apiculture (ADA) ou à l'Association nationale des éleveurs de reines et des centres d'élevages apicoles (ANERCEA). L'étude a été complétée par des lots de reines provenant de ruchers ayant subi des mortalités brutales inexpliquées. Ces échantillons ont été récoltés par les acteurs des ADA locales auprès des apiculteurs touchés.

Après dissection et recensement des lésions anatomiques chez les reines, la présence et quantification de 12 agents infectieux a été réalisée par PCR quantitative (les huit virus principaux (ABPV, BQCV, CBPV, DWV, IAPV, KBV, SBV et VdV1), les bactéries responsables des loques (*Paenibacillus larvae et Melissococcus plutonius*) et les *Nosema* (*Nosema apis* et *N. ceranae*)) dans différents organes. Les marqueurs physiologiques de l'immunité (Phénoloxydase), de l'activité neurale et détoxication (Acetylcholinestérase, Carboxylestérases), du stress oxydatif et du métabolisme (GST, Catalase, Superoxyde dismutase et Phosphatase alcaline) ont été, pour la première fois, mesurés chez la reine. Ces analyses sont complétées par le dosage des phéromones royales et l'évaluation de la qualité (numération et détermination du pourcentage de spermatozoïdes vivants = viabilité) des spermatozoïdes contenus dans la spermathèque.

À ce jour, un certain nombre de différences se dégagent des lots de reines testés, qui pourront servir d'aide à la décision pour la gestion des élevages.

ECOBEE : un dispositif d'observation des abeilles en milieu ouvert

Vincent BRETAGNOLLE[1], Pierrick AUPINEL[2], Jean-François ODOUX[2], Mickaël HENRY[3,4]

[1]Centre d'Études Biologiques de Chizé, CNRS, 79360 Beauvoir-sur-Niort, France.
[2]INRA, UE 1255, Unité Expérimentale Entomologie, Le Magneraud, BP52, 17700 Surgères, France.
[3]INRA, UR 406 Abeilles et Environnement, Site Agroparc, 84914 Avignon, France.
[4]UMT PrADE, Avignon, France.

Avec une surface totale de près de la moitié de la superficie de notre pays, les agrosystèmes modernes convergent vers une intensification des systèmes de monoculture qui conduit à une forte homogénéisation des paysages et une réduction des espèces cultivées. Ces nouvelles pratiques agricoles se caractérisent également par une augmentation de l'usage des produits phytosanitaires et une diminution de la biodiversité.

Dans ce nouveau contexte, les apiculteurs ont dû adapter leurs pratiques. Une apiculture plus intensive s'est développée pour pallier aux pertes de colonies et à la baisse de production de miel. Ainsi les apiculteurs sont amenés à nourrir artificiellement leurs colonies, à remplacer leurs reines et à opérer des migrations saisonnières. Les causes de ces changements restent à ce jour mal connues. Aucun élément ne permet aujourd'hui de guider les apiculteurs dans le choix du site d'implantation de leur rucher, malgré la présence de cultures réputées mellifères. Cet état de fait n'a pas empêché l'apparition de problèmes récurrents qui se sont traduits par des baisses de production sur certains miels, tels que le miel de tournesol, sur ces 10 dernières années. Le maintien d'une activité apicole en grande culture qui assure également la pollinisation de certaines des plantes cultivées passe donc par une meilleure compréhension des interactions entre l'environnement et la dynamique des colonies d'abeilles. ECOBEE a été créé dans cet objectif, assurant un monitoring des colonies et une veille palynologique, il offre aux chercheurs un terrain expérimental idéal et original pour répondre à ces questions.

ECOBEE est composé de trois infrastructures complémentaires. La principale entité d'ECOBEE est constituée par le dispositif d'observation implanté sur la Zone Atelier Plaine et Val de Sèvre située au sud de la ville de Niort. Située dans une zone de monoculture intensive, composée de paysages relativement contrastés et faisant l'objet d'un suivi parcellaire par le CNRS depuis 19 ans, cette zone représente 45 000 ha et 19 000 parcelles.

Depuis 2008, cette zone a été découpée en 50 carrés de 10 km^2. Chaque année, 10 de ces carrés, choisis au hasard, accueillent 5 colonies dans leur centre, du mois de mars à la fin du mois d'octobre. Ces colonies font l'objet de mesures démographiques bimensuelles (couvain, population adulte, indice de mortalité) et portant sur l'évolution des réserves. Les pollens rapportés par les butineuses sont également échantillonnés à l'aide de trappes. Leur analyse permet de déterminer leur origine florale en fonction du temps et du site d'implantation des ruches. Ce dispositif est complété par un rucher d'environ 150 colonies, situé sur le site expérimental du Magneraud, qui sert à assurer l'élevage et l'approvisionnement en colonies de la Zone Atelier sur des programmes spécifiques. Il sert également de site de référence au sens environnemental dans la mesure où les suivis d'assolement et de floraison y sont assurés depuis une dizaine d'années dans un rayon de 3 km. Ils approvisionnent la base de données de botanique et palynologie en ligne APIBOTANICA.

La troisième entité qui compose ECOBEE est le laboratoire d'analyse palynologique de l'UE d'entomologie. Cette discipline assurée aujourd'hui par quelques spécialistes de plus en plus rares s'avère essentielle pour mesurer avec précision l'attrait qu'exercent différents végétaux qui composent les paysages sur les abeilles.

ECOBEE mobilise 10 agents permanents, dont deux chercheurs, trois ingénieurs et cinq techniciens répartis entre l'INRA du Magneraud, Avignon, et le CEBC qui se partagent la gouvernance du dispositif.

Après POLINOV (2010-12), les programmes utilisant le dispositif tels que DEPHY (Ecophyto 2012), TECHBEE (FEAGA), « *Mon village Espace de biodiversité* », RISQAPI (FEAGA) ou LISEA-Biodiversité traduisent un accroissement d'activités par rapport aux années passées, qui reflète l'intérêt croissant d'ECOBEE pour les partenaires externes.

Nouvelles technologies d'enregistrement automatique des comportements pour mesurer les effets non intentionnels du thiaméthoxam chez l'abeille domestique – TECHBEE

Axel DECOURTYE[1,2,7], Maxime BÉGUIN[2,3], Colette BERTRAND[2,4], Charlotte RÜGER[2,4], Julie PETIT[1,2], Alice FOURNIER[2,4], Fabrice REQUIER[5,6], Dominique FORTINI[5], Pierrick AUPINEL[5], Bernard VAISSIÈRE[2,4], Mickaël HENRY[2,4]

[1]Association de Coordination Technique Agricole, 228 route de l'Aérodrome, 84914 Avignon ;
[2]UMT Protection des Abeilles dans l'Environnement, Site Agroparc, 84914 Avignon ;
[3]Association pour le Développement de l'Apiculture Provençale, 13626 Aix-en-Provence ;
[4]INRA, UR406 Abeilles et Environnement, 84914 Avignon ;
[5]INRA, UE1255, UE Entomologie, 17700 Surgères ;
[6]Centre d'Études Biologiques de Chizé, CNRS (USC-INRA 1339), UPR1934, 79360 Beauvoir-sur-Niort
[7]ITSAP-Institut de l'abeille, 228 route de l'Aérodrome, 84914 Avignon.

Les partenaires de TECHBEE ont précédemment développés de nouvelles méthodologies pour enregistrer automatiquement l'activité de butinage des abeilles domestiques (puces RFID et vidéo-surveillance). Nous pouvons ainsi caractériser les traits comportementaux de l'individu évoluant librement, sur la totalité de sa plage d'activité quotidienne et sur l'ensemble de sa vie d'adulte. Ces aboutissements méthodologiques antérieurs ont été capitalisés en mesurant les effets de l'insecticide thiaméthoxam sur des composantes du butinage que sont le succès de retour à la ruche, les entrées et les sorties de la ruche, et les visites aux fleurs. Un large panel de modes d'exposition de l'abeille au produit a été testé en faisant varier les conditions d'application (en laboratoire, sous tunnel sur plante traitée), le stade de développement de l'abeille exposé (larve ou adulte), et la durée de l'exposition (ponctuelle ou prolongée). TECHBEE fût décliné en cinq volets :

1. Effets d'une exposition unique sur le vol de retour à la ruche des butineuses et la modulation de ses effets selon la dose, la distance, le paysage, les conditions météorologiques et la connaissance du site de relâché par les individus [1-4] ;
2. Effets d'une exposition unique sur les traits de vie de l'ouvrière en conditions réelles ;
3. Effets d'une exposition unique sur le butinage du colza et l'efficacité pollinisatrice ;
4. Effets d'une exposition répétée au stade larvaire sur les traits de vie de l'ouvrière adulte ;
5. Effets du colza traité Cruiser OSR® sur le vol de retour des butineuses.

Les résultats obtenus nous ont amené à porter un regard critique sur l'évaluation du risque des pesticides chez l'abeille lorsqu'il n'intègre pas les effets sublétaux, ni l'aggravation possible du danger par le contexte [5,6].

Remerciements :

Ce projet a été financé par le Programme européen pour l'apiculture (797/2004) coordonné par le ministère chargé de l'Agriculture (convention FranceAgriMer 11-45R).

Publications :

[1] Henry et aL. (2012a). A Common Pesticide Decreases Foraging Success and Survival in Honey Bees. Science, 336, 348-350. DOI: 10.1126/science.1215039.

[2] Henry et al. (2012b). Response to comment on "A common pesticide decreases foraging success and survival in honey bees". Science, 337, 1453, DOI: 10.1126/science.1224930.

[3] Henry M. (2013) Assessing homing failure in honeybees exposed to pesticides: Guez's (2013) criticism illustrates pitfalls and challenges. Frontiers in Physiology, 4:352. doi:10.3389/fphys.2013.00352

[4] Fournier et al. (sous presse). Crop Emptying Rate and the Design of Pesticide Risk Assessment Schemes in Honey Bee and Wild Bees (Hymenoptera: Apidae). Journal of Economic Entomology.

