



HAL
open science

Effets de facteurs sociaux sur la résistance de l'abeille *Apis mellifera* au parasite *Nosema ceranae*

Jean-François Houstin Le Boedec

► **To cite this version:**

Jean-François Houstin Le Boedec. Effets de facteurs sociaux sur la résistance de l'abeille *Apis mellifera* au parasite *Nosema ceranae*. Sciences du Vivant [q-bio]. 2010. hal-02816112

HAL Id: hal-02816112

<https://hal.inrae.fr/hal-02816112>

Submitted on 6 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.

Ecole Supérieure d'Agriculture

55, rue Rabelais –B.P.748

94007 ANGERS CEDEX 01

TEL. : 02.41.23.55.55

FAX. : 02.41.23.55.00



UMR 406 Abeilles et

Environnement

Site Agroparc Domaine S^t Paul

84914 Avignon Cedex 09

Maître de stage : Yves Leconte



Effets de facteurs sociaux sur la résistance de l'abeille *Apis mellifera* au parasite *Nosema ceranae*



Source : Laboratoire Biologie et Protection de l'abeille

Jean-François HOUSTIN LE BOEDEC

Promotion 2006-2007

Stage Recherche et Innovation – 2010

Mots clefs : Abeille, *Apis mellifera*, *Nosema ceranae*

Ecole Supérieure d'Agriculture

55, rue Rabelais –B.P.748

94007 ANGERS CEDEX 01

TEL. : 02.41.23.55.55

FAX. : 02.41.23.55.00



UMR 406 Abeilles et

Environnement

Site Agroparc Domaine S^t Paul

84914 Avignon Cedex 09

Maître de stage : Yves Leconte



Effets de facteurs sociaux sur la résistance de l'abeille *Apis mellifera* au parasite *Nosema ceranae*



Source : Laboratoire Biologie et Protection de l'abeille

Jean-François HOUSTIN LE BOEDEC

Promotion 2006-2007

Stage Recherche et Innovation – 2010

Mots clefs : Abeille, *Apis mellifera*, *Nosema ceranae*

Résumé

NOTICE BIBLIOGRAPHIQUE

Auteur : Jean-François HOUSTIN LE BOEDEC

Promotion : 2006-2007

Signalement du rapport : Titre : « Effets de facteurs sociaux sur la résistance de l'abeille *Apis mellifera* au parasite *Nosema ceranae* ». 26 pages, 9 tableaux, 11 figures et illustrations, 37 sources bibliographiques.

Mots-clé : Abeille, *Apis mellifera*, *Nosema ceranae*

RÉSUMÉ D'AUTEUR

PLAN INDICATIF

1. Introduction
2. Matériel & Méthodes
3. Résultats
4. Discussion

BUTS DE L'ETUDE

Etudier les effets du nombre d'abeilles, de la présence de QMP (phéromone mandibulaire de la reine) et de la résistance naturelle au *Varroa* sur la résistance de l'abeille *Apis mellifera* au parasite *Nosema ceranae*.

METHODES & TECHNIQUES

Expériences en laboratoire dans des cagettes avec les différents facteurs. Analyse statistique avec le logiciel XLStat.

RESULTATS

Le *Nosema* augmente la mortalité dans les groupes de 30 et 100 abeilles avec ou sans QMP. La QMP diminue la mortalité des cagettes de 5 abeilles et améliore leur résistance au parasite. Les cagettes de 5 abeilles ont une mortalité plus élevée. Pas d'effets des facteurs sociaux sur la consommation de nourriture, ni sur le nombre de spores. Pas de différence de mortalité et de nombre de spores de *Nosema* entre les ruches naturellement résistantes au *Varroa* et les non résistantes.

CONCLUSIONS

Utiliser des cagettes de 30 abeilles car les cagettes de 100 donnent les mêmes résultats et les cagettes de 5 sont plus sensibles à la mortalité. Les abeilles par petits groupes sont sans doute plus stressées que les groupes plus gros et ont par conséquent besoin de QMP pour survivre.

Abstract

BIBLIOGRAPHIC NOTE

Autor : Jean-François HOUSTIN LE BOEDEC

Promotion : 2006-2007

Description of the report: Title: "Effects of social factors on resistance to the parasite *Nosema ceranae* in the honey bee (*Apis mellifera*)" .26 pages, 9 tables, 11 illustrations, 37 references.

Key words : Honey-bee, *Apis mellifera*, *Nosema ceranae*

AUTOR'S ABSTRACT

INDICATIVE PLAN

1. Introduction
2. Material & Methods
3. Results
4. Discussion

AIMS OF THE STUDY

To study the effects of the number of bees, the presence of QMP (queen mandibular pheromone) and natural resistance towards *Varroa* on resistance to the parasite *Nosema ceranae* in the honey bee (*Apis mellifera*)

MATERIALS & METHODS

Cage experiments in laboratory using the different factors. Statistical analyses using XIStat software.

RESULTS

Nosema increases mortality in cages of 30 and 100 bees, with or without QMP. QMP decreases the mortality of bees in cage of 5 and increases their resistance to the parasite. No effects of social factors on the rate of sugar consumption, nor on the number of spores in the bees. No difference in the mortality or number of spores between the naturally *Varroa*-resistant hives and the non resistant ones.

CONCLUSIONS

Using 30 bees per cage gives the same result as using cages of 100 bees and is less sensitive to mortality than using cages of 5 bees. It is possible that bees in small groups are more stressed than larger groups and therefore need QMP in order to survive.

Remerciements

Dans un premier temps je remercie vivement Yves Leconte, directeur de l'UMR 406 Abeilles et Environnement de l'INRA d'Avignon, pour m'avoir proposé ce stage au sein de son équipe.

Je tiens ensuite chaleureusement à remercier les équipes des trois laboratoires de l'UMR 406 Abeilles et Environnement avec qui j'ai passé 3 mois des plus enrichissants, aussi bien sur les plans professionnel que personnel. Ils m'ont fait découvrir le monde fascinant des abeilles et prendre conscience de leur importance pour la biodiversité et notre société.

Je remercie plus particulièrement l'équipe du laboratoire biologie et protection de l'abeille avec qui j'ai travaillé ces trois mois. L'équilibre d'une ambiance détendue et d'une efficacité au travail a fait de ce stage une très bonne découverte du monde de la recherche. Je remercie ainsi entre autres Cynthia McDonnell, Cédric Alaux, Alban Maisonnasse et Yves LeConte pour leurs explications et leur spontanéité à partager avec moi leur passion et métier qu'est la recherche sur les abeilles.

Je remercie aussi les apiculteurs, les techniciens, les stagiaires et toutes les autres personnes avec qui j'ai passé de très bons moments à la fois sur le terrain et dans les laboratoires et qui ont tous su apporter leur contribution dans ma découverte du monde des abeilles.

Sigles et abréviations

BEEDOC : Projet européen (cf page 2)

CCD : Colony Collapse Disorder (syndrome d'effondrement des colonies)

« Con » dans tableaux/figures : Contrôle/témoin

INRA : Institut National de Recherche Agronomique

« N » et « Nos » dans tableaux/figures : *Nosema*

NT : non testé

OGM : Organisme Génétiquement Modifié

PACA : Région Provence Alpes Côte d'Azur

« Q » dans tableaux/figures : QMP

QMP : Queen Mandibular Pheromone (phéromone mandibulaire de la reine)

QRP : Queen Retinue Pheromone (phéromone de cour royale)

UAPV : Université d'Avignon et des Pays du Vaucluse

UMR : Unité Mixte de Recherche

XXX+/YYY- : Traitement positif (présent)/ traitement négatif (non présent)

Liste des figures et illustrations

<u>Figure 1:</u> Cagette de 30 abeilles	p.11
<u>Figure 2:</u> Broyeur Fritsch pulverisette 23	p.13
<u>Figure 3:</u> Spores de <i>Nosema</i> sur 4 des carreaux d'une cellule de Malassez	p.13
<u>Figure 4:</u> Abeille nourrie à la solution sucrée contenant du Nosema (Source Aurélie Baldy)	p.14
<u>Figure 5:</u> Proportion de mortalité des différentes modalités et leur regroupement	p.17
<u>Figure 6 :</u> Pourcentage de mortalité cumulative dans les cagettes de 5 abeilles	p.18
<u>Figure7 :</u> Pourcentage de mortalité cumulative dans les cagettes de 30 abeilles	p.18
<u>Figure 8 :</u> Pourcentage de mortalité cumulative dans les cagettes de 100 abeilles	p.18
<u>Figure 9 :</u> Nombre de spores par abeille des différentes modalités et leur regroupement	p.20
<u>Figure 10:</u> Mortalité et nombre de spores pour les ruches résistantes et non résistantes	p.21
<u>Figure 11:</u> Consommation moyenne quotidienne par abeille suivant les traitements	p.24

Liste des tableaux

<u>Tableau 1:</u> Tableau des hypothèses de travail	
(Expérience <i>Nosema</i> -QMP-taille de groupe)	p.10
<u>Tableau 2:</u> Tableau de l'hypothèse de travail	
(Expérience <i>Nosema</i> – Résistance <i>Varroa</i>)	p.10
<u>Tableau 3:</u> Tableau de répartition des cagettes	p.12
<u>Tableau 4:</u> Résultats de l'ANOVA mortalité	
Expérience <i>Nosema</i> -QMP-Nombre d'abeille	p.16
<u>Tableau 5:</u> Résumé ANOVA Expérience consommation de nourriture	p.19
<u>Tableau 6 :</u> Résultat de l'ANOVA nombre de spores	
Expérience <i>Nosema</i> -QMP-Nombre d'abeilles	p.20
<u>Tableau 7:</u> Résultat test de Fisher modalités QMP* <i>Nosema</i>	p.22
<u>Tableau 8:</u> Tableau des résultats (Expérience <i>Nosema</i> -QMP-Taille de groupe)	p.26
<u>Tableau 9 :</u> Tableau des résultats (Expérience <i>Nosema</i> – Résistance <i>Varroa</i>)	p.26

