



HAL
open science

Quantification du Varroa et réflexion autour d'un indicateur sanitaire au sein du dispositif de surveillance sanitaire Ecobee

Delphine Panziera

► **To cite this version:**

Delphine Panziera. Quantification du Varroa et réflexion autour d'un indicateur sanitaire au sein du dispositif de surveillance sanitaire Ecobee. [Stage] France. AGROCAMPUS OUEST, FRA. 2015, 9 p. hal-02800549

HAL Id: hal-02800549

<https://hal.inrae.fr/hal-02800549>

Submitted on 5 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.

Quantification du Varroa et réflexion autour d'un indicateur sanitaire au sein du dispositif de surveillance sanitaire Ecobee

INRA, Unité Expérimentale Entomologie, Le Magneraud, 17700 Surgères

Maîtres de stage: Jean-François Odoux - INRA, Unité Expérimentale Entomologie

Vincent Bretagnolle – CNRS, Centre d'Etudes Biologiques de Chizé

Résumé: La santé des colonies d'abeilles s'est beaucoup dégradée durant les dernières décennies. Parmi les principaux facteurs responsables, *Varroa destructor*, un acarien parasite, semble jouer un rôle important. Afin de voir si le taux d'infestation du varroa serait un bon indicateur de l'état sanitaire général de la colonie, on a ajouté une méthode de mesure de ce taux au protocole de terrain du dispositif de surveillance sanitaire apicole Ecobee. La méthode choisie utilise du sucre glace pour décrocher le varroa, ce qui permet d'estimer le nombre de varroas sur un échantillon d'adultes sans tuer les abeilles. Le nombre de mesures est pour l'instant insuffisant mais il permet d'évaluer cette méthode qui sera intégrée au protocole du dispositif Ecobee.

Abstract: For the last decades, honeybee colonies' health got worse. Among the principal responsible factors, *Varroa destructor*, a parasitic mite, seems to be playing an important part. In order to see if Varroa mite's infestation rate can be a suitable indicator to estimate colony general state of health, we added a Varroa rate measurement method to the field protocol of a bee health monitoring tool, Ecobee. The chosen method uses icing sugar to knock down Varroa mites, allowing the measurement of the number of Varroa within an adult bees sample without killing the bees. The number of data is too low at the moment but enables an evaluation of the method, which will be permanently included to the field protocol of the monitoring tool Ecobee.

I. Introduction

Depuis les années 1990, on assiste à une dégradation notoire de la santé et une augmentation de la mortalité des colonies d'abeilles (Chauzat et al., 2014) ainsi qu'à une raréfaction des pollinisateurs sauvages (Biesmeijer et al., 2006). Ce phénomène, remarqué dans plusieurs régions du monde, est communément qualifié de déclin des abeilles ou *Colony Collapse Disorder* (CCD) et reste à ce jour inexpliqué (van der Zee et al., 2012; vanEngelsdorp et al., 2009). Malgré les résultats de plusieurs études montrant la responsabilité potentielle de certains insecticides, et de pathogènes, aucun facteur ne suffit à expliquer à lui seul le CCD et l'hypothèse multifactorielle est à ce jour privilégiée (Maini et al., 2012 ; van Engelsdorp et al., 2013).

Chez l'abeille domestique, la santé et les maladies s'apprécient au niveau de la colonie (Afssa, 2009). Une colonie considérée en bonne santé est caractérisée par l'absence de maladie, mais aussi par la présence d'une population nombreuse, bien nourrie, capable de produire du couvain et résistant aux différents stress et notamment aux différentes pathologies (Brodschneider and Crailsheim, 2010). Les symptômes observés peuvent être aléatoires et, s'il est aisé de détecter la présence d'agents infectieux par des analyses en laboratoire, il est beaucoup plus difficile de confirmer la présence de la maladie et son état de gravité.