[5] Decourtye et al. (2013). Overhaul pesticide testing on bees. Nature, 497:188.

[6] Henry M., Decourtye A. (2013). Ecological relevance in honeybee pesticide risk assessment: developing context-dependent scenarios to manage uncertainty. Frontiers in Physiology, doi: 10.3389/fphys.2013.00062.

Quantification des conditions environnementales, populationnelles et sanitaires, favorables aux ruchers pour pallier l'affaiblissement des ruchers sur lavande par le suivi de l'observatoire

André KRETZSCHMAR, Alban MAISONNASSE

BioSP(INRA) - ADAPI
UMT Protection des Abeilles dans l'Environnement, Site Agroparc, 84914 Avignon

L'observatoire de la miellée sur lavandes se compose aujourd'hui de 530 ruches en production, reparties en 24 ruchers. Il s'étend sur trois régions : Drôme Provençale, Montagne de Lure et Plateau d'Albion et enfin, Plateau de Valensole (huit ruchers par région). Cet observatoire est en place depuis 2009 et sera étudié jusqu'en 2016.

L'activité de chaque colonie est mesurée par le suivi tous les deux jours du gain de poids ; cette dynamique temporelle est résumée en un processus logistique qui permet la comparaison des colonies entre elles.

Le modèle général décrivant les facteurs de la miellée est le suivant :

Activité ~ fonction (ressources + population + état sanitaire + variabilité naturelle)

Les facteurs décrivant cette fonction sont choisis pour leur qualité de quantification :

- la ressource est approchée par le parcellaire : lavandes et environnement agricole, la répartition spatiale des parcelles de lavandes et l'état des lavandes ;
- la population est approchée par une description de la structure de la colonie : réserves, couvain opercule, couvain ouvert, nombre d'abeilles (méthode ColEval développée par l'UMT) ;
- l'état sanitaire est décrit par la pression en varroas et par la charge virale ;
- une approche de l'état physiologique des colonies est développée pour rendre compte du coût physiologique de la miellée ;
- l'analyse de résidus dans les pollens et les profils palynologiques nous renseignent sur d'éventuels effets, sur les colonies, de l'environnement agronomique ou non.

L'objectif de ce suivi en observatoire sur une longue durée est de donner aux apiculteurs deux classes d'informations :

1. d'une part les critères permettant de juger de l'état dans lequel transhumer les colonies sur lavandes pour obtenir le meilleur résultat possible (mesures faites au moment où les colonies sont apportées sur la lavande) ;
2. d'autre part sur le coût global de la miellée sur l'état des colonies et les besoins d'intervention pour la préparation a la mise en hivernage.

Une modélisation globale permet de hiérarchiser les facteurs influençant la miellée sous conditions des variations climatiques d'une année sur l'autre ou d'une région à l'autre.

Système de recensement des pertes de colonies en Suisse et axes de recherches actuels du Centre de recherche apicole de Liebefeld

Jean-Daniel CHARRIÈRE

Centre de recherche apicole de Liebefeld, Agroscope, 3003 Berne, Suisse

L'apiculture suisse n'est pas épargnée par le phénomène des mortalités de colonies d'abeilles. C'est durant l'hiver 2002/2003 que sont apparues les premières pertes importantes et géographiquement étendues. En Suisse, les mortalités de colonies se concentrent durant la phase hivernale. Les pertes enregistrées avant la mise en hivernage sont plus sporadiques et généralement en lien avec des charges importantes en parasite *Varroa destructor*.

Les pertes hivernales étant récurrentes aussi bien en Europe qu'en Amérique du Nord, nous avons voulu disposer de données fiables sur les pertes effectives rencontrées sur le terrain afin de s'affranchir des données contradictoires circulant dans la presse. Un deuxièmement but était de disposer de données sur les pratiques apicoles afin de voir si elles étaient en relation avec les pertes.

Près de 95 % des apiculteurs suisses étant affiliés à une société apicole dépendant de l'association faîtière « *Apisuisse* », nous avons profité des structures associatives déjà établies pour mettre en place une enquête nationale sur les mortalités de colonies. Elle est menée depuis l'année 2007 sur un panel initial de près de 472 apiculteurs, nombre qui a grandi au fil des années et s'établi à plus de mille apiculteurs l'hiver passé, soit environ 6 % des apiculteurs suisses. Depuis l'hiver 2007/2008, le questionnaire correspond en grande partie au questionnaire établi par le groupe de travail COLOSS, adapté aux conditions suisses. Les apiculteurs inscrits dans le panel sont invités par courrier électronique courant avril à se rendre sur un site Internet pour répondre au questionnaire. Les résultats sont ensuite présentés dans la presse apicole au début de l'été. Le questionnaire a permis de disposer de chiffres fondés sur les pertes hivernales. Une relation simple entre les pratiques apicoles et les pertes hivernales n'a pas pu être établie.

Différents travaux de recherche ont été menés afin de mieux comprendre ce phénomène des pertes. Voici quelques-unes des pistes suivies :

- l'analyse a posteriori d'échantillons d'abeilles provenant de colonies ayant soit normalement hiverné, soit qui étaient fortement affaiblies à la sortie d'hivernage ou soit mortes durant l'hiver, révèle que les charges de deux virus (DWV, ABPV) sont liées à la qualité de l'hivernage ;
- différents travaux à paraître ont été réalisés sur les effets de certains insecticides sur l'abeille solitaire, le bourdon *Bombus terrestris* ainsi que l'abeille mellifère, notamment sur la quantité et la qualité des individus sexués ;
- un essai de terrain est également en cours pour appréhender l'effet positif ou négatif des cultures à floraison tardive suivant une culture traitée ou non avec un insecticide systémique ;
- notre groupe travaille aussi dans la recherche d'alternative à la lutte contre *Varroa*, étant persuadé que ce parasite joue un rôle centrale dans les pertes hivernales observés dans notre pays.

Diversité pollinique et défense sanitaire des abeilles

J.-F.ODOUX[1], D. FORTINI[1], D. FEUILLET[2], Y. LE CONTE[3], K. GERMAIN[2], C. MATEESCU[4], P. AUPINEL[1]

[1]INRA, UE 1255, Unité Expérimentale Entomologie, Le Magneraud, BP52, 17700 Surgères, France.
[2]INRA, UE 1206, Unité Expérimentale EASM, Le Magneraud, BP52, 17700 Surgères, France.
[3]INRA, UR 406 Abeilles et Environnement, Site Agroparc, 84914 Avignon, France.
[4]ICDA, Institut de Recherche et Développement pour l'Apiculture, Bucarest, Roumanie.

Les paysages agricoles ne fournissent pas une ressource pollinique régulière aux pollinisateurs. Le pollen est essentiel au développement des abeilles domestiques et représente leur seule source de lipides. Certains acides gras connus pour leur activité antibactérienne sont présents dans les composants lipidiques majoritaires de certains pollens. Nous faisons l'hypothèse que la diversité pollinique peut contribuer à la santé de l'abeille lorsque son régime alimentaire comporte des acides gras variés.

Notre étude a été conduite à partir de pollens récoltés par les abeilles en paysage agricole céréalier à différentes périodes de l'année. Nous avons réalisé des analyses palynologiques et physico-chimiques de ces échantillons multi-floraux. Certains pollens récoltés par les butineuses sur des cultures, des adventices ou des espèces ligneuses contenaient naturellement des teneurs élevées en C18:2n-6 et C18:3n-3. Afin d'être manipulables pour nos expérimentations, les extraits lipidiques ont ensuite été ajustés en fonction de leurs propriétés de solubilisation respectives.

Nous avons réalisé des antibiogrammes sur des cultures de *Paenibacillus larvae* en déposant des extraits lipidiques totaux ou fractionnés afin de sélectionner les échantillons candidats aux essais suivants. L'activité bactérienne des extraits a été mesurée par le diamètre d'inhibition en boîte de pétri. L'effet était supérieur en utilisant la fraction saponifiable, alors qu'au contraire la fraction insaponifiable l'inhibe. L'activité antimicrobienne était dépendante de la teneur et de la composition en acides gras des extraits testés.

Des extraits ont été testés au laboratoire dans l'alimentation d'abeilles adultes encagées en présence de Nosema, comparés à l'effet d'un acide gras de synthèse. Seul le C12:0 synthétique s'est révélé être efficace pour préserver les ouvrières contre les spores de Nosema dans ces conditions.

Des essais sur larves exposées à *Paenibacillus larvae* ont également été conduits au laboratoire, en incorporant des extraits lipidiques dans l'alimentation artificielle. Nous avons adapté la méthode d'élevage larvaire *in vitro* aux conditions particulières d'utilisation de ces extraits simultanée à une exposition aux pathogènes. Les mesures ont porté sur la toxicité des échantillons et leur activité protectrice. Nous n'avons pas pu mettre en évidence cette activité dans les conditions de nos essais.

En conclusion, la composition des extraits lipidiques est variable en fonction de l'origine florale et nous procure des informations sur le potentiel de protection sanitaire des pollens d'abeille, confirmé par les antibiogrammes. Cependant leur utilisation dans les bioessais sur adultes et larves ne semblent pas encore appropriée. Ces résultats ont démontré un rôle potentiel de protection dans la santé de l'abeille pour certains pollens et la flore de l'environnement doit être considérée afin de bénéficier des propriétés antimicrobiennes de certaines espèces.

Remerciements :

Ce projet a bénéficié du soutien de l'INRA SPE et MRI, du programme communautaire apicole FEAGA, du PHC Brancusi ainsi que de l'Ambassade de France en Roumanie. Nous remercions les équipes INRA du Magneraud et Avignon, ainsi que de l'ICDA pour la conduite de ces travaux.