SOMMAIRE

Résumé & Abstract

Remerciements

Sigles et abréviations

Liste des Figures et illustrations

Liste des tableaux

1. INTRODUCTION	1
1.1. Une question d'actualité	1
1.2. L'Inra et l'UMR 406	1
1.3. Un point sur les connaissances actuelles	2
1.3.1. L'état actuel des populations d'abeilles dans le monde	2
1.3.2. Zoom sur le <i>Nosema ceranae</i>	4
1.3.3. Les phéromones et la QMP	7
1.4. Reformulation de la question et hypothèses	9
2. MATÉRIEL ET MÉTHODES	11
2.1. Effet de facteurs sociaux (QMP et nombre d'abeilles) sur la résistance au parasite <i>Nosema ceranae</i>	11
2.1.1. Effet sur la mortalité	14
2.1.2. Effet sur la consommation de nourriture par abeille.....	14
2.1.3. Effet sur le nombre de spores	14
2.2. Effet de la résistance naturelle au <i>Varroa destructor</i> de certaines ruches sur le développement du parasite <i>Nosema ceranae</i>	15

3. RÉSULTATS	16
3.1. Effet de facteurs sociaux (QMP et nombre d'abeilles) sur la résistance au parasite <i>Nosema ceranae</i>	16
3.1.1. Effet sur la mortalité	16
3.1.2. Effet sur la consommation de nourriture par abeille.....	19
3.1.3. Effet sur le nombre de spores	20
3.2. Effet de la résistance naturelle au <i>Varroa destructor</i> de certaines ruches sur le développement du parasite <i>Nosema ceranae</i>	21
4. DISCUSSION	22
4.1. Effet de facteurs sociaux (QMP et nombre d'abeilles) sur la résistance au parasite <i>Nosema ceranae</i>	22
4.1.1. Effet sur la mortalité	22
4.1.2. Effet sur la consommation de nourriture par abeille.....	23
4.1.3. Effet sur le nombre de spores	24
4.2. Effet de la résistance naturelle au <i>Varroa destructor</i> de certaines ruches sur le développement du parasite <i>Nosema ceranae</i>	25

Bibliographie

Annexe: réflexion personnelle sur la recherche

1. INTRODUCTION

1.1. Une question d'actualité

S'il est de notoriété publique que nous faisons aujourd'hui face à un déclin des abeilles sans précédent à travers le monde, nous reprenons conscience par la même occasion de l'importance de ses dernières. Les abeilles jouent en effet un rôle essentiel dans la pollinisation des plantes cultivées et la conservation de la biodiversité des écosystèmes naturels. Plusieurs hypothèses ont été avancées pour expliquer ce déclin massif mais l'une d'entre elle semble retenir de plus en plus l'attention des chercheurs : la corrélation de facteurs de mortalité qu'ils soient virus, parasites, pesticides ou autres. A ce jour, seuls quelques travaux ont été menés sur ce sujet. Par conséquent, face à ce manque d'information, de nombreuses études sont encore nécessaires afin d'explorer cette hypothèse et peut-être trouver des solutions.

1.2. L'Inra et l'UMR 406

L'Institut national de la recherche agronomique (Inra) est un organisme de recherche scientifique publique placé sous la double tutelle du Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche et du Ministère de l'Agriculture et de la Pêche. Ses recherches nationale et internationale portent sur une agriculture compétitive et durable, une alimentation de qualité et une protection de l'environnement adaptées au monde d'aujourd'hui (site web INRA PACA).

L'un des pôles de l'Inra de Provence-Alpes- Côte d'Azur, le pôle « adaptation au changement global », regroupe des laboratoires de l'INRA et de l'université d'Avignon et des Pays de Vaucluse (UAPV). Il a pour but d'étudier l'impact de l'utilisation des terres et du changement climatique sur la biodiversité des écosystèmes naturels et cultivés, sur la productivité et les ressources en eau. La zone cible est limitée à la Méditerranée (site web INRA PACA).

L'une de ses unités phares est l'unité mixte de recherche « Abeilles et environnement » (UMR 406). Cette unité a pour but d'étudier les causes du déclin des populations d'abeilles dans le monde et l'impact de celui-ci sur la biodiversité. Ce travail se situe dans le contexte des fortes mortalités d'abeilles observées à travers le monde. Trois axes de recherche sont développés dans l'unité: (1) La régulation sociale des abeilles domestiques, et ses rapports avec les bio-agresseurs, (2) Les interactions plantes-abeilles en terme de pollinisation, qualité des productions végétales et maintien de la biodiversité, (3) la toxicologie liée aux polluants

d'origines agricoles et anthropiques (site web INRA PACA). Le directeur de cette unité, Yves Leconte, est mondialement reconnu comme un expert dans la biologie de l'abeille pour entre autre ses recherches sur l'une des principales causes de mortalité connues à ce jour, l'acarien parasite *Varroa destructor*. L'unité souffre quant à elle d'une très bonne réputation dans le monde de la recherche apicole internationale de part la qualité du travail de ses chercheurs. A travers ses publications scientifiques et sa présence aux différents colloques internationaux, l'UMR 406 maintient sa place parmi les leaders mondiaux de la recherche sur les abeilles.

Le laboratoire dans lequel j'ai travaillé, le laboratoire de biologie et protection de l'abeille (axe 1), est pour sa part composé à ce jour de deux post-doctorants, trois doctorants, 2 techniciens et plusieurs stagiaires. Durant mon stage j'aurais ainsi principalement aidé Cynthia McDonnell (Doctorat en entomologie, University of Illinois) réalisant son post-doctorat à l'UMR 406. Son travail porte sur l'hypothèse du projet européen BEEDOC de la corrélation de plusieurs facteurs. Ce projet rassemble 11 partenaires européens autour de l'identification des maladies et parasites affectant les abeilles et de l'explication éventuelle de l'accroissement des mortalités. Durant mes 3 mois de stage j'ai donc essayé d'apporter ma contribution à Cynthia McDonnell. Nous avons ainsi étudié l'effet de facteurs sociaux (phéromone, nombre d'ouvrières) sur la résistance au parasite *Nosema ceranae*. A côté de cette étude nous avons aussi étudié l'effet éventuel de la résistance naturelle au *Varroa* de certaines ruches sur le développement du *Nosema*.

1.3. Un point sur les connaissances actuelles

1.3.1. L'état actuel des populations d'abeilles dans le monde

La reproduction d'une grande partie des plantes angiospermes et gymnospermes passe par la pollinisation, qu'elle soit entomophile (insectes), anémophile (vent), ornithophile (oiseaux) ou encore cheiroptérophilie (chauve-souris). Et c'est la pollinisation par les insectes, avec majoritairement les insectes sociaux (abeilles, bourdons, etc), qui est la plus importante puisque la production de 84% des espèces cultivées en Europe dépend directement des insectes pollinisateurs. La même étude a trouvé que 87 cultures sur les 124 utilisées pour la consommation humaine mondiale, soit 70%, sont dépendantes des pollinisateurs (Klein et Al. 2007). Une autre étude récente a estimé la contribution mondiale de la pollinisation à 153 milliards d'euros, soit 9.5% de la valeur de la production mondiale de denrées pour les humains en 2005. Cette contribution globale a été estimée en évaluant d'une part la valeur économique

de la contribution de la pollinisation des insectes au rendement de l'agriculture, et, d'autre part, la vulnérabilité de l'agriculture mondiale en cas de déclin des pollinisateurs. Mais même si cette étude montre l'importance économique de la pollinisation entomophile, surtout pour les pays de l'hémisphère nord, elle ne peut être considérée comme un scénario puisqu'aucune réponse stratégique du marché n'y est prise en compte (Gallai 2009). On peut cependant grâce à cette étude et quelques autres calculer de manière approximative la valeur économique des services de pollinisation à un niveau national (Gallai FAO 2009). La pollinisation est ainsi l'un des principaux services écosystémiques menacés à l'heure actuelle aussi bien pour l'économie de l'agriculture, que pour la protection de la biodiversité, ou encore pour les bénéfices autres tels que le miel, la cire ou encore la pollinisation des fleurs de particuliers (Southwick, E. E. & Southwick Jr, L. 1992). De nombreuses recherches sont encore à effectuer pour voir l'importance de ces derniers services.

S'il est connu depuis plusieurs décennies que les abeilles sauvages et domestiques sont en déclin (Potts et al., 2010 ; Jaffé et al., 2009) une chute importante des activités apicoles ces dernières années est apparue, principalement due à l'intensification des pratiques culturales, à l'utilisation des pesticides et à l'apparition et au développement de nombreuses maladies et parasites (Genersch & Al 2009). Les phénomènes périodiques de grandes pertes de colonies d'abeilles domestiques (*Apis mellifera*) ne sont pas rares dans l'histoire avec par exemple les grandes mortalités en 950, 992 et 1443 en Irlande (Flemming, 1871), la maladie de l'île de Whight en Angleterre au début des années 1900 (Rennie et al., 1921) ou encore la « maladie de la disparition » aux Etats-Unis dans les années 1960-1970 (Wilson and Menapace, 1979).

La plus récente addition à cette liste nous vient des Etats-Unis en 2007 avec une nouvelle menace nommée le Colony Collapse Disorder (CCD). Cette nouvelle menace est double puisque outre la grande mortalité qu'elle reflète, 30-40% des ruches meurent chaque année au lieu des 10% habituels après l'hiver, sa cause est totalement inconnue puisque les corps ne sont pas retrouvés et qu'aucune trace de maladie n'est visible. Nourriture et couvain étant abondants dans les ruches il semblerait donc que les ouvrières meurent subitement pendant leur collecte de pollen dans les champs (Oldroyd. BP. 2007). Parmi les explications possibles nous avons les maladies et les parasites, les pesticides issus de l'agriculture, les traitements chimiques appliqués par les apiculteurs sur leurs ruches, les modifications de pratiques culturales et enfin les Organismes Génétiquement Modifiés (OGM). Les chercheurs et les apiculteurs savent que les abeilles domestiques sont très sujettes aux maladies et aux parasites, seulement les symptômes de ces maladies sont relativement bien connus et on ne les

retrouve pas dans les colonies atteintes de CCD. Quant aux effets des pesticides, traitements chimiques et OGM, on ne connaît pas encore assez leurs effets pour déterminer précisément leur éventuelle implication (VanEngelsdorp, D. 2009).