Les agents pathogènes affectant l'abeille sont diversifiés et peuvent se trouver parmi les virus, bactéries, champignons, et arthropodes. *Varroa destructor* est un acarien parasite originaire de Java se nourrissant d'hémolymphe. Il est présent naturellement sur l'abeille asiatique *Apis cerana*. A partir des années 1970, l'acarien a changé d'hôte dans les zones où cohabitent *Apis cerana* et *Apis mellifera* et s'est répandu très rapidement via le commerce international de reines. Il est maintenant présent sur la majeure partie du globe à l'exception de quelques territoires isolés comme l'Australie (Potts et al., 2010). Alors que les taux d'infestation sont maintenus bas sur *Apis cerana* grâce à la coévolution de l'hôte et du parasite, la biologie d'*Apis mellifera* permet un développement exponentiel de la population parasite (Oldroyd, 1999). Une abeille adulte peut abriter jusqu'à 5 varroas qui se reproduiront ensuite au sein du couvain, engendrant une seconde génération qui se nourrira directement sur les nymphes d'abeilles et qui, en plus d'affaiblir ces dernières de façon importante, sera le vecteur potentiel de plusieurs agents pathogènes (Wilkinson et al., 2002). La présence de nymphes mortes dans les alvéoles est en général associée à une forte pression de varroas : les larves et nymphes sont parasitées et ne parviennent pas à atteindre le stade adulte. Parmi les virus les plus problématiques véhiculés par l'acarien figure le virus de la paralysie chronique (CBPV: *Chronic Bee Paralysis Virus*), que l'on détecte à la présence d'ouvrières au thorax noir dépilé manifestant des tremblements anormaux. Le virus des ailes déformées (DWV : *Deformed Wings Virus*) est également préoccupant et se manifeste par des déformations du corps et des ailes d'abeilles naissantes. La présence de ces virus est étroitement liée à celle du varroa (Fievet et al., 2006). En introduisant des agents pathogènes et en affaiblissant les colonies, le varroa peut permettre le développement de pathologies secondaires. On sait que la présence de varroas phorétiques affaiblit significativement l'abeille: la concentration en protéines de l'hémolymphe est réduite, affectant le développement des organes (Bowen-Walker and Gunn, 2001). La vigueur et la longévité des ouvrières ainsi que la durée de vol et la capacité de retour à la ruche sont aussi affectées (Kralj and Fuchs, 2006). L'acarien parvient à supprimer l'expression de gènes impliqués dans la réponse immunitaire de l'abeille (Yang and Cox-Foster, 2005) et l'hypothèse d'un lien direct entre le varroa et le CCD est même évoquée (vanEngelsdorp et al., 2009). D'après ces données, on pourrait se demander si l'on peut corrélérer le taux d'infestation par le varroa et l'état sanitaire global de la colonie.

Plusieurs méthodes permettent de quantifier le varroa, soit dans le fond de ruche, soit dans la population adulte, soit dans le couvain. Le comptage de varroas en fond de ruche consiste à installer une grille sous les cadres bloquant l'accès aux abeilles. Les ouvrières ne pouvant nettoyer le fond de la ruche, on peut alors compter le nombre de varroas tombés sur une durée d'environ 2 semaines de préférence (Dietemann et al., 2013). Une estimation après traitement acaricide est réalisable mais donne un taux d'infestation à un instant t, généralement en fin de saison apicole, et pas un suivi dans le temps tout au long de la saison. Ces deux méthodes donnent des résultats statistiquement comparables et se révèlent tous deux imprécises en cas de faible taux d'infestation (taux inférieur à 2%) (Branco et al., 2006). Sur le dispositif Ecobee, des trappes à pollen rendent les fonds de ruches inaccessibles et ces méthodes ne peuvent pas être appliquées. Le nombre de varroa peut aussi être estimé au sein du couvain. Cette méthode implique le sacrifice d'une partie du couvain et ne peut être réalisée de façon répétée sans affecter la colonie (Wilkinson et al., 2002) car elle induirait un biais dans les mesures de population. De plus, elle demande une observation des larves en laboratoire qui peut s'avérer délicate et longue.