Mots clés : Pollen, larve d'abeille, nourrices, acides gras, *Paenibacillus larvae, Nosema*

Influence de l'alimentation pollinique sur la santé de l'abeille domestique et sur sa résistance à un stress biotique, *Nosema ceranae*

Garance DI PASQUALE[1,2], Yves LE CONTE[1,3], Luc P. BELZUNCES[1,3], Axel DECOURTYE[1,2,4], Cédric ALAUX[1,3]

[1]UMT, Protection des Abeilles dans l'Environnement, CS 40509, Avignon, France,
[2]ACTA, Site Agroparc, Avignon, France,
[3]INRA, UR 406 Abeilles et Environnement, CS 40509, Avignon, France
[4]ITSAP-Institut de l'abeille, 228 route de l'Aérodrome, 84914 Avignon.

Le développement et la survie d'une colonie est intimement lié à la disponibilité des ressources florales, qui contiennent les éléments nutritifs nécessaires aux abeilles. Parmi ceux-ci, le pollen. Il s'agit de la principale source de protéines, de lipides et d'acides aminés essentiels dont va disposer l'abeille, et qui est indispensable à la croissance de la colonie mais aussi au développement physiologique des abeilles. Il a déjà été observé qu'en absence de pollen, les abeilles sont plus sensibles à des stress biotiques tels que les parasites. Mais les abeilles se retrouvent rarement en carence totale de pollen. En effet, elles vont plutôt être confrontées à des ressources polliniques dont l'abondance, le type, et la diversité sont très variables dans le temps et dans l'espace.

Cela peut provoquer un stress nutritif dont une des conséquences connues est une diminution de la population de la ruche. Nous pouvons également supposer des effets sur la physiologie et les traits de vie des individus. Puisque tous les pollens ne sont pas égaux en ce qui concerne leur composition et leur valeur nutritive, il est important de déterminer l'impact de la qualité et de la diversité de l'alimentation pollinique des abeilles sur leur santé et sur leur résistance à un parasite. *Nosema ceranae*, microsporidie causant notamment une diminution de la croissance des colonies, a été choisie dans cette étude pour sa forte prévalence dans les cheptels apicoles.

Les effets de (i) l'abondance, (ii) la qualité, (iii) et la diversité pollinique sur la santé de l'abeille ont donc été testés en conditions contrôlées. Pour cela, des abeilles naissantes ont reçues (i) différentes quantité d'un même pollen ou (ii) différents pollens monofloraux de qualités nutritionnelles variables, ou encore (iii) des pollens polyfloraux à la diversité variable.

Les variables observées ont été la physiologie des jeunes ouvrières nourrices (développement des glandes hypopharyngiennes et expression de la vitellogénine), la tolérance au stresseur *Nosema ceranae* (activité d'enzymes impliquées dans la santé et les mécanismes de défense des abeilles) et enfin la longévité.

Les résultats seront discutés d'après notre hypothèse posée selon laquelle la nature de l'alimentation pollinique influence les traits de vie des individus et leur capacité à amortir l'impact d'autres stresseurs que sont les bioagresseurs.

Remerciements :

Ce travail a été financé par le programme communautaire pour l'apiculture (FranceAgriMer), et par une bourse CIFRE (ANRT).

Publications :

Garance Di Pasquale, Marion Salignon, Yves Le Conte, Luc P. Belzunces, Axel Decourtye, André Kretzschmar, Séverine Suchail, Jean-Luc Brunet, Cédric Alaux (2013) Influence of pollen nutrition on honey bee health: Do pollen quality and diversity matter? PLoS One 8(8): e72016

http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0072016

Étude des molécules effectrices de l'immunité anti-*Varroa* chez l'abeille et élaboration d'un complément alimentaire immunoprotecteur

Angélique VÉTILLARD[1], Cyril VIDAU[1,3], Maria BOLT[2] et Jérémy TABART[1]

[1]Laboratoire Venins et Activités biologiques, EA 4357, PRES-Université de Toulouse, Centre Universitaire Jean François Champollion, Albi, France.
[2]Rucher Bolt, France.
[3]ITSAP-Institut de l'abeille, 228 route de l'Aérodrome, 84914 Avignon.

Plusieurs pays, dont la France, ont subi d'énormes pertes d'abeilles mellifères *Apis mellifera* ces dernières années. Cet effondrement des colonies repose sur une combinaison de plusieurs facteurs : pollution par les pesticides, bouleversement du milieu naturel mais également prolifération des parasites de l'abeille. Parmi les parasites mis en cause, l'acarien *Varroa destructor*, responsable de la varroose, a des effets désastreux sur la vitalité de la colonie puisque les larves infestées meurent ou deviennent des adultes malformés inaptes à la survie de la colonie.

Récemment, des souches d'abeilles résistantes à *V. destructor* sont apparues spontanément au sein des ruchers non traités contre la varroose. Certaines de ces souches ont développé des stratégies de détection et d'élimination du couvain infesté, mais il apparaît que ces stratégies n'expliquent pas à elles seules l'ensemble du phénomène de résistance à la varroose. Ainsi, la première étude menée au laboratoire a consisté à déterminer, sur des souches présentant des degrés d'hygiénicité et des taux d'infestations différents, si des facteurs de l'immunité sont impliqués dans le phénomène de résistance à *V. destructor.* Les résultats de ces travaux montrent notamment qu'au sein du rucher étudié, les abeilles composant les colonies les moins infestées possèdent une hémolymphe dotée d'une activité antibactérienne importante. L'immunocompétence de ces abeilles est également liée à une plus forte activité oxydante. Ces observations suggèrent une implication des facteurs de l'immunité individuelle dans le phénomène de résistance des abeilles à la varroose et ouvrent des perspectives d'étude des mécanismes moléculaires à l'origine de cette résistance.

Effet de l'infection par la microsporidie *Nosema ceranae* sur la régulation de la température par l'abeille domestique

Marie-Paule LOFE[1,2], Marc SAUDREAU[3,4], Samuel GUYOT[1,2], David G. BIRON[1,2]

[1]Clermont Université, Université Blaise Pascal, Laboratoire "Microorganismes: Génome et Environnement", BP 10448, 63000 Clermont-Ferrand, France.
[2]CNRS, UMR 6023,LMGE, F-63177 Aubière, France.
[3]Clermont Université, Université Blaise Pascal, UMR547 PIAF, 63039 Clermont-Ferrand, France.
[4]INRA, UMR0547 PIAF, 63100 Clermont-Ferrand, France

Objectif :

La possibilité de thermoréguler sa température corporelle s'avère être un avantage non négligeable pour un organisme. Ainsi, la fièvre (i.e. augmentation de la température corporelle) est un mécanisme utilisé par un hôte pour contrer une infection parasitaire. Ce mécanisme est peu étudié chez l'abeille domestique, *Apis mellifera sp.*, qui est un insecte de type « *hétérotherme* ». L'objectif de l'étude consistait à développer des méthodes pour déterminer si l'abeille domestique peut modifier sa température corporelle à la fois à l'échelle de l'individu et de la colonie lorsqu'elle est infectée par un parasite. Dans ce projet, nous avons utilisé comme espèce hôte, l'abeille domestique, et la microsporidie *Nosema ceranae*, un parasite intracellulaire obligatoire de l'abeille domestique. Ce parasite est responsable de la nosémose, et est considéré comme un des facteurs biotiques impliqués dans le déclin de l'abeille domestique observé en Amérique du Nord, en Europe et au Japon.

Méthodes :

Notre approche expérimentale a consisté à mettre au point des méthodes inédites pour mesurer la température corporelle des abeilles de manière non invasive à trois niveaux d'échelle d'une colonie (i.e. individu, cadre et colonie) et à tester à l'aide de ces méthodes l'induction de la fièvre chez l'abeille domestique suite à des infections expérimentales par *N. ceranae*. À l'échelle de l'individu, un dispositif comprenant une caméra thermique nous a permis de mesurer la température corporelle de l'abeille. Nous avons comparé des lots d'abeilles saines à des lots d'abeilles infectées en mesurant la température moyenne de leurs abdomens, thorax et de leurs têtes. Nous avons développé une méthode rapide et standardisée pour l'enregistrement d'images thermiques à l'échelle d'un cadre d'une ruche ayant du couvain operculé ou pas, et des abeilles sur celui-ci. À l'échelle 'colonie', des sondes de température ont été placées dans des ruches d'un rucher à Aubière (Puy-de-Dôme) pour étudier les variations de températures aux périphéries et au centre des ruches. La température de deux ruches (une avec faible population et l'autre avec une forte population) a été enregistrée toutes les heures pendant sept jours.

Résultats :

À l'échelle de l'individu, il a été possible de déceler un début de fièvre chez les abeilles infectées à 10 jours post-infection (jpi). Un essai réalisé à 15 jpi a confirmé l'expression de la fièvre : T_{thorax} ~ 36°C (abeilles infectées), T_{thorax} ~ 28°C (abeilles saines) et $T_{habitat}$ ~ 28°C (dispositif expérimental) par rapport à des abeilles saines. À l'échelle du cadre, le dispositif composé d'une planche de bois dotée de socle côté caméra et cadre a permis une analyse thermique rapide du couvain ainsi que des abeilles sur celui-ci. À l'échelle de la colonie, les sondes de température posées en périphérie et au centre ont permis de suivre la cinétique de la température au sein de deux ruches et de les comparer à la cinétique de l'air ambiant du rucher. Les résultats confirment d'une part que les cadres au centre d'une ruche (i.e. avec la reine et le couvain) sont maintenus à une température ~36°C quelle que soit la température ambiante du rucher alors que la température des cadres en périphérie des ruches est variable lorsque la population dans la ruche est faible.

Conclusions :

Nos résultats montrent à l'échelle de l'individu un impact de *N. ceranae* sur la température corporelle de l'abeille notamment à partir de 10 jpi. Nous avons développé une méthode pour mesurer à l'échelle d'un cadre les différents microclimats. Nos résultats suggèrent que la colonie d'une ruche maintient près du couvain une température de 36°C et que la taille de la colonie est un facteur limitant dans la capacité de thermorégulation en bordure d'une ruche.