Si tous ces facteurs seuls peuvent montrer des symptômes correspondants au CCD il apparaît évident aux yeux des chercheurs et des professionnels qu'ils ne sont pas suffisants chacun de leur côté à l'expliquer mais que c'est plutôt une synergie de plusieurs d'entre eux qui pourrait être à l'origine de ce phénomène. De même, des moyens de détection du CCD avant le stade visible au niveau de la colonie (comme cela se fait aujourd'hui) apparaissent indispensables car une fois le niveau de la colonie atteint il est souvent trop tard pour y remédier.

1.3.2. Zoom sur le *Nosema ceranae*

Le parasite microsporidien intracellulaire *Nosema apis* est connu depuis longtemps puisqu'il a été isolé par Zander (1909) chez l'abeille européenne utilisée pour l'apiculture (*Apis mellifera*). Mais depuis quelques années, le parasite *Nosema ceranae*, qui n'était alors connu que sur l'espèce asiatique *Apis cerana*, est apparu chez l'espèce *Apis mellifera* où il a été reporté pour la première fois en 2005 (Huang et al., 2007). Ce n'est pas surprenant du fait que de nombreuses microsporidies sont capables d'exploiter plusieurs hôtes (Fries 2009). La maladie causée par *N.ceranae* est aujourd'hui appelée nosemose type C et est considérée comme l'une des menaces majeures pour les colonies d'abeilles (COLOSS workshop, 2009).

A la vue d'une telle dispersion mondiale, des recherches ont supposé un processus de remplacement de *N. apis* par *N. ceranae* (Paxton et al. 2007). Cela impliquerait que *N.ceranae* soit plus virulent et plus mortel comme cela a été montré par une expérience de Higes et al (2007) où 94.1% des abeilles étaient mortes après 1 semaine d'infection (10^5 spores) dans 3 cages de réplifications, et où toutes sont mortes au 8^{ème} jour. Mais une étude récente tend à démontrer qu'il n'y a ni différence de mortalité ni différence d'avantage compétitif entre les deux (Forsgren & Fries, 2010). La transmission et la virulence d'un pathogène sont liées par un équilibre (Frank and Schmid-Hempel, 2008). Dans l'étude de Forsgren & Fries, il a été montré que même si les spores se développent moins vite avec *N.ceranae* en début d'infection il n'en reste pas moins que le total de spores au bout du douzième jour est le même chez les deux parasites, d'où leur conclusion que la multiplication de spores chez *N.ceranae* n'est pas plus rapide. Mais là encore les conclusions n'ont pas à être prises trop vite puisque d'autres études

avancent le contraire, c'est à dire une multiplication plus rapide de spores chez *N.ceranae* (Martin-Hernandez et al, 2009). Les conditions d'expérimentation sont mises en avant pour expliquer ces différences dans les études (dose d'infection, température, analyse de certaines parties du corps, etc), tout comme les différences de climat. Ainsi, l'une des dernières études sur le sujet montre que si les deux parasites ont un potentiel biotique similaire à 33°C, il apparait clairement qu'à 25 et 37°C celui-ci est plus élevé chez *N.ceranae*, lui permettant de finir son cycle de vie, d'où une plus grande adaptation de cette espèce aux changements de température environnementale. Cela expliquerait les différences épidémiologiques sur le terrain et sa plus grande répartition dans le monde (Higes et al. 2010).

Il semblerait que l'infection par *N.ceranae* augmente le besoin de nourriture et entraîne par conséquent une espérance de vie réduite en absence de nourriture suffisante. Cela serait dû à un stress énergétique causé par le parasite qui, dépendant de son hôte, exerce sur lui un stress énergétique (Mayack et Naug 2008). Outre l'éventuelle augmentation de mortalité, des répercussions importantes au niveau de la colonie pourraient se manifester. Mais des études ont encore à être réalisées sur ce sujet car beaucoup de questions et d'incertitudes demeurent sur le comportement social des abeilles. Par exemple, *N.ceranae* entraîne-t-il un partage accru de nourriture via trophallaxie par plus de recherche de nourriture de la part des abeilles affamées et donc une plus grande transmission du parasite ? Ou bien, moins de partage causé par une certaine avarice des abeilles ayant réussi à trouver de la dite nourriture, et par conséquent un réseau social au sein de la ruche affaibli ? (Naug & Gibbs 2009).

Des recherches commencent à être menées sur les effets du *Nosema* quand celui-ci est associé à d'autres éléments pathogènes, que ce soit des parasites, virus ou insecticides dans l'espoir de comprendre des phénomènes tel que le CCD où l'hypothèse d'une synergie entre plusieurs facteurs prévaut. Par exemple, l'imidaclopride qui est un insecticide systémique de la famille des neonicotinoïdes très utilisé sur les cultures dans le monde entier, et qui est soupçonné d'être la cause de pertes importantes en France (Doucet-Personeni et al., 2003), a été testé sur des abeilles infectées au *Nosema* dans une récente étude de l'UMR 406 (Alaux C. et al. 2009). Il en ressort que l'interaction entre les deux affecte grandement la santé des abeilles en diminuant l'activité de la glucose oxydase, enzyme qui permet aux abeilles de stériliser la nourriture de la colonie et du couvain. Ce genre d'étude est intéressant en lui-même, mais il ne sert pas à grand-chose sans ses futurs éventuels homologues avec d'autres insecticides et pathogènes qui restent encore à faire. Beaucoup de moyens (financier et monétaire) sont donc encore nécessaires pour voir les corrélations de divers facteurs avec le

Nosema. Mais l'ampleur de la tâche est grande, puisque pour élucider la cause du CCD il faudrait faire ce genre d'étude pour tous les facteurs soupçonnés. Par exemple, si on prend les principales causes de mortalité à ce jour visées par les programmes de recherche communs, à savoir 2 parasites (*Varroa destructor* et *Nosema*), 3 virus (Deformed Wing Virus (DWV), Black Queen Cell Virus (BQCV) et Israel Acute Paralysis Virus (IAPV)), 1 bactérie (American foulbrood) et enfin les 2 gros groupes de pesticides (Thiacloprid du groupe des neonicotinoids, et t-fluvinat du groupe des pyrethroids) on arrive déjà à 56 expériences pour juste des tests 2 à 2. Et cela n'est qu'un minimum puisque dans l'idéal il faudra ensuite les tester à 3, 4 voir plus en même temps, puis les autres maladies actuelles et peut être futures, but utopique certains diront... Pendant mon stage nous avons testé en laboratoire l'effet du *Nosema ceranae* sur des colonies résistantes naturellement au *Varroa* (mortalité et développement des spores). Leur comportement hygiénique, vraisemblablement responsable de cette résistance, est en fait la détection par les ouvrières de la famille *Varroa* dans les alvéoles parasitées puis la destruction de celles-ci. Les chercheurs portent un intérêt particulier à ces colonies comme on peut aisément s'en douter. Puisque des données préliminaires indiquent que ces ruches sont faiblement infectées par *Nosema* nous avons voulu savoir si ces mêmes abeilles s'avèraient plus résistantes au *Nosema*, et donc renforcer l'intérêt de ces colonies.

Pour conclure cette introduction au parasite *Nosema ceranae*, on peut dire que ce parasite a causé durant la dernière décennie une pandémie parmi les abeilles, causant un problème de santé majeur aussi bien au niveau de l'individu que de la colonie. Encore trop peu de choses sont connues concernant ses facteurs épidémiologiques et ses symptômes cliniques de par delà le monde où conditions d'élevage et climat sont différents. Des études ont donc encore à être menées pour comprendre et peut être gérer la nouvelle menace qu'est le *Nosema ceranae*. Pour certains, ce parasite pourrait être aujourd'hui au même stade que le fut le *Varroa destructor* au début du 20^{ème} siècle, à savoir non considéré comme une maladie car ne tuant pas à lui seul, alors qu'au final cet acarien est aujourd'hui reconnue comme la maladie majeure de l'abeille *Apis mellifera* (Le conte & al Apido 2010). Mais de nombreux chercheurs pensent le contraire à propos de *Nosema* comme Mayack & Naug (2008) qui dans leur article avancent l'hypothèse que ce parasite soit l'une des explications à l'absence de cadavres d'abeilles autour des ruches atteintes de CCD, et donc l'un des facteurs majeurs de ce phénomène. En effet *Nosema ceranae* aurait un tel impact énergétique sur les abeilles que celles-ci seraient obligées pour survivre d'aller chercher de la nourriture bien plus loin qu'à l'habitude, si loin qu'elles n'arriveraient pas à revenir et mourraient pendant leur quête.

Ainsi, de plus en plus de laboratoires tentent d'analyser les effets pathologiques de *Nosema*, mais souvent avec des résultats contradictoires (voir ci-dessus). Les expériences menées sur des abeilles en cagettes sont réalisées avec des nombres d'individus différents ou l'ajout de phéromone (pour simuler le plus possible les conditions de la ruche) ou non. Il est donc indispensable de standardiser ces tests que ce soit pour le *Nosema* ou autres études pathologiques ou toxicologiques. Durant ce stage nous avons analysé les effets de facteurs sociaux comme le nombre d'ouvrières et la présence ou non de phéromone. Cette étude a donc un intérêt double, au niveau appliqué (besoin de standardiser des tests) et au niveau fondamental (rôle de facteurs sociaux sur la résistance aux pathogènes). Dans notre expérience principale, en plus de mesurer la mortalité due au *Nosema* (et donc aussi le nombre de spores), nous avons mesuré la nourriture ingérée par les abeilles pour voir s'il y avait des variations suivant l'infection ou non, la présence ou non d'une phéromone et le nombre d'abeilles dans les cagettes. Le nombre d'abeille devrait avoir un effet sur la longévité. Dans sa thèse, Arnold G. explique ce phénomène par « l'effet de groupe » : « c'est l'ensemble des réactions anatomiques, physiologiques ou éthnologiques que l'individu manifeste à la suite d'une stimulation sensorielle émanant de ses congénères, agissant en tant que source d'excitation spécifique. » (1976).