Enfin, le varroa peut être quantifié au sein de la population adulte de façon non destructive. Afin d'obtenir des données significatives, il est conseillé de prélever un échantillon d'environ 300 abeilles (Lee et al., 2010). On sait que des substances poudreuses peuvent être utilisées pour décrocher le varroa de son hôte : les particules adhèrent aux ambulacres, organes situés à l'extrémité des tarsi permettant à l'acarien de s'accrocher, entraînant sa chute (Fakhimzadeh, 2001) Parmi différents matériaux, les poudres de sucre glace et de talc sont les plus efficaces. On obtient 92,9% de décrochage en utilisant du sucre en poudre et 84,0 % en utilisant du talc (Macedo et al., 2002). Le sucre en poudre est un nutriment facilement nettoyé et digéré par les abeilles et apparaît comme solution idéale, nous permettant de séparer les varroas de leurs hôtes sans tuer ces derniers et ainsi d'éviter tout effet sur la dynamique de la population. Cette méthode de mesure nous permettrait de savoir si le taux d'infiltration du varroa est-il un bon indicateur de la santé de la colonie. Ce taux est-il homogène au sein des colonies d'un même rucher? Dépend-t-il de facteurs liés au paysage? Comment la population de varroa évolue-t-elle au cours de la saison?

II. Matériels et méthodes

Afin de connaître la quantité d'abeilles capturées pour l'estimation du taux d'infestation, on pèsera les échantillons. On doit donc pour cela calculer le poids moyen d'une abeille lorsqu'elle est capturée durant les mesures de terrain. D'après la littérature, une abeille pèse en moyenne 100mg (Dade, 1962), ce chiffre variant selon les colonies. La charge de nectar moyenne portée par une butineuse est de 40 mg mais peut atteindre 70 mg (Ribbans, 1953). L'ouverture de la ruche correspond à un stress et déclenche une réaction des abeilles qui se gorgent de miel. La même abeille, selon son comportement, n'aura donc pas le même poids à l'instant d'ouverture de la ruche et quelques minutes plus tard. Notre expérience se situant environ 5 minutes après l'ouverture de la ruche, nous avons prélevé trois échantillons d'abeilles afin d'en calculer le poids exact. Cette durée correspond au moment où il est le plus facile de collecter un échantillon.

Afin d'identifier, parmi tous les facteurs liés à l'activité agricole, ceux qui sont responsables des problèmes sanitaires observés sur l'abeille, le dispositif « Ecobee » a vu le jour en 2008. Il s'agit d'un dispositif observatoire d'une cinquantaine de ruchers répartis sur une zone d'étude située au Sud de Niort (79).