Nouvelles méthodes très sensibles pour l'analyse de pesticides (nicotinoïdes, pyrethrinoïdes et pyrazoles) dans le miel

J.-M. BONMATIN[1], D. PARADIS[2], G. BÉRAIL[2], B. POIROT[3], L.P. BELZUNCES[4]

[1]CNRS, Centre de Biophysique Moléculaire, 45071 Orléans Cedex 02, France.
[2]LEAV, Rond-point Georges Duval, 85021 La Roche sur Yon Cedex, France.
[3]APINOV, Pôle technologique – 40 rue Chef de Baie, 17000 La Rochelle, France.
[4]INRA, Laboratoire de Toxicologie Environnementale, 84914 Avignon Cedex 9, France.

Les abeilles sont très sensibles aux pesticides et notamment aux insecticides. Elles jouent un rôle important pour la pollinisation. Certaines matières actives, qui sont pertinentes en agriculture, ont une très haute toxicité pour les pollinisateurs. De ce fait, des méthodes analytiques très sensibles (LOQ en dessous du ng/g) sont requises pour analyser ces insecticides dans le nectar et le miel, afin de déterminer l'exposition réelle des ruchers au cours du temps.

À partir d'un échantillon réel de 5 g , nous avons développé une méthode d'extraction unique (adaptée de QuEChERS), ensuite couplée à deux modes de séparation-détection (LC-MS/MS et GC-MS/MS). Ce protocole permet l'analyse en une seule préparation de 25 pesticides pertinents de la classe des nicotinoïdes, pyréthrinoïdes et pyrazoles. Ce protocole permet d'atteindre une LOQ de 0,2 ou 0,5 ng/g (selon les composés) avec des rendements toujours entre 80 et 130 % . Ce protocole a été pleinement validé pour ces 25 insecticides et testé sur 4 types de miels.

Notre protocole a été utilisé pour l'analyse d'échantillons de nectar et de miel, prélevés sur des sites réels et bien caractéristiques (3 sites et 3 ruches par rucher). Des exemples pourront illustrer la singularité/multiplicité de l'exposition réelle, ainsi que son caractère ponctuel/étendu dans le temps.

Ce protocole analytique est un nouvel outil validé et performant pour l'évaluation des risques en condition réelles. Il est également un outil de choix pour la caractérisation de la qualité des miels en matière de pesticides.

Analyse spatio-temporelle des virus associés aux colonies d'abeilles

Marianne COULON[1,2], Telesphore SIME-NGANDO[1,2], Jonathan COLOMBET[1,2],
Anne MONE[1,2], Philippe BLANCHARD[3],Catherine TEXIER[1,2], David G. BIRON[1,2]

[1]Clermont Université, Université Blaise Pascal, Laboratoire "Microorganismes: Génome et Environnement", BP 10448, 63000 Clermont-Ferrand, France.
[2]CNRS, UMR 6023, LMGE, 63177 Aubiere, France.
[3]ANSES, Laboratoire de Sophia-Antipolis, Unité de Pathologie, 105 route des Chappes, BP11, 06902 Sophia-Antipolis, France.

Objectif :

Plusieurs publications ont déjà traité des variations spatio-temporelles de virus affectant l'abeille domestique en Europe, notamment en Espagne, en Hongrie et en France. Cependant, elles ont soit concentré leurs recherches sur un seul virus, soit observé des variations spatiales à grande échelle (i.e. celle d'un pays), ce qui ne permet pas d'évaluer les fluctuations plus fines que l'on pourrait trouver à petite échelle, sur un territoire plus restreint avec des conditions climatiques spécifiques. La question à laquelle nous avons tenté de répondre est la suivante : quelle est la dynamique spatio-temporelle des virus associés à *Apis mellifera* à l'échelle d'un département ?

Méthodes :

Les six ruchers choisis pour cette expérimentation sont éloignés de quelques dizaines de kilomètres seulement, mis à part le rucher de Nantes, en Loire Atlantique, qui nous a servi de rucher référence à l'extérieur de la région étudiée. Ces ruchers sont répartis dans trois types de paysages différents : montagnard (Tourtoule, Les Jouffrets, Pigoil), urbain (Aubière, Nantes) et grandes cultures (Champeyroux). Les échantillons d'abeilles ont été récupérés dans trois ruches pour chaque rucher de mai 2012 à mai 2013. Deux compartiments des abeilles ont été analysés à l'aide de la technique RT-PCR : tête et intestin. Dans les études antérieures, les échantillons étaient constitués d'abeilles broyées toutes entières ; or, le fait de retrouver des virus dans des compartiments différents d'une même abeille peut renvoyer à un type d'infection différent (i.e. apparente ou inapparente). Les contrôles positifs et les séquences des amorces RT-PCR utilisées pour détecter des virus (ABPV, BQCV, CBPV, DWV, KBV, IAPV) associés au déclin de l'abeille domestique ont été ceux de P. BLANCHARD (Anses). En plus de l'approche moléculaire, nous avons également développé une approche exploratoire inédite et sans *a priori* pour étudier la diversité virale dans les tissus de l'abeille domestique : la cytométrie en flux couplée à la microscopie électronique à transmission (MET).

Résultats :

Tous les ruchers étaient infectés par au moins un virus. Le virus BQCV était omniprésent, retrouvé dans 100 % des échantillons de tube digestif. Le DWV était absent seulement du rucher Les Jouffrets. Les virus CBPV et KBV n'étaient pas présents. Les deux ruchers les moins infectés étaient Les Jouffrets (uniquement BQCV) et Tourtoule (BQCV et DWV), tandis que les plus infectés sont ceux de Champeyroux (ABPV, BQCV et DWV) et d'Aubère (ABPV, BQCV, DWV, IAPV). Nous avons constaté des multi-infections virales. Il y a eu beaucoup moins de résultats positifs dans les échantillons pour le compartiment de la tête; aucun n'était positif pour l'ABPV. Seul le rucher d'Aubière en Octobre pour le BQCV et en Août pour le DWV était positif à 100 %. Le rucher de Nantes présentait lui aussi une co-infection: 50 % des échantillons étaient infectés par le BQCV en septembre, et 50 % étaient infectés par le DWV en Juillet. Les autres ruchers ne présentaient des échantillons positifs que pour un seul virus, que ce soit le BQCV ou le DWV. Les concentrations en VLP (particules d'allure virale) obtenues dans l'intestin de l'abeille à l'aide du cytomètre en flux semblent suivre une dynamique saisonnière. Pour tous les ruchers, en juillet les moyennes des concentrations étaient uniformément faibles, en dessous ou autour de 1,5.108 VLP/mL d'échantillon. En août, tous les ruchers présentaient un pic, la plupart à une concentration légèrement plus élevée que 3,0.108 VLP/mL.

Conclusions :

Nous avons recherché la présence de six virus par RT-PCR, puis développé un protocole original pour l'observation des concentrations en virus dans l'intestin de l'abeille. Nos résultats démontrent des variations temporelles de la prévalence pour les six virus étudiés au niveau des ruchers, et une variation spatiale quant aux espèces de virus présentes. Finalement, une analyse par MET a révélé une grande diversité dans le microbiote intestinal des abeilles étudiées. Les virus associés à *A. mellifera* étudiés ici semblent avoir chacun une dynamique propre, mais tous présentent des fluctuations temporelles proches, et nous démontrons une esquisse de répartition de ces virus en fonction de différents paysages, non seulement de manière sûre quant aux espèces présentes, grâce aux contrôles positifs de l'Anses, mais aussi avec un nouvel outil complémentaire et original, la cytométrie en flux.

Influence de la température sur les charges virales d'abeilles infectées

A. DALMON, C. ALAUX, Y. LE CONTE

INRA Avignon
UMT Protection des Abeilles dans l'Environnement, Site Agroparc, 84914 Avignon

Les virus des abeilles sont évoqués comme un des facteurs probables causant le déclin des abeilles. Si la prévalence des virus dans une ruche au cours d'une saison a été évaluée (Tentcheva, Gauthier et *al*. 2004), l'influence de la température ambiante sur la charge virale des abeilles n'est pas connue. De nombreux virus sont sensibles à une élévation de la température, et la thermothérapie est un moyen de lutte connu contre les virus. Nous avons étudié l'influence de la température sur les charges virales d'abeilles infectées prélevées *in situ* à l'automne, élevées en cagettes en conditions contrôlées de 34 à 43°C. La charge virale a été suivie sur un mois à intervalles réguliers et comparée à la charge virale initiale. L'expérience a été répétée quatre fois à partir de ruchers présentant des charges virales différentes. La possibilité d'assainir des populations ou de diminuer les charges virales d'abeilles adultes par thermothérapie sera discutée.

Référence :

Tentcheva, D., L. Gauthier, N. Zappulla, B. Dainat, F. Cousserans, M. E. Colin and M. Bergoin (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.

Une toxine issue du monde marin pour lutter contre *Varroa*

Fabienne DULIN, Anne-Sophie VOISIN-CHIRET, Céline BALLANDONNE, Ronan BUREAU, Sylvain RAULT, Marie-Pierre HALM

Centre d'Études et de Recherche sur le Médicament de Normandie, UPRES EA-4258, INC3M, FR CNRS 3038, Université de Caen Basse-Normandie, U.F.R. des Sciences Pharmaceutiques, Boulevard Becquerel, 14032 Caen Cedex.

Varroa destructor, acarien responsable de la varroase, fait actuellement partie des menaces les plus inquiétantes pour les colonies d'abeilles entraînant leur déclin et des répercussions économiques importantes tant au niveau de la filière apicole qu'au niveau de la profession agricole. Malgré certaines recherches dans le domaine des anti-varroas, peu de traitement sont actuellement disponibles. Parmi les trois traitements disposant d'une AMM en France, des phénomènes de résistance commencent à apparaître et il convient de proposer de nouvelles molécules candidates au développement de médicaments vétérinaires anti-varroas.