1.3.3. Les phéromones et la QMP

Les insectes sociaux tels que les abeilles sont doués d'une communication aussi inattendue qu'évoluée. Cette communication au sein de la colonie a lieu entre autre sous forme de phéromones. Une phéromone est une substance chimique sécrétée par la glande exocrine d'un animal qui suscite une réponse comportementale et/ou physiologique d'un autre animal de la même espèce (Free J.1987). Chaque phéromone est spécifique suivant son rôle, son émetteur et le moment de sa libération. Toutes les phéromones chez l'abeille n'ont pas encore été identifiées précisément, même si l'on sait qu'elles existent à cause de comportements encore inexplicables qui ne peuvent qu'être induits par ces dernières. Cependant, on peut toujours citer de manière non-exhaustive les principales connues à ce jour, à savoir : la phéromone d'alarme émise par les ouvrières pour la défense de la ruche, la phéromone d'attraction par la glande de Nasonov des ouvrières pour la cohésion de la colonie pendant l'essaimage, la phéromone de couvain émise par les larves pour la régulation de l'activité de butinage, ou encore la phéromone de cour royale (QRP) émise par la reine (Slessor K.N. 2005). Chacune de ces phéromones est composée d'un ou plusieurs composés chimiques. Par exemple la QRP a 9 composants connus, dont 5 forment la QMP (Queen Mandibular Pheromone).

Cette phéromone, la phéromone mandibulaire de la reine (QMP), qui comme son nom l'indique est produite dans les glandes mandibulaires de la reine, a plusieurs rôles. Tout d'abord elle attire les jeunes ouvrières et incite celles-ci à prendre soin de leur reine en la nourrissant, la nettoyant, etc... Une autre de ses fonctions est d'inhiber l'activation des ovaires des ouvrières pour monopoliser le ponte (les ouvrières non fécondées ne produisant que de mâles haploïdes) et ainsi faire perdurer la colonie. Résistance à la diète (Fischer P. 2008) et régulation de la construction des cellules (Ledoux M.N. 2000) font parties des quelques autres fonctions données à cette phéromone. Mais là encore la compréhension du système des phéromones chez l'abeille est complexe puisque il a été montré dernièrement qu'une reine sans mandibules a certains effets identiques sur la colonie, d'où la possible présence de nouvelles phéromones chez la reine à découvrir (Maisonnasse A., 2010).

D'après une étude de Dussaubat C. et al (2010) le parasite *Nosema* influence la production de certaines phéromones comme l'oléate d'éthyle. Cette phéromone modificatrice émise par les ouvrières pour la régulation de la division du travail (nourrices, nettoyeuses, butineuses) voit sa production altérée en présence du parasite (augmente ici), d'où un possible dérèglement de la cohésion de la colonie avec un début précoce de butinage. Avec un niveau d'oléate d'éthyle corrélé au niveau d'infection on peut s'interroger sur la relation phéromone-parasite. Ainsi, l'un des objectifs de l'expérience principale à laquelle j'ai participé était de voir si inversement une phéromone pouvait avoir un effet sur le développement du *Nosema*, dans notre cas la QMP. Le dernier lien entre la QMP et le *Nosema* dans notre expérience consistait à voir si, comme Fischer P. & Grozinger C.M. l'avait soupçonné en 2008, la QMP pouvait avoir un effet sur la résistance à la famine chez l'abeille infectée par le *Nosema ceranae* par une consommation inférieure de nourriture que celle sans QMP.

1.4. Reformulation de la question et hypothèses

Comme on l'a vu précédemment, les causes de mortalité des abeilles domestiques et sauvages sont multiples et variées. S'il on connaît à peu près chacune d'entre elles séparément, leur synergies éventuelles le sont beaucoup moins. Or, dans le contexte du Colony Collapse Disorder (CCD) très présent dans tout l'hémisphère nord, une corrélation de plusieurs facteurs ne peut qu'être l'explication à ce phénomène, à moins qu'un pathogène encore non identifié en soit la cause. Durant mon stage je me suis principalement penché sur le parasite unicellulaire *Nosema ceranae*, l'un des axes de recherche principaux de l'UMR 406 à l'heure actuelle. La problématique de la post-doctorante que j'ai aidée est de savoir si la QMP et le nombre d'abeilles en cagettes ont un effet sur la résistance au parasite *Nosema ceranae* chez son hôte, via la mortalité, le nombre de spores et la consommation de nourriture. En parallèle j'ai aussi étudié l'effet du *Nosema* sur des ruches naturellement résistantes au *Varroa* pour voir si leur adaptation naturelle pourrait avoir un effet sur le développement du parasite et la mortalité des abeilles.

Les hypothèses de travail sont résumées dans les deux tableaux suivants (tableaux 1 et 2) pour plus de clarté. Elles seront confirmées, infirmées, nuancées et/ou précisées suivant les résultats dans la partie « 4. DISCUSSION » avec les tableaux 8 et 9 page 26.

Tableau 1: Tableau des hypothèses de travail (Expérience Nosema-QMP-taille de groupe)

Traitements			Effets		
Infection avec <i>Nosema</i>	Phéromone	Nombre d'ouvrières	Mortalité	Nombre de spores	Nourriture consommée par abeille
<i>Nosema +</i>	QMP+	5	++	++	++
		30	+	+	+
		100	-	-	-
	QMP-	5	+++	+++	+++
		30	++	++	++
		100	+	+	+
<i>Nosema -</i>	QMP+	5	+	+	+
		30	-	-	-
		100	-	-	-
	QMP-	5	++	++	++
		30	+	+	+
		100	-	-	-

Tableau 2: Tableau de l'hypothèse de travail (Expérience Nosema – Résistance Varroa)

Traitements			Effets	
Infection avec <i>Nosema</i>	Type de ruche	Nombre d'ouvrières	Mortalité	Nombre de spores
<i>Nosema+</i>	Naturellement résistante au <i>Varroa</i>	30	-	-
<i>Nosema+</i>	Non résistante au <i>Varroa</i>	30	+	+

2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.1. Effet de facteurs sociaux (QMP et nombre d'abeilles) sur la résistance au parasite *Nosema ceranae*

Pour mesurer les effets éventuels de la QMP et du nombre d'abeilles sur la résistance au parasite *Nosema ceranae* nous avons utilisé des abeilles naissantes d'*Apis mellifera*. Ces abeilles proviennent de certaines ruches de l'INRA choisies par le laboratoire car non atteintes par la parasite.

Les abeilles, alors encore au stade nymphal, sont prélevées dans les ruches la veille du début de l'expérience pour qu'elles soient âgées de moins d'1 jour au début de l'expérience. Les cadres ainsi prélevés sont stockés dans une étuve à 34°C et 61% d'humidité pour permettre aux abeilles de naître.

Le jour J les abeilles naissantes sont réparties dans des cagettes suivant leur nombre, leur éventuelle infection au *Nosema* et la présence ou non de QMP dans les cagettes. Les abeilles sont réparties pour notre expérience en cagette de 5, 30 ou 100 (Fig 1.).