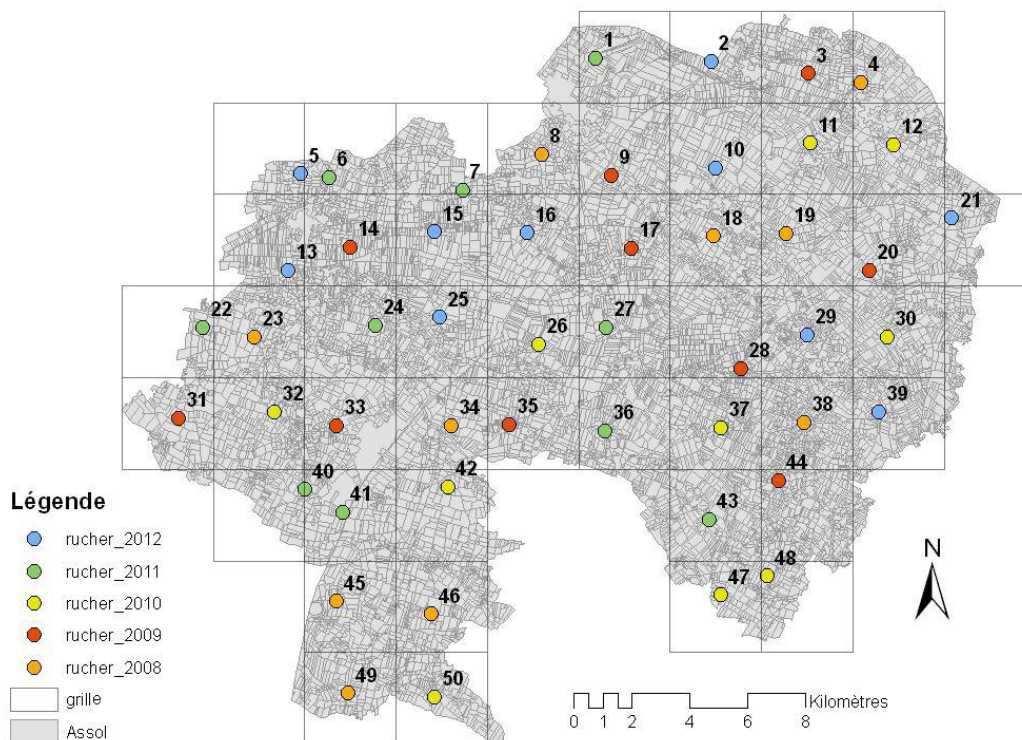


Figure 1: Emplacement des ruchers sur la zone d'étude.

Chaque année, 10 ruchers de 5 ruches chacun sont sélectionnés pour la collecte de données afin de couvrir toute la zone expérimentale au bout de 5 ans. De mars à novembre, toutes les deux semaines, on mesure sur 3 ruches par rucher (les 2 autres étant témoins) les éléments reportés dans le tableau 1. La température au sein de la colonie est enregistrée toutes les trois heures grâce à une sonde située au niveau du couvain. Ces données sont ensuite insérées dans une base qui comprend également les assolements de la zone d'étude.

Tableau 1 : Eléments mesurés toutes les 2 semaines durant la saison apicole sur les colonies du dispositif Ecobee.

Taille de la colonie	Population adulte
	Couvain d'ouvrières et couvain mâle
Présence/absences de symptômes liés à une pathologie, un parasite ou un accident apicole	Mycoses
	Nosema
	Virus des ailes déformées
	Virus de la paralysie chronique
	Loque européenne
	Loque américaine
	Couvain tubulaire
	Couvain en mosaïque
	Remérage
	Ruche bourdonneuse
	Ponte multiple
	Mortalité devant la ruche
Ressources polliniques	Nature des pollens, poids

Lors des mesures sur les ruchers, on peut utiliser du sucre glace pour détacher les varroas et estimer le taux d'infestation de la colonie. Le nombre de varroas comptabilisés doit être ramené au nombre de varroa pour 100 abeilles (Dietemann et al., 2013). Le nombre d'abeille est déterminé par la pesée.

Pour cette manipulation, peu de matériel est nécessaire:

-du sucre glace

-une boîte ou un pot dont le couvercle a été équipé d'une grille laissant passer les varroas mais pas les abeilles. Un maillage de 4mm est adapté.

-un contenant assez large (minimum 30 * 30 cm) de surface plane permettant de compter les varroas

-une balance dont la précision est de l'ordre du gramme

On prépare d'abord la boîte en y plaçant environ 2 cuillères à soupe de sucre-glace, puis l'on mesure le poids total. Une fois la ruche ouverte, on prélève environ 300 individus sur les grappes d'abeilles qui se forment sous les cadres de couvain sortis de la ruche, soit entre 40 et 50 grammes. Afin d'avoir le poids exact d'abeilles, on pèse la boîte contenant le sucre et les abeilles avant de l'agiter délicatement. On s'assure que toutes les abeilles soient recouvertes de sucre glace, puis l'on attend une minute avant d'agiter à nouveau. On retourne ensuite la boîte fermée au-dessus du contenant et on peut alors y compter les varroas qui tombent avec le sucre glace. Une fois tout le sucre tombé, on peut libérer les abeilles dans leur ruche.

Les taux d'infestation sont exprimés en nombre de varroas pour cent abeilles, conformément aux méthodes standard pour la recherche sur le varroa (Dietemann et al., 2013). Les comptages ont été effectués à des intervalles de 2 semaines entre fin juillet et fin septembre. Les résultats obtenus ont été analysés à l'aide des logiciels R et Microsoft Excel. On a effectué une analyse statistique descriptive ainsi qu'une analyse de la variance afin de tester l'effet de la date et de la localisation du rucher sur le taux d'infestation des colonies.