Pour pallier à ce problème, il convient de favoriser la diversité de molécules potentiellement utilisables dans le traitement anti-varroas et donc de rechercher des molécules agissant selon des modes d'actions différents.

Des travaux préliminaires menés au laboratoire sur varroa font émerger des substances naturelles de type polypyridine issues du monde marin. Ces substances entraînent une paralysie des proies via une action de type nicotinique. Cependant une certaine spécificité est observée quant à l'efficacité de différents analogues de cette famille de molécules vis-à-vis d'espèces appartenant à différents phylum zoologiques. Partant de cette spécificité d'action, nous avons postulé que ces substances pouvaient s'avérer toxiques vis-à-vis de *Varroa* et présenter une moindre toxicité chez l'abeille. Les expériences *in vivo* préliminaires menées au laboratoire suggèrent une toxicité d'un composé de cette famille pour varroa alors que les abeilles semblent résistantes à ce type de molécules.

Une approche *in silico* sur les interactions chimiques au niveau des récepteurs nicotiniques des abeilles et des varroas est donc nécessaire pour permettre de comprendre cette sélectivité. De la même manière que notre étude précédente sur les inhibiteurs d'acétylcholinesterase[1], cette démarche passe par la construction de modèles 3D des récepteurs nicotiniques chez l'abeille et chez le varroa. Par les complexes récepteur/molécule d'intérêt seront construits par *docking*. Ceci permettra alors de définir les caractéristiques structurales nécessaires pour entraîner une forte/moindre toxicité pour ces deux organismes. En parallèle les tests de toxicité sont repris sur varroa et abeille pour confirmer notre hypothèse de départ.

Ces résultats vont permettre d'orienter la synthèse chimique de molécules de plus grande efficacité mais également de comprendre l'impact des néonicotinoïdes sur les abeilles.

Référence :

[1] Interpretation of honeybees contact toxicity associated to acetylcholinesterase inhibitors. Dulin F, Halm-Lemeille MP, Lozano S, Lepailleur A, Santos JS, Rault S, Bureau R. Ecotoxicol Environ Saf. 2012;79:13-21.

Le rôle des réseaux de laboratoires agréés et du laboratoire national de référence dans le diagnostic des maladies de l'abeille en France

Stéphanie FRANCO, Philippe BLANCHARD, Marie-Pierre RIVIERE, Magali CHABERT

Anses Sophia Antipolis, Unité de Pathologie de l'Abeille, Laboratoire National de Référence sur les maladies de l'abeille et Laboratoire de Référence de l'Union européenne pour la santé de l'abeille

Ces dernières années, une démarche commune a été conduite afin d'améliorer l'organisation de la filière apicole. Dans ce cadre, en 2011 et en 2012, plusieurs réseaux de laboratoires ont été agréés par la DGAl pour le diagnostic des maladies de l'abeille. Ces réseaux sont organisés autour du laboratoire national de référence (LNR). Ils interviennent pour la réalisation des analyses officielles dans le cadre du diagnostic des maladies règlementées et dans la surveillance épidémiologique. L'objectif est d'assurer la fiabilité des résultats analytiques dans un contexte où les enjeux sont majeurs : mise en place des mesures de police sanitaire, certification des échanges de produits d'origine apicole, détermination de la situation sanitaire officielle d'un territoire.

En France, trois réseaux de laboratoires ont été ainsi constitués. Huit laboratoires répartis sur le territoire sont en charge du diagnostic des loques et de la nosémose dans le cadre du réseau de surveillance des troubles des abeilles de la DGAL. Vingt-quatre laboratoires sont impliqués dans la détection des parasites exotiques *Aethina tumida* et *Tropilaelaps spp.* sur les abeilles accompagnatrices présentes dans les lots de reines importées de pays tiers. Enfin, un réseau de laboratoires a été organisé pour répondre à la demande analytique dans le cadre du dispositif européen EPILOBEE de surveillance des mortalités des abeilles.

Des méthodes de diagnostic de référence ont été identifiées pour chaque maladie. Il s'agit de méthodes reconnues et validées, dont les performances répondent aux besoins de l'analyse. Les laboratoires doivent les utiliser dans le cadre de l'agrément. L'agrément implique également pour ces laboratoires une nécessité d'accréditation, gage de qualité des résultats.

Le LNR assure la coordination des activités analytiques dans les laboratoires agrées : formation, confirmation des diagnostics en seconde intention, organisation d'essais inter-laboratoires, diffusion de matériaux et d'échantillons de référence. Il participe également, en tant qu'expert, à l'organisation de l'épidémiosurveillance et intervient dans l'analyse des données sanitaires en appui à la DGAL. Enfin, il développe, optimise et valide des méthodes d'analyses afin de proposer des protocoles standardisés et de mettre au point de méthodes d'analyse toujours plus performantes en adéquation avec les différents objectifs analytiques. Des méthodes de PCR ont par exemple été développées pour effectuer une détection rapide et large de nombreux agents pathogènes (virus, loques, nosémose, mycose) et permettre de réaliser un « *screening* » sanitaire sur des colonies sans signes cliniques apparents. Ces outils « *Multipath* » peuvent être utilisés pour connaître la situation sanitaire d'un territoire. Dans le cadre d'expérimentations, ils sont également intéressants pour suivre l'état sanitaire des colonies au cours de l'étude.

L'existence de ces réseaux de laboratoires permettra ainsi d'uniformiser et d'optimiser les méthodes d'analyses conduites et d'assurer un meilleur suivi de la situation sanitaire apicole française.

Influence de l'infestation varroa sur la pression virale chez l'abeille domestique : exemple de la dynamique de progression du parasite sur un nouveau territoire

F. MONDET, J. DE MIRANDA, F. LAAS, A. MERCER, Y. LE CONTE

INRA Avignon
UMT Protection des Abeilles dans l'Environnement, Site Agroparc, 84914 Avignon

Au cours des 50 dernières années, le parasite *Varroa destructor* a été responsable de mortalités massives au sein des cheptels de colonies d'abeilles domestiques. L'association du pathogène avec plusieurs virus de l'abeille représente un facteur clé d'explication d'une partie de ces pertes. Si la plupart des infections virales apparaissaient peu pathogéniques avant l'introduction de *Varroa* chez l'abeille, elles semblent aujourd'hui être la cause principale de la mortalité liée à *Varroa*. Les connaissances sur l'influence du parasitisme par le varroa sur la dynamique des populations de virus sont donc essentielles afin de mieux appréhender l'évolution de l'association complexe entre abeilles, varroas et virus.

À l'aide d'une approche d'écologie moléculaire, nous avons étudié l'impact de l'infestation *de novo* d'un territoire par *Varroa* sur la pression virale retrouvée chez l'abeille.

Les résultats obtenus suggèrent une influence importante du varroa sur la prévalence et la charge de cinq virus de l'abeille, mettant ainsi l'accent sur l'importance de la prise en compte de la pression virale dans les stratégies de lutte contre le parasite varroa.

La réponse du peptidome de l'abeille domestique, *Apis mellifera*, lors d'une cinétique d'infection par la microsporidie *Nosema ceranae*

Barbara MISME-AUCOUTURIER[1,2], Anne MONE[1,2], David G. BIRON[1,2], Mathilde GUERRIER[1,2], Frédéric DELBAC[1,2], Catherine TEXIER[1,2]

[1]Clermont Université, Université Blaise Pascal, Laboratoire "Microorganismes: Génome et Environnement", BP 10448, 63000 Clermont-Ferrand, France.
[2]CNRS, UMR 6023, LMGE, F-63177 Aubiere, France.

Objectif :

La microsporidie *Nosema ceranae* est un parasite intracellulaire obligatoire de l'abeille domestique, *Apis mellifera*. *N. ceranae* est responsable de la nosémose et est considéré comme un des facteurs impliqués dans la surmortalité des abeilles observée dans de nombreuses régions du monde, en particulier l'Europe, l'Amérique du Nord et le Japon. La réponse immune innée de l'abeille face à ce parasite est largement incomprise, en particulier en terme d'expression des peptides antimicrobiens (PAMs) qui sont connus pour être induits suite à des infections microbiennes. Ainsi, l'objectif de ce travail était l'étude de la réponse du peptidome de l'abeille domestique suite à l'infection par *N. ceranae*. Cette étude a été envisagée à l'échelle individuelle.

Méthodes :

Toutes les expériences ont été réalisées avec des abeilles au stade adulte provenant du rucher situé sur une parcelle du LMGE (UMR CNRS 6023) à Aubière dans le Puy-de-Dôme. Une infection expérimentale d'*A. mellifera* par *N. ceranae* a été menée afin d'évaluer les modifications du peptidome de l'hémolymphe à 0 heure post-infection (hpi), 24 hpi, 48 hpi et 8 jours post-infection. Une méthode inédite a été développée pour récupérer l'hémolymphe à l'échelle de l'individu. Les antennes de chaque abeille utilisée ont été coupées à ras de la tête. L'insecte a été ensuite positionné dans un tube de 0,5 mL dont le fond a été percé d'un trou d'un diamètre de 0,5 mm. Ce tube a été placé dans un tube eppendorf plus grand (1,5 mL) et a été centrifugé à 2000 xg durant 5 min à 4°C. L'hémolymphe fraîchement collectée a été mélangée directement à la solution d'extraction (Urée 7M, Thiourée 2M, TricHCl pH8 40mM, CHAPS 4 %, DTT 1 % et inhibiteurs de protéases (Roche EDTAfree)) à 4°C (100 µL pour 40µL d'hémolymphe). Chaque échantillon a été ensuite soniqué 5 fois pendant 20 s avec un intervalle de 30 s dans la glace entre chaque sonication puis centrifugé à 15800 xg pendant 12 min à 4°C. Le surnageant contenant les protéines a été collecté et stocké à -20°C. La quantité de protéines de chaque échantillon a été dosée en triplicat (3 x 0,5 µL) avec la méthode de Bradford à l'aide du kit Coomassie Plus Assay Kit (Thermo Scientific). Deux types de gels ont été utilisés pour séparer les protéines de l'hémolymphe par SDS-PAGE : (i) Tris-Glycine à 12 ou 16 % acrylamide/bisacrylamide, (ii) Tris-Tricine à 16,5 % d'acrylamide (séparation des protéines de faible masse moléculaire). La migration des gels a été réalisée à 25 mA par mini gel (8 x 6 cm) et la révélation des protéines avec le bleu de Coommassie. Les protéines et peptides ont été identifiés à l'aide de la spectrométrie de masse (MS et MS/MS).