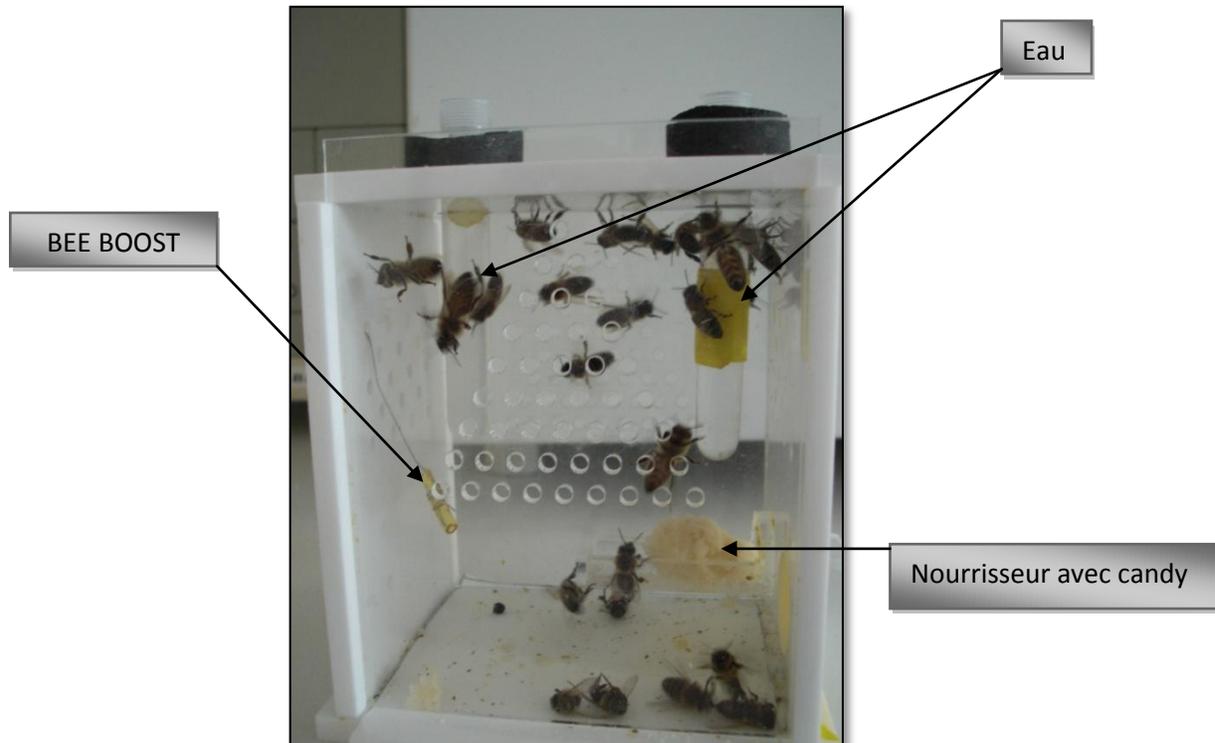


Figure 3: Cagette de 30 abeilles

Trois variables ont été testées : présence ou non de QMP, infection ou non au *Nosema* et enfin nombre d'ouvrières (n = 5, 30 ou 100 abeilles), ce qui a donné un plan expérimental avec 12 groupes. Pour chacun de ces groupes nous avons réalisé 8 à 12 réplifications, soit un total de 4640 abeilles pour l'expérience (voir tableau 3). De l'eau et de la nourriture (appelée « candy » = sucre + miel) sont mis à disposition *ad libitum* dans des nourrisseurs (Fig.1).Chacune de ces cagettes est numérotée de 1 à 120 puis mélangée avec les autres dans 2 étuves différentes afin que l'expérience soit réalisée en aveugle. Seule une distinction sur la présence de QMP ou non est faite car nous devons mettre les cagettes avec QMP dans une étuve différente pour que la phéromone (volatile) ne passe pas aux abeilles des cagettes sans QMP. Le tableau ci-dessous résume cette répartition :

Tableau 3: Tableau de répartition des cagettes

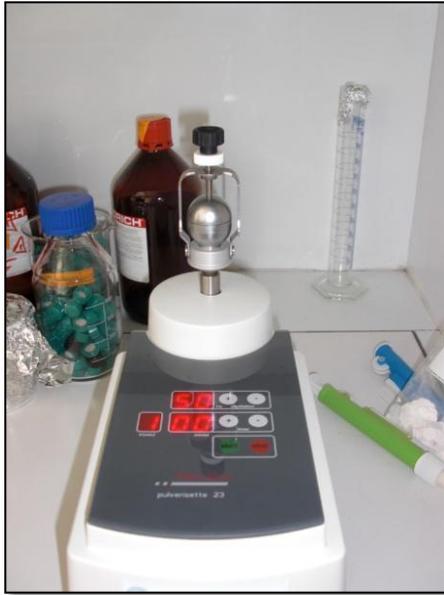
Nombre d'abeilles	QMP	Nosema	Nombre de réplifications
5	0	0	12
5	0	1	12
5	1	0	12
5	1	1	12
30	0	0	10
30	0	1	10
30	1	0	10
30	1	1	10
100	0	0	8
100	0	1	8
100	1	0	8
100	1	1	8

0 = témoin 1 = traitement

La QMP est incorporée aux cagettes sous forme de bâtonnet nommé BEEBOOST (Pherotech, British Columbia, Canada) (Fig.1). Ce bâtonnet en plastique contient une certaine quantité de phéromone royale des glandes mandibulaires de la reine (QMP) et a donc pour effet de remplacer partiellement la reine.

La parasite *Nosema ceranae* est quant à lui inoculé aux abeilles via une solution sucrée avec laquelle on les nourrit individuellement le jour J. Pour ce faire, des spores de *Nosema ceranae* sont isolées à partir d'abeilles connues pour être très infectées (une expérience précédente, une ruche infectée, etc...). Plusieurs protocoles sont possibles et utilisés par le laboratoire mais je ne vais décrire ici que celui nous avons utilisé.

Ainsi, nous avons prélevé 10 abdomens d'abeilles infectées (tuées auparavant par congélation : 30 min à -20°C), puis nous les avons broyés grâce au broyeur « Fritsch pulverisette 23 » (Fig.2). Les abdomens sont mis dans la petite sphère métallique avec 2 ml d'eau distillée puis on broye pendant environ 10 secondes à 50 oscillations/seconde. Le contenu de la sphère est mis à filtrer avec du papier Whatman n°4 pendant environ 2h dans un tube gradué. On complète le filtrat

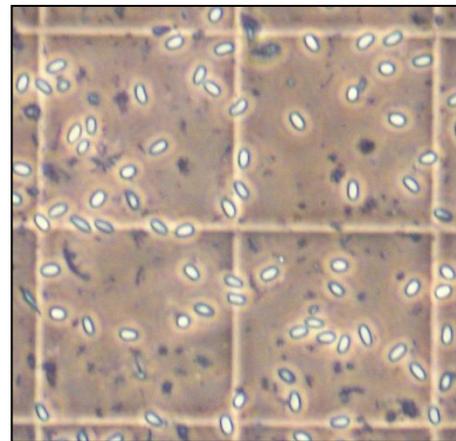


**Figure 2: Broyeur Fritsch
Pulverisette 23**

avec de l'eau distillée jusqu'à 10 ml puis on centrifuge une première fois le tube à 800g pendant 6 min. Le surnageant est éliminé et le culot est remis en suspension avec 10 ml d'eau distillée. On centrifuge une seconde fois puis on élimine à nouveau le surnageant et on rajoute les 10 ml.

On prélève alors 15 microlitres que l'on dépose sous la lamelle d'un hémocytomètre (cellule de Malassez) puis on compte les spores de *Nosema*. La cellule de Malassez permet le comptage par son quadrillage spécifique (Fig.3). Une fois le nombre de spores estimé on recentrifuge le tube et on enlève le surnageant.

Les spores sont finalement re-suspendues une dernière fois dans du sirop (50% eau - 50% sucre). Le volume de sirop ajouté est calculé suivant le nombre estimé de spores présentes dans le tube et la concentration de spores souhaitée pour le nourrissage (ici 100 000 spores par abeille). Cette charge de spores est connue comme induisant une infection chez les abeilles (Forsgren & Fries, 2010; Alaux et al., 2010).



**Figure 3: Spores de *Nosema* sur 4 des carreaux
d'une cellule de Malassez**

Le nourrissage proprement dit est réalisé à l'aide d'une pipette grâce à laquelle on donne à chaque abeille 2 microlitres de solution via son proboscis (langue) (Fig.4). Une fois nourries, les abeilles sont mises à l'étuve et l'expérience peut commencer. Les premiers jours les abeilles mortes sont remplacées et non comptabilisées car mortes à cause des manipulations (prélèvements, stress, nourrissage), une petite semaine est nécessaire pour équilibrer les choses.

2.1.1. Effet sur la mortalité

Pour mesurer la mortalité des abeilles durant l'expérience nous avons vérifié les cagettes chaque jour. Les abeilles mortes sont enlevées quotidiennement et comptabilisées. Nous avons comptabilisé les abeilles mortes pendant 3 semaines. La mortalité sera analysée sous forme de moyenne par cagette et par groupe, et de progression en fonction du temps.



Figure 4: Abeille nourrie à la solution sucrée contenant du Nosema (source Aurélie Baldy)

2.1.2. Effet sur la consommation de nourriture par abeille

Durant les deux dernières semaines de comptage nous avons mesuré la quantité de nourriture consommée par abeille dans 48 cagettes (4 par combinaison de traitement). Pour ce faire nous avons mis 10 grammes de candy (20% miel, 80% sucre glace) dans des nourrisseurs propres au début de ces 2 semaines : 1 nourrisseur par cagette pour les boîtes de 5 et 30, 2 nourrisseurs pour les boîtes de 100. Puis, chaque jour, nous avons pesé ces nourrisseurs et relevé les différences de masse.

Les consommations de nourriture quotidienne par abeille seront par la suite exprimées en moyenne par traitement et par groupe sur l'ensemble des 2 semaines.

2.1.3. Effet sur le nombre de spores

Pour calculer le nombre de spores et l'effet sur l'activité anti-oxydante nous avons refait l'expérience précédente mais cette fois seulement avec des cagettes de 5 et 30. Les cagettes de 100 ayant donné les mêmes résultats que celles de 30 pendant l'expérience précédente. Au bout de 9 jours une première série de prélèvements a été réalisée.

L'intestin a été retiré de toutes les abeilles des cagettes de 5, et l'abdomen et environ 2 microlitres d'hémolymphe ont été prélevés en même temps. Les cagettes de 30 se sont aussi vues retirer 5 abeilles pour les prélèvements avant d'être remis à l'étuve. Le but étant de comparer les boîtes de 5 aux boîtes de 30. Sept jours plus tard la seconde et dernière série de prélèvements a été réalisée sur les cagettes de 30. Ce deuxième prélèvement doit confirmer les résultats obtenus au premier prélèvement pour les cagettes de 30.

Pour compter le nombre de spores nous n'avons pas repris exactement la même méthode que pour l'isolation des spores pour le nourrissage puisque ce ne sont pas les abdomens mais les intestins que nous avons utilisé. La méthode qui suit reste la même qu'avec les abdomens à ceci près qu'aucune filtration n'est nécessaire. Nous n'avons utilisé que les intestins ici car nous avons besoin de l'abdomen pour mesurer l'activité anti-oxydante dans une expérience future (non réalisée pendant mon stage).

Le nombre de spores comptées sur les cellules de Malassez nous permet ensuite d'estimer le nombre de spores par abeille. Ce nombre de spores par abeille sera ensuite analysé en calculant les moyennes et les écarts-moyens par cagette et par groupe.

L'effet des différents traitements sur chaque paramètre sera déterminé avec des tests statistiques.