III. Résultats

Le poids moyen d'une abeille après 5 minutes d'ouverture de la ruche, établi à partir de 757 individus issus de 3 colonies différentes, est de 0.143 gramme. Cette valeur a été celle de référence pour cette expérimentation, notamment pour ramener le taux d'infestation de la ruche au nombre de varroa pour 100 abeilles.

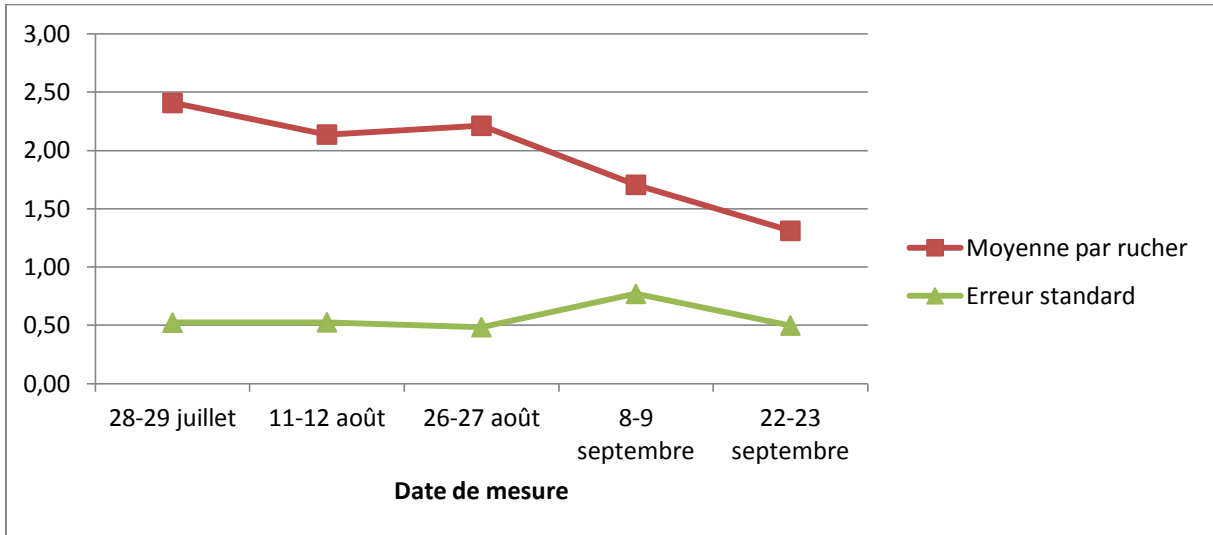


Figure 2 : Moyennes et erreurs standard de l'ensemble des ruchers par date de relevé