Résultats :

Parmi les profils électrophorétiques très différents que nous avons obtenus, certains peuvent être associés à une réponse différentielle du protéome de l'hôte suite à la cinétique d'infection par *N. ceranae* (sur- ou sous-expression de protéines suite à l'infection). La variabilité populationnelle de la réponse du protéome de l'hémolymphe de l'abeille suite à l'infection par *N. ceranae* est détectable à l'échelle de l'individu. Nous avons donc prélevé sur différents gels quelques bandes de protéines intéressantes potentiellement impliquées dans la réponse de l'abeille suite à l'infection par *N. ceranae* ainsi que d'autres bandes pour s'assurer de la qualité de la méthode de récupération de l'hémolymphe. Au total, nous avons identifié 87 protéines. Les protéines identifiées sont soit des protéines de réponses au stress, soit des enzymes métaboliques ou des protéines de défense contre des agents pathogènes. Un peptide antimicrobien a été détecté (l'hyménoptaecine) en réponse à l'infection.

Conclusions :

Notre étude montre la faisabilité du suivi de la réponse du peptidome de l'hémolymphe de l'abeille domestique à l'échelle de l'individu. Les résultats de spectrométrie de masse nous ont permis de confirmer (i) l'efficacité du protocole de récupération de l'hémolymphe à l'échelle individuelle et (ii) la détection des PAMs exprimés suite à l'infection par *N. ceranae* dans nos échantillons.

Comparaison des traitements à base d'acide formique contre *Varroa* dans plusieurs régions

Julien VALLON

ITSAP-Institut de l'abeille, CS 40509 Domaine Saint Paul - Site Agroparc 84914 AVIGNON Cedex 9
UMT PrADE CS 40509 Domaine Saint Paul - Site Agroparc 84914 AVIGNON Cedex 9

Afin de rechercher des alternatives à l'emploi du thymol, dont l'efficacité est apparue insuffisante dans certaines situations ces dernières années, l'ITSAP-Institut de l'abeille a coordonné en été 2012 une expérimentation sur les méthodes d'utilisation de l'acide formique.

Ainsi l'ADARA, l'ADAPI, le syndicat AOC *« Miel de corse – Mele di Corsica »*, l'ADAPro LR, l'ADAM, l'ADAAQ et le GIE Bretagne ont testé selon un protocole commun différents traitements à base d'acide formique parmi les modalités suivantes : MAQS®, diffuseur FAM®, diffuseur Liebig de type *« bouteille »,* méthode *« Chapleau »* utilisant un plancher de ruche à plateau amovible, en intégrant l'Apilife var® comme traitement témoin. L'étude réalisée dans les ruchers expérimentaux des Associations régionales de développement apicole (ADA) concerne plus de 200 colonies.

Les observations réalisées prennent en compte la mortalité des varroas comptabilisé sur langes, la mortalité observée sous opercule, des suivis de température sur le rucher, mais aussi à proximité des diffuseurs d'acide formique, des critères d'état des colonies (quantité de couvain, poids, observation de la ponte et de la survie des reines, état des colonies à la reprise de printemps).

Les résultats, actuellement en cours de traitement, seront présentés et discutés : niveaux d'efficacité obtenus selon les traitements et les ruchers, mortalité des varroas sous l'opercule et les relations qui peuvent être faites avec les variables observées : état des colonies, niveaux de température en relation avec l'efficacité obtenue ainsi que l'impact des applications sur les colonies.

Facteurs menaçant la survie des colonies d'abeilles en Algérie

Noureddine ADJLANE[1], Saliha KECHIH[2], Nizar HADDAD[3]

[1]Université M'hamed Bougara de Boumerdes, Département de Biologie, Algérie
[2]Laboratoire de microbiologie, Laboratoire régional de la de médecine vétérinaire Tizi Ouzou Algérie
[3]National Center for Agriculture Research and Extension, Bee Research Unit.P.O . Box 639- Baq'a 19381. Jordan

Objectifs

L'apiculture en Algérie occupe ces dernières années une place très importante dans secteur agricole algérien, le nombre de ruches en Algérie est de 1,2 million et celui des apiculteurs près de 20.000. Pendant la saison apicole 2012-2013, des phénomènes de mortalités anormales des abeilles locales, de disparitions de butineuses sont souvent signalés par les apiculteurs. Aucune étude n'a permis d'incriminer un facteur de risque précis. Ainsi, une question mérite d'être posée : quels sont les facteurs de risque et quelles peuvent être leurs interactions avec l'abeille domestique en relation avec les pertes signalées ? Ce travail essayera d'apporter des éléments de réponse cette problématique.

Méthodes

134 apiculteurs des zones de la région centre d'Algérie ont été enquêtés à l'aide d'un questionnaire fermé. En parallèle, des observations de terrain et des analyses de laboratoire ont été réalisées entre dans le but de mettre en évidence la présence des pathologies suivantes : varroase, nosémose, loque américaine et virus des ailes déformés.

Résultats

L'enquête montre que la plupart des apiculteurs rapportent des mortalités de plus de 15 %. Ce chiffre reste toutefois une estimation, compte tenu de la difficulté des apiculteurs à comptabiliser les mortalités réelles. L'agent principalement suspecté concernant les mortalités observées est le *Varroa destructor*, agent causal de la varroase. Il existe en Algérie depuis 1981. Notre étude révèle une forte utilisation des produits non homologuées contre la varroase. Cette dernière reste l'une des principales pathologies qui affecte les élevages. *Varroa destructor* est largement répandu dans toutes les régions étudiées et cette espèce est présente dans 100 % des ruches échantillonnées. Plus de la moitié des ruchers ont un niveau d'infestation en varroas dépassant le seuil tolérable par une colonie saine.

Autre agent ayant un rôle important dans les mortalités des abeilles : *Nosema sp*. Les symptômes typiques de la nosémose ont été observés dans environ 11 % des ruchers visités. Les analyses de laboratoire ont confirmé la présence des spores de *Nosema sp* avec des pourcentages différents selon les ruchers et les régions. Les symptômes cliniques de la loque américaine ont été observés dans environ 22 % des ruchers étudiées. Des diagnostics de laboratoire ont été effectués sur des échantillons d'abeilles adultes prélevés. Les résultats ont mis en évidence la présence de 33 % d'abeilles infectées par la bactérie *Paenibacillus larvae* dans les zones étudiées. Le virus des ailes déformés a été détecté dans 65 % des colonies étudiées. D'après toujours nos résultats, 13 % des apiculteurs déclarent qu'ils sont victimes des traitements phytosanitaires effectués par les agriculteurs. Le dépeuplement et l'affaiblissement de la colonie, la présence des abeilles traînantes, noires et dépilées parfois avec des ailes atrophiées constitue les principaux symptômes rapportés par les apiculteurs.

Il a été constaté que l'entretien des ruches par les apiculteurs est très faible. En effet, très peu sont ceux qui protègent leurs colonies des intempéries et de l'humidité, respectent l'orientation des colonies, pratiquent le nourrissage avec une source protéique, protègent les cadres contre la fausse teigne en été. L'ensemble de ces facteurs contribue à un affaiblissement des colonies, et donc à l'augmentation du risque de mortalité des abeilles

Conclusion

Les résultats de cette étude présentent clairement les contraintes de développement de l'apiculture et les causes de mortalités des colonies d'abeilles observées en Algérie. Dans le contexte actuel, il est très difficile d'incriminer une seule cause : les facteurs de risques sont multiples et, souvent, interagissent. Ils sont susceptibles d'influer sur la surmortalité des abeilles domestiques, en Algérie comme dans les autres pays où une surmortalité a été observée.

RésApi, un réseau prototype de ruchers ateliers pour comprendre les pertes hivernales de colonies : résultats préliminaires de la campagne 2012-2013

Constance BERI[1,2], André KRETZSCHMAR[2,3], Alban MAISONNASSE[2,4], Cyril VIDAU[1,2], Cédric ALLAUX[2,5], Julien VALLON[1,2], Axel DECOURTYE[1,2,6]

[1]ITSAP-Institut de l'abeille, 228 route de l'Aérodrome, 84914 Avignon.
[2]UMT, Protection des Abeilles dans l'Environnement, CS 40509, Avignon, France,
[3]INRA BioSP, UR 406 Abeilles et Environnement, CS 40509, Avignon, France
[4]ADAPI, 228 route de l'Aérodrome, 84914 Avignon.
[5]INRA, UR 406 Abeilles et Environnement, CS 40509, Avignon, France
[6]ACTA, Site Agroparc, Avignon, France,

Le projet RésApi a été initié dans le cadre d'un programme CASDAR.

Son objectif est d'évaluer les mortalités hivernales, compte tenu d'une part de l'état physiologique et populationnel des colonies à l'entrée en hivernage et d'autre part du parcours de transhumance depuis le début de la saison.

Ce prototype d'étude se fonde sur l'analyse de colonies mises à disposition par un réseau d'apiculteurs. Il regroupe actuellement trois apiculteurs de trois régions différentes: Aquitaine, Languedoc-Roussillon et PACA. Chaque apiculteur a mis à disposition deux ruchers de 25 ruches (soit 450 ruches en suivi).