2.2. Effet de la résistance naturelle au *Varroa destructor* de certaines ruches sur le développement du parasite *Nosema ceranae*

Pour mesurer l'effet du parasite *Nosema ceranae* sur des abeilles naturellement résistantes au *Varroa destructor* nous avons repris la même méthode que dans l'expérience précédente. Huit ruches résistantes au *Varroa* étant disponibles, nous avons décidé de toutes les tester avec 2 réplicats chacune et de les comparer aux abeilles de 7 ruches non résistantes. Nous avons donc utilisé 30 cagettes de 30 abeilles avec le même protocole que précédemment (nourrissage au *Nosema* (100 000 spores), étuve, eau et candy *ad libitum*) mais pas de QMP ici. Les morts ont été comptabilisés chaque jour pendant 2 semaines. Au terme des quinze jours d'expérience 15 abeilles par cagettes (dans la limite des survivants) ont été broyées entières avec 100 ml d'eau distillée dans des sacs conçus à cet effet. Les spores de *Nosema* ont alors été comptées en utilisant ici aussi une cellule de Malassez. Le but étant de voir si les ruches naturellement résistantes au *Varroa* ont une mortalité et un nombre de spores plus faible.

3. RÉSULTATS

3.1. Effet de facteurs sociaux (QMP et nombre d'abeilles) sur la résistance au parasite *Nosema ceranae*

3.1.1. Effet sur la mortalité

L'ANOVA que nous avons réalisée sur les données nous indique que seule la différence de mortalité entre les groupes *Nosema* + et les groupes *Nosema* – est significative. L'interaction entre les modalités QMP et *Nosema* sur la mortalité est ensuite la plus proche de la significativité avec une valeur de p de 0.085. Il n'y a pas non plus d'effet significatif parmi les interactions nombre d'abeilles-QMP, nombre d'abeilles-*Nosema* ou encore les 3 facteurs ensemble. Les résultats sont donnés dans le tableau suivant (tableau 4).

Tableau 4: Résultats de l'ANOVA mortalité Expérience *Nosema*-QMP-Nombre d'abeille

Facteurs	DDL	F	Valeur de p
Nombre	2	1,378	0,257
QMP	1	0,792	0,375
<i>Nosema</i>	1	36,258	< 0,0001
Nombre*QMP	2	0,499	0,608
Nombre* <i>Nosema</i>	2	1,056	0,351
QMP* <i>Nosema</i>	1	3,029	0,085
Nombre*QMP* <i>Nosema</i>	2	1,923	0,151

La figure 5 montre les proportions de mortalité des différentes modalités et leur regroupement est donné à la page suivante (Fig 5). Le regroupement des différentes modalités est réalisé en utilisant les moyennes estimées grâce au test de Fisher. Deux groupes qui n'ont aucune lettre en commun sont significativement différents. Ce sont ces groupes qui ont été utilisés pour exprimer les résultats retenus (significatifs) dans le tableau 8 page 26 (les résultats observés étant les mêmes proportions auxquelles on a donné un rang).

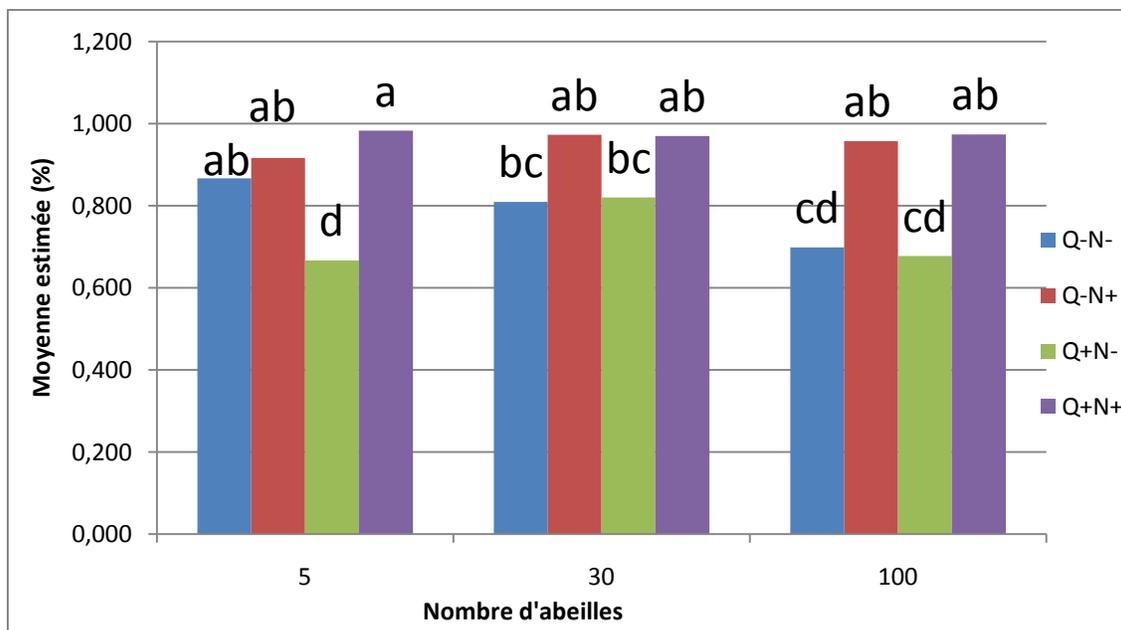


Figure 5: Proportion de mortalité des différentes modalités et leur regroupement

Comme on peut l'observer, avec ou sans QMP, il y a un effet significatif de *Nosema* sur la mortalité des groupes de 30 et 100 abeilles (rouge et mauve par rapport à bleu et vert) mais pas sur celle des groupes de 5 abeilles où il n'y a pas de QMP (rouge par rapport à bleu).

De plus, le test de Fisher nous renseigne sur une différence significative de la mortalité entre les boîtes de 5 abeilles sans *Nosema* qui ont de la QMP (bleu) et celles qui n'ont pas de QMP (vert) avec un p-value = 0.007. La QMP baisse donc la mortalité dans les boîtes de 5.

On a aussi une différence significative entre les boîtes de 5 abeilles sans *Nosema* ni QMP (bleu) et celles de 100 abeilles sans *Nosema* qu'elles soient avec ou sans QMP (bleu et vert) avec des p-value respectives de 0.021 et 0.049. Les boîtes de 5 abeilles sont donc plus sujettes à la mortalité que les boîtes de 100 dans ces cas là.

Enfin, les cagettes de 5 et 30 abeilles sans *Nosema* mais avec QMP (vert) sont elles aussi significativement différentes. On voit donc là encore que la QMP baisse la mortalité dans cagettes de 5.

La mortalité cumulative a quant à elle été calculée pour mettre en évidence les éventuelles différences à l'intérieur de chaque modalité de nombre d'abeilles (Figures 7, 8 et 9).