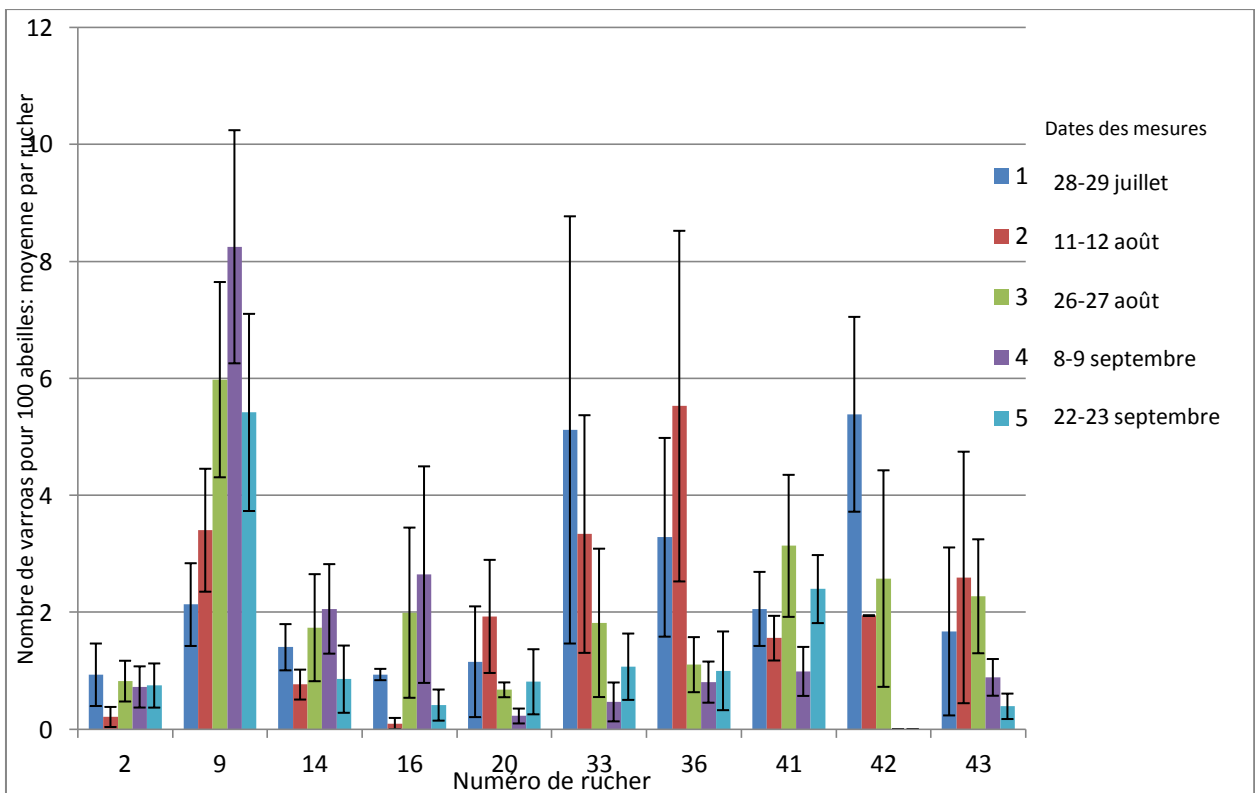


Figure 3: Nombre de varroas en fonction du rucher. L'erreur type est affichée.

On observe des moyennes très variables d'un rucher à l'autre (Figure 3). Les moyennes très élevées sur les ruchers 9, 33, 36 et 42 sont causées par une seule ruche, ce qui explique une erreur standard importante. Pour chaque rucher, les taux d'infestation moyens ont tendance à diminuer dans le temps (Figures 2 et 3).

Afin de tester l'effet de la date et de la localisation du rucher sur le taux d'infestation des colonies, on a procédé à une analyse de la variance. Cette analyse a permis de déceler un

« effet rucher » assez significatif (p valeur= $4,02.10^{-5}$) mais pas d'effet de la date sur le taux d'infestation.

IV. Discussion

En raison d'un démarrage tardif des expérimentations durant la saison apicole, le nombre de données récoltées est faible. Bien que ces données permettent de dégager des tendances, il est pour le moment impossible de procéder à une analyse statistique poussée et de confirmer ces tendances.

A partir de 5 varroas pour 100 abeilles on considère que la colonie est sévèrement affaiblie et au-delà de 10 varroas par abeille, la probabilité de mortalité hivernale est élevée (Dietemann et al., 2013). Certains ruchers présentant des taux supérieurs à 5% en début d'expérimentation parviennent à baisser ce pourcentage en quelques semaines. Cela est probablement lié à une diminution du couvain en fin de saison apicole (Odoux et al., 2013), et donc à un plus faible taux de reproduction du varroa (Callis et al., 1999). Lors des dernières mesures de terrain seul le rucher 9 présente un taux d'infestation alarmant.

Le test d'analyse de la variance montre un effet rucher significatif, soulignant le fait que les taux d'infestation ne sont pas homogènes d'un rucher à l'autre. Ceci peut être expliqué par des facteurs environnementaux et des éléments de paysage différents influençant directement l'accès aux ressources.

Le poids moyen des abeilles peut varier fortement d'une colonie à l'autre et constituer un biais. Il serait donc nécessaire de réévaluer le poids moyen d'une abeille à 5 minutes d'ouverture de la ruche en utilisant un échantillon plus grand prélevé sur un maximum de colonies.