Le suivi type se déroule de la façon suivante:

- une description des colonies en début de saison (méthode UMT COLEVAL) avec une évaluation de la charge en varroas ;
- une évaluation de la production à chaque étape du parcours par les apiculteurs ;
- une nouvelle description des colonies et de la charge varroa avant traitement ;
- un descriptif complet des colonies après traitement, à l'entrée en hivernage : état populationnel (COLEVAL), pression de *Varroa*, charge virale et biomarqueurs (vitellogénine, corps gras…).

Les premiers résultats s'appuient d'une part sur une typologie des parcours caractérisée par des indices d'attractivité et de risque associé à chaque emplacement, et d'autre part sur une analyse multifactorielle de la mortalité des colonies (y compris les « *non valeurs* ») à la sortie de l'hiver.

La validation des méthodes de diagnostic moléculaire, passeport indispensable pour la standardisation et l'harmonisation des techniques PCR pour la détection des principaux agents pathogènes de l'abeille

Éric DUBOIS

Anses Sophia Antipolis, Unité de Pathologie de l'Abeille, Laboratoire National de Référence sur les maladies de l'abeille et Laboratoire de Référence de l'Union européenne pour la santé de l'abeille

La standardisation des méthodes de diagnostic moléculaire pour la détection et/ou la quantification des différents agents pathogènes de l'abeille (virus, bactéries, champignons et parasites), ainsi que la standardisation de l'interprétation des résultats sont les premières conditions pour une meilleure harmonisation des données recueillies par les différents laboratoires des réseaux agréés pour le diagnostic des maladies de l'abeille tel que ceux du dispositif européen RESABEILLE de surveillance des abeilles. Le laboratoire de l'Anses Sophia Antipolis développe des méthodes de diagnostic moléculaire (méthodes internes ou méthodes adaptées) des principaux agents pathogènes de l'abeille. La validation de ces méthodes qualitatives ou quantitatives est un pré-requis indispensable à sa reconnaissance comme méthode de référence tant par l'Association française de normalisation (AFNOR), l'Organisation mondiale de la santé animale (OIE), que notamment dans le cadre d'une accréditation du diagnostic par le Comité français d'accréditation (COFRAC) selon le référentiel NF EN ISO/CEI 17025 version 2005. La norme XP U47-600, publiée par l'AFNOR en juin 2011, définit les exigences générales relatives à la mise en œuvre, au développement et à la caractérisation en vue de la validation des méthodes PCR en santé animale.

Le laboratoire a suivi ce référentiel pour évaluer les performances des différentes méthodes de diagnostic moléculaire dans le cadre de sa portée d'accréditation, tels que l'identification des agents des loques par PCR, l'identification des agents de la nosémose par PCR, la détection et la quantification par PCR en temps réel du virus de la paralysie chronique et du virus du couvain sacciforme, ainsi que la détection et l'identification du petit coléoptère de la ruche, *Aethina tumida* par PCR et/ou PCR temps réel.

La validation de ces méthodes repose sur une procédure en deux étapes : dans un premier temps, la PCR est caractérisée en termes de (i) spécificité analytique (*in silico*) et expérimentale (inclusivité et exclusivité), (ii) de limite de détection (LD_{PCR}), (iii) de limite de quantification (LQ_{PCR}), puis (iiii) de linéarité et d'efficacité. Dans un second temps, la méthode complète (de l'extraction des ADN ou ARN à l'analyse quantitative) est évaluée en fonction de (i) sa limite de détection ($LD_{méthode}$), (ii) sa spécificité et sensibilité diagnostiques sur échantillons de statut connu, et (iii) sa limite de quantification ($LQ_{méthode}$). Ce dernier critère est notamment évalué par la construction et l'interprétation d'un profil d'exactitude, comparant les intervalles de tolérance de la méthode à différents niveaux de concentration aux limites d'acceptabilité préalablement définies. Pour chacune de ces étapes, plusieurs paramètres sont déterminés incluant l'incertitude de linéarité de la PCR quantitative (U_{LIN}), les critères de performance de la méthode tels que les écarts-types de répétabilité et de fidélité intermédiaire.

Ces méthodes validées et accréditées sont ensuite transférées aux différents laboratoires du dispositif RESABEILLE par le biais de formation, le LNR assurant le suivi de ce transfert par la fourniture régulière de matériaux de référence (témoin positif d'extraction quantifié ou non, témoin positif de PCR, gamme pour PCR temps réel). Préalablement à la mise en place *« en routine »* d'une méthode de diagnostic moléculaire dûment caractérisée et validée par le LNR (laboratoire *« développeur »* de la méthode), les laboratoires du dispositif RESABEILLE (laboratoires *« adopteurs »*) doivent montrer leur capacité à mettre en œuvre l'essai concerné en vérifiant qu'ils obtiennent les performances annoncées dans le dossier de caractérisation et de validation de la méthode du LNR. Le processus d'adoption d'une méthode de diagnostic moléculaire décrit dans la norme XP U47-600 (partie 1) comprend (i) la confirmation des caractéristiques de la PCR et (ii) la confirmation des performances de la méthode complète. L'adoption d'une méthode est réalisée en respectant le mode opératoire fourni par le développeur. La confirmation des caractéristiques de la PCR et de la méthode est effectuée à l'aide de matériaux de référence internes fournis par le laboratoire développeur, correspondant à différents lots titrés de la séquence recherchée.

La validation définitive d'une méthode de diagnostic se fait ensuite par des tests inter-laboratoires, permettant ainsi d'évaluer la reproductibilité et l'incertitude globale de la méthode, et d'évaluer la performance des laboratoires pour effectuer précisément cette méthode. Pour se faire, le LNR mettra en place des Essais inter-laboratoires d'aptitude (EILA) à l'attention des laboratoires du dispositif RESABEILLE.

Résistance de *Varroa destructor* à L'Apistan© et au Bayvarol© en Algérie

Salima KOUMAD

École Nationale Supérieure Agronomique (ENSA), département Production animale
Rue Hassen Badi Belfort El Harrach, Alger,16000, Algérie.

Le parasite *Varroa destructor* de l'abeille constitue la plus importante menace pour la production apicole. Plusieurs moyens de lutte à base de molécules acaricides ont été mis au point (Arnold et Le Conte, 1989).Tous les traitements utilisés actuellement ne sont efficaces que sur les varroas adultes hors couvain. En effet, comme le varroa se reproduit dans le couvain operculé, les traitements appliqués sous forme de bande plastique (Apistan©,Bayvarol©, etc.) n'assurent pas un effet prolongé : leur efficacité diminue avec le temps et conduit à une résistance de la part des varroas.

Le phénomène de résistance de *Varroa* au fluvalinate et d'autres molécules a été signalé pour la première fois en Italie en 1994 (Lodesani et *al*, 1995) et aux États-Unis, le premier foyer de résistance ayant été découvert en 1997(Elzen et *al*, 1998). La mortalité de l'acarien n'a été que de 14, 2 % au cours de tests de laboratoire et des essais sur terrain.

En Algérie, la varroase est devenue une des préoccupations majeures des apiculteurs depuis la découverte du premier cas d'infestation par *Varroa* à l'est du pays. Depuis1992, les lanières d'Apistan© et de Bayvarol© sont utilisées pour lutter contre *Varroa destructor*. Dans les ruchers, les apiculteurs ont constaté une diminution d'efficacité d'Apistan© et le problème de résistance a été évoqué, comme il a été démontré dans la région de la Mitidja (Adjlane, 2003) où le test a révélé une forte baisse d'efficacité de la molécule de fluvalinate sous ses différentes formulations (Apistan© et Klartan©). Dans ce travail, nous proposons d'estimer l'efficacité acaricide d'Apistan© et de Bayvarol© dans la lutte contre la varroase, dans les régions de Bouira et de Tizi-Ouzou (Algérie).

Références :

Arnold G; Leconte Y. (1989) Abeilles en péril ? La lutte s'organise. La Recherche 209: 546-548 pp.

Della-Vedova G; Milani N. (1998) Efficacy against Varroa jacobsoni oud and tolerability by bees of the product Apiguard.Association in Institutes for Bee Research, Report of the 46th seminar in Marburg 23-25 March 1998 in Apidologie 30: 438-440 pp.

Elzen P.J; Eischen F.A; Baxter J.B. (1998) Fluvalinate Resistance in Varroa jacobsoni. from several Geographic locations. Am. Bee. J.138: 674-676 pp.

Lodesani M.; Colombo M.; Spreafico M. (1995) Ineffectivness of Apistan treatment against the mite Varroa jacobsoni oud in several districts of Lombardy (Italy).Apidologie26:67-72 pp.

Milani N; Della-Vedova G. (2002) Decline in the proportion of mites resistants to Fluvalinate in a population of Varroa destructor no treated with pyrethrinoids.Apidologie 33: 417-422 pp.

Shahrouzi R. (2002) Traitement de la varroase. Rev. Scie. Tech, 677-687 pp.

Simoneau A. (2004) La Varroase, MAPAQ- CQIASA. Laboratoire de pathologie animale. 19pp
http://www.agrireseau.qc.ca/apiculture/documents/Varroase-agrirezoA_SIMONEAU.pdf

Trouiller J. (2001) Le traitement Apiguard. Abeille de France et l'apiculteur 866: 35-36 pp.

Dénombrement des varroas phorétiques : méthode, indice, enjeux

Alban MAISONNASSE[1,2], André KRETZSCHMAR[2,3], Pascal JOURDAN[1,2,4]

[1]ADAPI, Maison des Agriculteurs - 22, avenue Henri Pontier - 13626 Aix-en-Provence cedex 1
[2]UMT PrADE CS 40509 Domaine Saint Paul - Site Agroparc 84914 AVIGNON Cedex 9
[3]INRA BioSP, CS 40509 Domaine Saint Paul - Site Agroparc 84914 AVIGNON Cedex 9
[4]ITSAP-Institut de l'abeille, CS 40509 Domaine Saint Paul - Site Agroparc 84914 AVIGNON Cedex 9

Varroa destructor est un acarien parasite de l'abeille adulte, ainsi que des larves et des nymphes de l'abeille domestique *Apis mellifera*. Le varroa se nourrit de l'hémolymphe des abeilles adultes (phase phorétique) et de celles des larves dans les cellules operculées du couvain (phase reproductive) induisant une perte énergétique et transmettant de nombreux virus à son hôte. L'invasion des colonies d'abeilles par *Varroa* est considérée par les spécialistes comme l'un des facteurs d'affaiblissement et d'extinction des colonies (Rosenkranz, 2010). Malheureusement, les apiculteurs manquent d'indices standardisés pour prendre des décisions concernant la gestion de ce parasite.