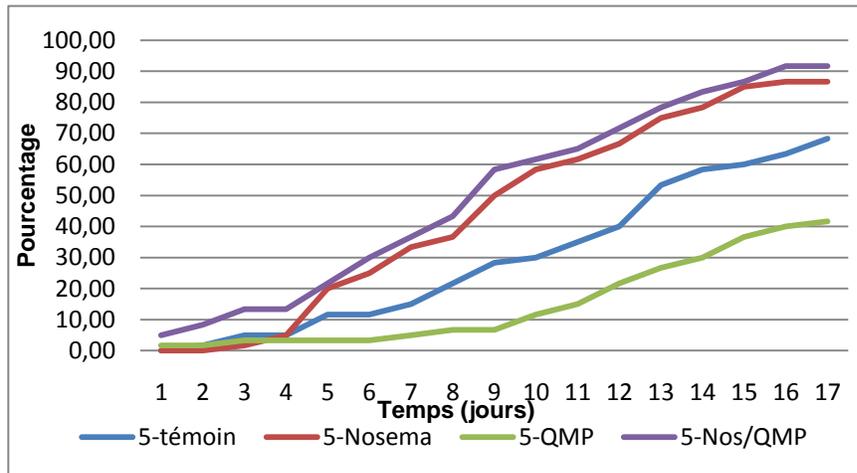


Figure 6 : Pourcentage de mortalité cumulative dans les cagettes de 5 abeilles

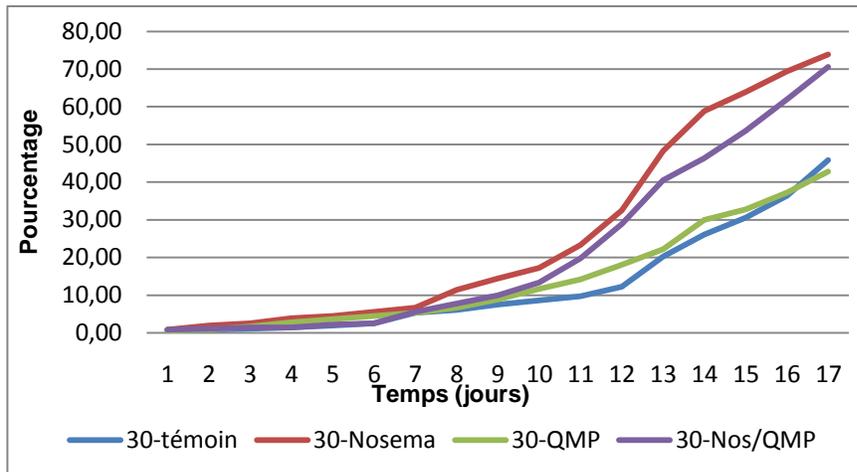


Figure 7 : Pourcentage de mortalité cumulative dans les cagettes de 30 abeilles

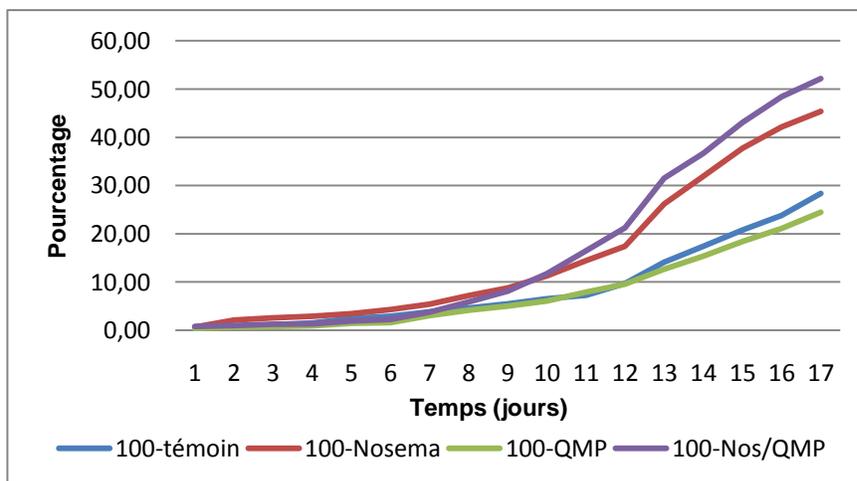


Figure 8 : Pourcentage de mortalité cumulative dans les cagettes de 100 abeilles

3.1.2. Effet sur la consommation de nourriture par abeille

Durant la deuxième semaine de pesage des nourrisseurs nous nous sommes rendu compte qu'une erreur, ou plutôt un manque de précision, s'était glissée dans le protocole. En effet, chaque jour en début de manipulation nous faisons la tare sur la balance avec un nourrisseur vide pour ne plus avoir qu'à peser l'un après l'autre les nourrisseurs pleins des cagettes. Le poids d'un nourrisseur vide ayant au préalable été jugé comme toujours le même à 0.1 g près, nous n'avions pas envisagé qu'un nourrisseur utilisé pour la tare pourrait être significativement plus lourd ou plus léger que les autres nourrisseurs issus du même lot. Or il semble qu'un nourrisseur plus lourd ait été utilisé à un moment donné pendant la deuxième semaine puisque certaines masses journalières de candy consommé se sont révélées négatives lors de la mise en tableur des mesures en fin de semaine. Il en résulte une absence de résultats utilisables pour la deuxième semaine, seuls les résultats de la première semaine sont donc analysés ici.

Nous avons réalisé une ANOVA pour étudier l'effet de différents facteurs (QMP et nombre d'abeilles) sur la consommation de nourriture par des abeilles infectées au *Nosema*. Il en résulte une absence totale de différence significative entre les différentes combinaisons de traitements puisqu'aucune valeur de p n'est en dessous de 0.135 (cf tableau 5).

Tableau 5: Résumé ANOVA Expérience consommation de nourriture

Facteurs	DDL	F	Valeur de p
Nombre	2	0,913	0,410
QMP	1	0,002	0,964
Nosema	1	0,587	0,449
Nombre*QMP	2	0,849	0,436
Nombre*Nosema	2	0,508	0,606
QMP*Nosema	1	1,725	0,197
Nombre*QMP*Nosema	2	2,119	0,135

3.1.3. Effet sur le nombre de spores

Une fois le comptage des spores réalisé nous avons effectué une ANOVA pour voir si on trouvait des différences significatives entre les différentes modalités. Au final, le parasite *Nosema* est le seul facteur de l'expérience à avoir un effet significatif sur le nombre de spores. Ni le nombre d'abeilles ni la présence de QMP ne font varier le nombre de spores de manière significative. Les valeurs de p des différentes modalités sont données dans le tableau ci-dessous (tableau 6).

Tableau 6: Résultats de l'ANOVA nombre de spores Expérience *Nosema*-QMP-Nombre d'abeilles

Source	DDL	F	Pr > F
Nombre	1	0,014	0,907
QMP	1	0,795	0,376
Nosema	1	186,861	< 0,0001
Nombre*QMP	1	0,797	0,375
Nombre*Nosema	1	2,284	0,135
QMP*Nosema	1	1,063	0,306
Nombre*QMP*Nosema	1	0,106	0,746

Le graphique donnant le nombre de spores par abeille est donné ci-dessous (Fig 5). Là aussi le regroupement des différentes modalités est réalisé en utilisant les moyennes estimées grâce au test de Fisher. Ce sont ces groupes qui ont été utilisé pour exprimer les résultats retenus (significatifs) dans le tableau 8 page 26 (les résultats observés étant les mêmes moyennes auxquelles on a donné un rang).

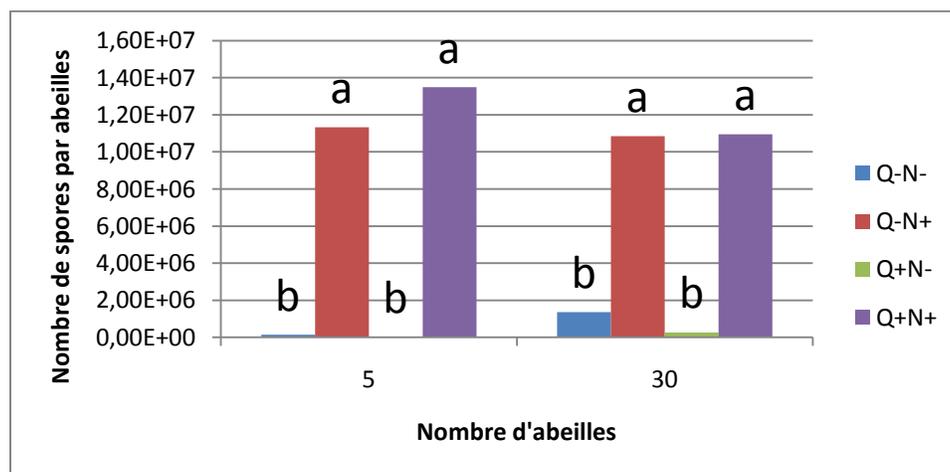


Figure 9: Nombre de spores par abeille des différentes modalités et leur regroupement

3.2. Effet de la résistance naturelle au *Varroa destructor* de certaines ruches sur le développement du parasite *Nosema ceranae*

Pour analyser les résultats obtenus pendant notre expérience nous avons utilisé le test statistique non paramétrique Mann-Whitney. Ce test est utilisé pour comparer deux séries non appariées (indépendantes).

Pour la mortalité une large différence de moyenne a été observée : 27.7 morts pour les ruches résistantes contre 13.095 pour les ruches non résistantes. Cependant une grosse différence d'écart type a aussi été observée : 21.380 pour les ruches résistantes contre 12.925 pour les autres. On ne peut donc pas dire qu'il y ait au final une différence significative concernant la mortalité ($p=0.160$).

En ce qui concerne le nombre de spores, les moyennes sont à peu près semblables : 1.618^{E+08} pour les ruches résistantes contre 1.780^{E+08} pour les ruches non résistantes. En revanche, si les écarts types sont encore très différents, ils le sont cette fois ci à l'inverse de précédemment : 1.775^{E+07} pour les ruches résistantes contre 3.678^{E+07} pour les autres. Il n'y a donc pas là non plus de différence significative dans le nombre de spores entre les ruches naturellement résistantes au *Varroa* et celles qui ne le sont pas. ($p=0.463$).

Le fait que les écarts types soient inverses nous a paru étrange. On a donc fait un test de corrélation pour voir si le nombre de morts et le nombre de spores étaient corrélés ou non. Et ils ne le sont pas d'après un test de corrélation de Pearson ($p=0.202$). On peut facilement le voir sur le graphique suivant ; les écarts types dans chacun des deux types de ruches sont eux aussi bien visibles (Figure 11).

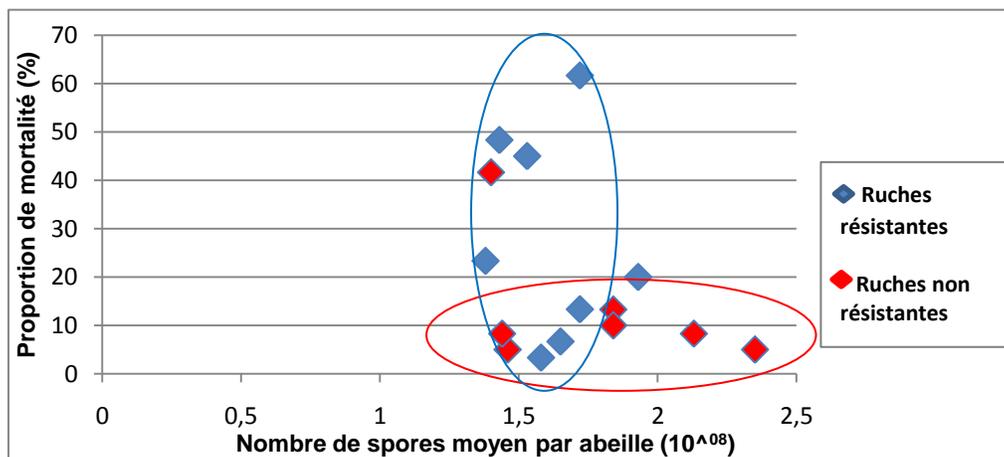


Figure 10: Mortalité et nombre de spores pour les ruches résistantes et non résistantes

4. DISCUSSION

4.1. Effet de facteurs sociaux (QMP et nombre d'abeilles) sur la résistance au parasite *Nosema ceranae*

4.1.1. Effet sur la mortalité

La différence de mortalité significative entre les abeilles infectées au *Nosema* et celles non infectées de notre expérience confirme l'état actuel des connaissances (cf. paragraphe 1.3.2). Dans cette étude nous avons voulu tester l'hypothèse que le nombre d'abeilles ou la présence de QMP pourraient baisser la mortalité induite par le parasite *Nosema*. Ces renseignements aideront à standardiser les études sur le *Nosema* en laboratoire.

Pour ce qui est des hypothèses que nous avons formulées au début et que nous avons voulu tester, les résultats sont plus mitigés. En effet, d'après l'ANOVA aucune combinaison de facteurs deux à deux n'est significativement différente des autres. Cela exclut donc une différence d'impact sur la résistance au *Nosema* de nos 2 facteurs sociaux testés. Comme vu dans la partie résultat, la différence entre les modalités QMP et *Nosema* est presque significative mais, quand on regarde de plus près avec le test de Fisher, il apparaît que ce sont les différences significatives entre la présence ou non de *Nosema* qui font que c'est significatif, et non pas la différence entre les modalités QMP et *Nosema* (tableau 7).