Ce protocole de comptage du varroa sera appliqué à l'avenir et l'on sera alors capable de suivre l'évolution de la population de varroas pour chaque colonie sur toute la durée de la saison apicole, et ce sur plusieurs années. Les taux d'infestation seront couplés aux autres données mesurées sur le dispositif et permettront de confirmer ou d'infirmer la fiabilité de l'utilisation du taux de varroas comme indicateur sanitaire. On pourrait également s'intéresser à la présence ou absence de comportements hygiéniques et tenter de comprendre si ces derniers sont liés à des facteurs génétiques (parenté entre les colonies), ou à des phénomènes d'apprentissage entre colonies d'un même rucher.

V. Références bibliographiques

- Biesmeijer, J.C., Roberts, S.P.M., Reemer, M., Ohlemüller, R., 2006. Parallel declines in pollinators and insect-pollinated plants in Britain and the Netherlands. *Science* 313, 347–351. doi:10.1126/science.1129551
- Bowen-Walker, P.L., Gunn, A., 2001. The effect of the ectoparasitic mite, *Varroa destructor* on adult worker honeybee (*Apis mellifera*) emergence weights, water, protein, carbohydrate, and lipid levels. *Entomol. Exp. Appl.* 101, 207–217.
- Branco, M.R., Kidd, N.A.C., Pickard, R.S., 2006. A comparative evaluation of sampling methods for *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) population estimation. *Apidologie* 37, 452–461. doi:10.1051/apido:2006010

- Brodtschneider, R., Crailsheim, K., 2010. Nutrition and health in honey bees. *Apidologie* 41, 278–294. doi:10.1051/apido/2010012
- Calis, J. N., Fries, I., & Ryrie, S. C. (1999). Population modelling of *Varroa jacobsoni* Oud. *Apidologie*, 30(2-3), 111-124.
- Chauzat, M.-P., Carpentier, P., Martel, A.-C., Bougeard, S., Cougoule, N., Porta, P., ... Faucon, J.-P. (2009). Influence of pesticide residues on honey bee (Hymenoptera: Apidae) colony health in France. *Environmental Entomology*, 38(3), 514–523.
- Dade, H. A. (1962). Anatomy and dissection of the honeybee. International Bee Research Association.
- Dietemann, V., Nazzi, F., Martin, S.J., Anderson, D.L., Locke, B., Delaplane, K.S., Wauquiez, Q., Tannahill, C., Frey, E., Ziegelmann, B., Rosenkranz, P., Ellis, J.D., 2013. Standard methods for varroa research. *J. Apic. Res.* 52. doi:10.3896/IBRA.1.52.1.09
- Fakhimzadeh, K., 2001. Effectiveness of confectioner sugar dusting to knock down *Varroa destructor* from adult honey bees in laboratory trials. *Apidologie* 32, 139–148.
- Fievet, J., Tentcheva, D., Gauthier, L., De Miranda, J., Cousserans, F., Colin, M.E., Bergoin, M., 2006. Localization of deformed wing virus infection in queen and drone *Apis mellifera* L. *Viol. J.* 3, 16.
- Kralj, J., Fuchs, S., 2006. Parasitic *Varroa destructor* mites influence flight duration and homing ability of infested *Apis mellifera* foragers. *Apidologie* 37, 577–587. doi:10.1051/apido:2006040
- Lee, K.V., Moon, R.D., Burkness, E.C., Hutchison, W.D., Spivak, M., 2010. Practical Sampling Plans for *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) in *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) Colonies and Apiaries. *J. Econ. Entomol.* 103, 1039–1050. doi:10.1603/EC10037
- Macedo, P.A., Wu, J., Ellis, M.D., 2002. Using inert dusts to detect and assess *Varroa* infestations in honey bee colonies. *Fac. Publ. Dep. Entomol.* 174.
- Odoux, J. F., Aupinel, P., Gateff, S., Requier, F., Henry, M., & Bretagnolle, V. (2013). ECOBEE: a tool for long-term bee colony monitoring at landscape scale in West European intensive agrosystems. *Journal of Apicultural Research*.
- Oldroyd, B. P. (1999). Coevolution while you wait: *Varroa jacobsoni*, a new parasite of western honeybees. *Trends in Ecology & Evolution*, 14(8), 312-315.
- Potts, S.G., Biesmeijer, J.C., Kremen, C., Neumann, P., Schweiger, O., Kunin, W.E., 2010. Global pollinator declines: trends, impacts and drivers. *Trends Ecol. Evol.* 25, 345–353. doi:10.1016/j.tree.2010.01.007
- van der Zee, R., Pisa, L., Andonov, S., Brodtschneider, R., Charrière, J.-D., Chlebo, R., Coffey, M.F., Crailsheim, K., Dahle, B., Gajda, A., Gray, A., Drazic, M.M., Higes, M., Kauko, L., Kence, A., Kence, M., Kezic, N., Kiprijanovska, H., Kralj, J., Kristiansen, P., Martin Hernandez, R., Mutinelli, F., Nguyen, B.K., Otten, C., Özkirim, A., Pernal, S.F., Peterson, M., Ramsay, G., Santrac, V., Soroker, V., Topolska, G., Uzunov, A., Vejsnæs, F., Wei, S., Wilkins, S., 2012. Managed honey bee colony losses in Canada, China, Europe, Israel and Turkey, for the winters of 2008-9 and 2009-10. *J. Apic. Res.* 51, 100–114. doi:10.3896/IBRA.1.51.1.12
- vanEngelsdorp, D., Evans, J.D., Saegerman, C., Mullin, C., Haubruge, E., Nguyen, B.K., Frazier, M., Frazier, J., Cox-Foster, D., Chen, Y., Underwood, R., Tarpy, D.R., Pettis, J.S., 2009. Colony Collapse Disorder: A Descriptive Study. *PLoS ONE* 4, e6481. doi:10.1371/journal.pone.0006481
- Wilkinson, D., Smith, G.C., Hutton, S., York, Y., 2002. Modeling the Efficiency of Sampling and Trapping *Varroa destructor* in the Drone Brood of Honey bees (*Apis mellifera*). *Am. Bee J.* 142, 209–209.
- Yang, E.C., Chuang, Y.C., Chen, Y.L., Chang, L.H., 2008. Abnormal foraging behavior induced by sublethal dosage of imidacloprid in the honey bee (Hymenoptera: Apidae). *J. Econ. Entomol.* 101, 1743–1748.