Actuellement une mesure simple émerge et s'impose dans les différents suivis de colonies (RésAPI, Lavande…) : la détermination du nombre de varroas phorétiques pour 100 abeilles adultes par colonie (indice de référence) à partir d'un échantillon de 300 individus (Lee et *al.*, 2010).

Ce travail (i) expose les méthodes de mesure existantes de dénombrement de varroas sur les abeilles adultes (terrain et laboratoire), (ii) donne une approche pour caractériser le poids de cet indice par rapport aux expérimentations existantes (gain de poids, couvain, efficacité des acaricides, santé de la colonie…) et (iii) lance des pistes de travail pour améliorer la puissance de cet indice.

Le dénombrement des varroas phorétiques doit à terme devenir un indice robuste apportant une aide à la décision aux apiculteurs sur la gestion de *Varroa*.

Analyses biochimiques en vue d'évaluer la qualité des miels

Lalatiana RAKOTOZAFY[1], Malika VOULZY[1], Gwladys TACONNAT[1],
Loïc LOUARME[1], Jacques POTUS[1], Christophe B.Y. CORDELLA[2]

[1]UMR 1145 Cnam, Laboratoire Industries Agroalimentaires, 292 rue Saint-Martin 75141 PARIS cedex 03, France.
[2]UMR1145 INRA, Laboratoire de Chimie Analytique, 16 rue Claude Bernard, 75005 PARIS, France.

Afin d'évaluer la qualité des miels et d'en apprécier en particulier les propriétés organoleptiques, nous avons caractérisé 20 miels par des méthodes physico-chimiques ou biochimiques : la couleur, le pH, la teneur en glucose et en hydroxymethoxyfurfural (HMF) ainsi que les activités enzymatiques glucose oxydase (GOX) et catalase (CAT).

Les résultats nous donnent également des indications sur les aspects nutrionnels (contenu en glucose), la fraîcheur (pH et teneur en HMF) ou sur les potentialités antibactériennes du miel (activités GOX et CAT).

Une analyse en composantes principales a ensuite été réalisée afin de visualiser les relations entre les caractéristiques que nous avons déterminées et l'origine botanique des échantillons d'une part et avec l'aspect des miels (forme et couleur) d'autre part, afin d'obtenir une représentation des miels (selon leur aspect) et des variables.

Rôle des cultures oléagineuses dans l'alimentation des abeilles en zones de grandes cultures

Orianne ROLLIN[1,2,3,6], Fabrice REQUIER[4,5], Vincent BRETAGNOLLE[4], Axel DECOUTYE[1,3,6], Jean-François ODOUX[5], Jean APTEL[2,3], Thierry TAMIC[5], Pierrick AUPINEL[5], Bernard E. VAISSIÈRE[2,3], Mickaël HENRY[2,3]

[1]ACTA, Site Agroparc, 84914 Avignon, France.
[2]INRA, UR406 Abeilles et Environnement, 84914 Avignon, France.
[3]UMT PrADE, F-84914 Avignon, France.
[4]Centre d'Études Biologiques de Chizé, CNRS, UPR1934, 79360 Beauvoir-sur-Niort, France.
[5]INRA, UE 1255 Entomologie, Le Magneraud, BP52, 17700 Surgères, France.
[6]Institut de l'abeille, CS 40509 Domaine Saint Paul - Site Agroparc 84914 AVIGNON Cedex 9

Les abeilles jouent un rôle essentiel dans la pollinisation des cultures et des plantes à fleurs, mais ce service pourrait être menacé par la forte diminution des populations et de la diversité des abeilles. Des mesures agro-environnementales peuvent être mises en place pour favoriser les pollinisateurs, mais leur efficacité est parfois remise cause. Afin de mieux cibler ces mesures, il est nécessaire de savoir comment chaque groupe d'abeilles utilise les ressources disponibles dans le paysage.

Nos résultats montrent que ce sont principalement les abeilles domestiques qui butinent les fleurs de colza et de tournesol (Rollin et *al.,* 2013 *Agriculture, Ecosystems and Environment* 179:78-86). Les abeilles sauvages préfèrent largement les fleurs sauvages des prairies et bordures. Les pics de diversité chez les abeilles (et d'abondance pour les sauvages) sont atteints dans les habitats semi-naturels. Les ressources florales mono-spécifiques présentes massivement sur une courte fenêtre temporelle (colza, tournesol), ne suffisent pas à accueillir et satisfaire les besoins spécifiques en ressource de la majorité des espèces d'abeilles rencontrées. Les bordures extérieures de champs et bordures de chemin présentent une diversité floristique plus élevée que celle liée aux cultures, mais de manière plus diffuse dans le temps et l'espace. Les haies, arbres, bordures de champs et luzernes fleuries sont des habitats à privilégier dans le paysage si l'on souhaite maintenir et favoriser les abeilles, et plus particulièrement les bourdons et abeilles sauvages.

Cette étude montre l'importance des habitats semi-naturels (et des luzernes fleuries) sur l'abondance et la diversité des abeilles, en particulier pour les abeilles les sauvages. Privilégier les mesures environnementales favorisant les habitats semi-naturels et les luzernes fleuries devrait permettre d'agir favorablement sur les populations d'abeilles.

Remerciements :

Ces travaux sont issus du projet POLINOV qui a reçu une contribution financière du Ministère chargé de l'agriculture par l'intermédiaire du compte d'affectation spéciale développement agricole et rural (CASDAR n°9535). Ils s'appuient sur l'observatoire ECOBEE mis en place dans la Zone Atelier de Plaine et Val de Sèvre.

Un nouveau protocole pour étudier les effets non létaux des pesticides sur le butinage chez l'abeille : les effets de la pymétrozine

Michel SOKOLOWSKI[1], Nicolas RIBEIRO[1] et Loïc BOURGEOIS[2]

[1]Université de Picardie – Jules Verne (GRAP – INSERM ERI 24), Site Agroparc, 84914 Avignon, France.
[2]Université de Rennes UR406 Abeilles et Environnement, 84914 Avignon, France.

Introduction

Au cours du butinage, les abeilles visitent de nombreuses fleurs. Ce butinage peut être étudié de manière expérimentale avec l'aide d'une fleur artificielle délivrant des petits volumes contrôlés de sirop que des abeilles en vol libre doivent visiter de manière répétée. Un tel dispositif peut être utilisé pour évaluer les effets non létaux des pesticides.

Nous avons étudié ici l'influence de faibles doses de pymétrozine (Plenum 50 WG®), un insecticide systémique de la classe des pyridines azométhines recommandé dans les programmes de lutte intégrée et présenté comme peu toxique pour les abeilles.

Méthode

24 paires d'abeilles en vol libre ont été testées individuellement. Celles-ci devaient venir remplir leur jabot dans une chambre de butinage close à deux compartiments pilotée par PC. À chaque fois que les abeilles entraient dans le tunnel du dispositif, un volume aléatoire de sirop (sucre à 50 % masse/masse) entre 1 et 5µl était distribué. Le protocole incluait quatre phases de 50 minutes environ : sirop – sirop plus pymétrozine – sirop – sirop 24h après. Deux concentrations de pymétrozine ont été testées: $C_0/600$ et $C_0/300$ (C_0 = 0.3g/l = concentration de terrain).

Résultats

Nous avons mesuré le nectar cumulé ramené à la colonie par rapport au volume consommé au cours de la première phase de sirop. En condition "sirop" cette courbe de nectar cumulée est linéaire, ce qui témoigne d'un effort de butinage constant au cours du temps. Cependant, cet effort de butinage est affecté par la pymétrozine. À la dose $C_0/600$ (60 ng de pymétrozine en moyenne consommée par les abeilles) nous observons peu d'effets de la pymétrozine sur le butinage, même si la courbe s'infléchit légèrement au bout de 30 minutes. Cependant, à la dose $C_0/300$ (88 ng de pymétrozine en moyenne consommée par les abeilles), la pymétrozine divise par deux l'entrée de nectar dans la colonie en 50 minutes et finit par bloquer quasiment tout butinage. Un butinage quasi-normal est toutefois retrouvé le lendemain.

Conclusions

Avec ce protocole proche des conditions du butinage naturel, nous sommes en mesure de détecter des effets sublétaux de la pymétrozine sur le butinage à des doses aussi faibles que quelques dizaines de ng par abeille. Ainsi, l'exposition à la pymétrozine inhibe le butinage à des concentrations de l'ordre de 10^{-3} g/l et l'effet est réversible au bout de 24h.



149 rue de Bercy – 75595 PARIS CEDEX 12

Tél. + 33 (0)1 40 04 50 29 – Fax. +33 (0)1 40 04 51 48

www.itsap.asso.fr

ITSAP
INSTITUT DE L'ABEILLE

ITSAP- INSTITUT DE L'ABEILLE
Siège : 149, rue de Bercy - 75595 Paris Cedex 12
Tél. : +33 (0)1 40 04 50 29 - Télécopie : +33 (0)1 40 04 51 48
E-mail : itsap@itsap.asso.fr
www.itsap.asso.fr

Adossé à l'

L'ITSAP-Institut de l'abeille bénéficie du soutien financier de FranceAgriMer, du FEAGA, du CASDAR et du ministère de l'Agriculture, de l'Agroalimentaire et de la Forêt.

www.etat-desprit.fr • Février 2014
Photos : A. Decourtye ACTA, J. Regnault