Yang, X., Cox-Foster, D.L., 2005. Impact of an ectoparasite on the immunity and pathology of an invertebrate: evidence for host immunosuppression and viral amplification. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 102, 7470–7475.

Annexe

Annexe 1 : Taux d'infestations moyens et erreurs standard par rucher

Numéro de rucher	28-29 juillet		11-12 août		26-27 août		8-9 septembre		22-23 septembre	
	Moyenne	Erreur standard	Moyenne	Erreur standard	Moyenne	Erreur standard	Moyenne	Erreur standard	Moyenne	Erreur standard
2	0,93	0,534	0,21	0,171	0,82	0,348	0,72	0,352	0,75	0,377
9	2,13	0,707	3,40	1,051	5,98	1,669	8,25	1,993	5,42	1,685
14	1,40	0,395	0,76	0,256	1,74	0,915	2,06	0,765	0,86	0,575
16	0,94	0,097	0,10	0,097	1,99	1,455	2,64	1,851	0,41	0,266
20	1,16	0,947	1,93	0,967	0,68	0,127	0,23	0,127	0,81	0,557
33	5,12	3,652	3,34	2,032	1,82	1,268	0,47	0,332	1,07	0,567
36	3,28	1,699	5,53	2,997	1,11	0,471	0,81	0,352	1,00	0,673
41	2,06	0,633	1,56	0,382	3,14	1,214	0,99	0,419	2,40	0,582
42	5,39	1,666	1,94	0,000	2,58	1,851	0,00	0,000	0,00	0,000
43	1,67	1,436	2,60	2,150	2,27	0,974	0,89	0,314	0,39	0,217