Tableau 7: Résultat test de Fisher modalités QMP*Nosema

QMP*Nosema / Fisher (LSD)		
Contraste	Différence	Significatif
Q+N+ vs Q+N-	0,254	Oui
Q+N+ vs Q-N-	0,184	Oui
Q+N+ vs Q-N+	0,027	Non
Q-N+ vs Q+N-	0,228	Oui
Q-N+ vs Q-N-	0,157	Oui
Q-N- vs Q+N-	0,070	Non

Cependant, avec les tests de fisher réalisés sur chaque modalité, il apparaît des différences significatives intéressantes dans certains cas qui ne dépendent cette fois pas de la présence de *Nosema*, mais bien du nombre d'abeilles et de la présence de QMP.

Avec ou sans QMP, il y a un effet significatif de *Nosema* sur la mortalité des groupes de 30 et 100 abeilles mais pas sur celle des groupes de 5 abeilles où il n'y a pas de QMP. Les cagettes de 5 abeilles avec de la QMP résistent donc mieux au parasite même si elles meurent plus en proportion par rapport aux cagettes de 30 et 100. La QMP a donc un meilleur effet sur les abeilles quand celles-ci ne sont pas nombreuses, peut être du au fait qu'étant plus stressées elles ressentent plus le besoin de la phéromone.

De plus, en absence de *Nosema*, les boîtes de 5 abeilles ont une mortalité significativement plus faible quand elles ont de la QMP. De même, les cagettes de 30 abeilles ont une mortalité significativement plus élevée que les cagettes de 5 en absence de *Nosema* mais présence de QMP, la QMP améliorant la survie des cagettes de 5 abeilles et pas celles de 30. Là encore cela confirme le fait qu'étant plus stressées les abeilles des cagettes de 5 ont bien plus besoin de QMP que leur sœurs plus nombreuses.

Enfin, il ressort de cette expérience que les boîtes de 5 abeilles semblent tout simplement plus enclines à la mortalité puisqu'elles ont dans le cas d'une absence de *Nosema* une mortalité significativement supérieure aux boîtes de 100 abeilles. Cela confirme notre hypothèse que les abeilles par petits groupes sont plus stressées car moins de sociabilité et donc plus enclines à mourir.

Au final les boîtes de 5 abeilles sont à proscrire pour les prochaines expériences car les abeilles meurent plus facilement et ont besoin de QMP pour mieux survivre. De même, les boîtes de 100 ne semblent pas utiles car donnant des résultats identiques aux cagettes de 30. Un gain de temps et d'abeilles serait ainsi gagné. Les boîtes de 30 abeilles semblent donc les plus adaptées à ce genre d'expérience en cagettes.

4.1.2. Effet sur la consommation de nourriture par abeille

Avec l'erreur de standardisation du poids des nourrisseurs utilisés pour la tare il apparaît indispensable de vérifier les poids de ceux-ci avec plus d'attention dans l'hypothèse de futures expériences similaires. En effet, si la différence de poids a été mise en évidence pour certaines cagettes, elle ne l'a peut être pas été pour d'autres. On peut donc se demander s'il n'y a pas eu dans certains cas une différence de poids de nourrisseur éclipsé par une masse de candy ingéré supérieure au surplus de masse du nourrisseur. Et inversement dans le cas d'un poids plus faible du nourrisseur qui diminuerait ainsi la masse de candy réellement ingéré. Une grande

précision doit donc être utilisée pour les mesures de nourriture ingérée, surtout quand les variations journalières peuvent se jouer à quelques mg.

Les résultats concluent qu'aucune différence dans la consommation de nourriture n'est significative entre les 12 combinaisons de facteurs. La plupart des consommations vont même à l'encontre de nos hypothèses de départ (cf figure 11 et tableau 8 page 26). Même la différence entre les abeilles infectées et non infectées n'est pas significative alors qu'elle avait été montrée par Mayack et Naug en 2008.

Une expérience identique incluant cette fois la grande précision nécessaire devrait être réalisée pour confirmer ou infirmer ces résultats.

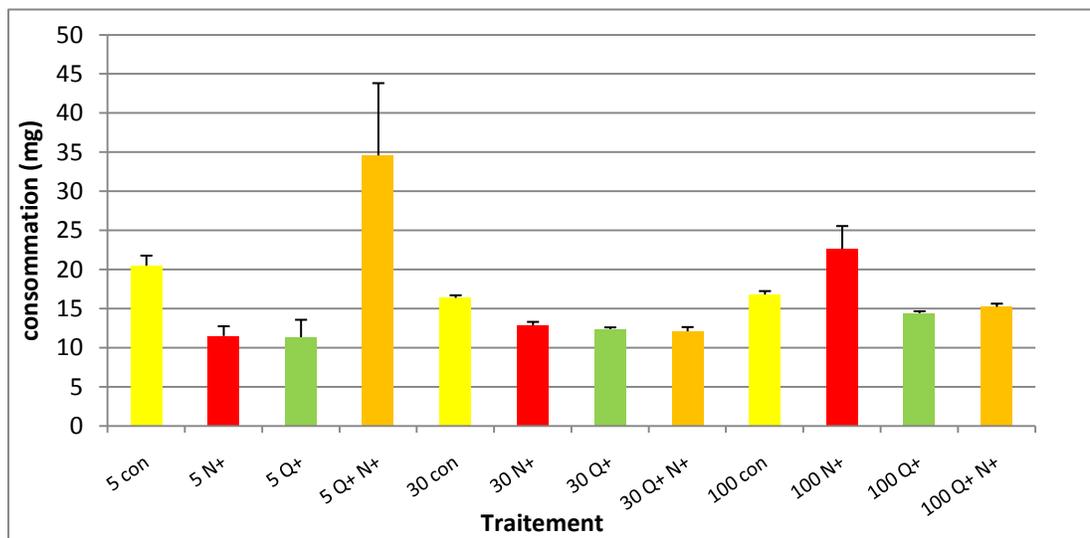


Figure 11: Consommation moyenne quotidienne par abeille suivant les traitements

4.1.3. Effet sur le nombre de spores

Les facteurs sociaux que nous avons testé (QMP et taille de groupe) n'ont pas d'effet significatif sur le nombre de spores des abeilles. Seules les abeilles infectées par le parasite *Nosema ceranae* ont un nombre significativement différent de spores par rapport aux abeilles non infectées. La faible présence de spores chez certaines abeilles non infectées (30 Q-N-) est certainement due à une transmission du parasite dans les étuves. Au final, même s'il y a eu des différences dans la mortalité ce n'est pas probablement dû à un développement plus important de la population de spores. Cette absence de différence au niveau des spores indiquerait que c'est plutôt la résistance aux spores qui influencerait sur la mortalité et non pas le nombre de spores en lui-même.

4.2. Effet de la résistance naturelle au *Varroa destructor* de certaines ruches sur le développement du parasite *Nosema ceranae*

Contrairement à ce qu'on aurait pu attendre, et souhaiter d'un point de vu apicole, les ruches naturellement résistantes au *Varroa* ne sont pas plus résistantes au parasite *Nosema ceranae* sur les plans de la mortalité et du nombre de spores que les ruches non résistantes au *Varroa* (cf tableau 9 ci après).

En ce qui concerne l'absence de corrélation entre les ruches, nous avons une hypothèse qui pourrait l'expliquer. On compte les morts avec les morts mais on compte les spores avec les survivantes. Il faudrait donc congeler les mortes au fur et à mesure et à la fin de l'expérience compter les spores sur elles. Nous aurions ainsi le nombre de spores pour les abeilles mortes. Mais compter les spores sur les survivantes devrait toujours être fait en parallèle car c'est intéressant de voir le nombre de spores dans les abeilles qui ont réussi à survivre.

Le deuxième point que nous pouvons retenir de cette expérience est la grande variance parmi les ruches. Un grand écart type au sein d'un même type de ruches signifie que ces ruches sont très différentes entre elles. Ici, les ruches naturellement résistantes au *Varroa* sont très différentes entre elles sur le plan de la mortalité. On ne sait pas d'où vient cette différence, peut être une différence génétique qui expliquerait en même temps le comportement hygiénique (supposé comme responsable de la résistance au *Varroa*) présent chez les résistantes et pas chez les autres. De leur côté, les ruches non résistantes ont plus de variance dans leur nombre de spores. Autrement dit, quelques soit le nombre de spores, les abeilles non résistantes ont à peu près le même seuil de tolérance au parasite (car même taux de mortalité avec des taux de spores très différents). Par contre, la tolérance aux spores est très variable chez les abeilles résistantes car le taux de mortalité est très différent pour un même taux de spores. Au final, les abeilles non résistantes sont ici plus tolérantes au *Nosema* que les abeilles résistantes au varroa. Peut-être que la résistance au *Varroa* se fait au dépend d'autres facteurs.

Traitements			Effets								
Infection avec <i>Nosema</i>	QMP	Nombre d'ouvrières	Mortalité			Nombre de spores			Nourriture consommée par abeille		
			Hypothèse de départ	Résultats observés	Résultats retenus (significatifs)	Hypothèse de départ	Résultats observés	Résultats retenus (significatifs)	Hypothèse de départ	Résultats observés	Résultats retenus (significatifs)
<i>Nosema+</i>	QMP+	5	++	-	+++	++	++	+	++	+++	0
		30	+	+	++	+	++	+	+	-	0
		100	-	+	++	-	NT	NT	-	+	0
	QMP-	5	+++	++	++	+++	++	+	+++	-	0
		30	++	+	++	++	++	+	++	-	0
		100	+	+	++	+	NT	NT	+	++	0
<i>Nosema-</i>	QMP+	5	+	++	--	+	--	-	+	-	0
		30	-	+++	+	-	-	-	-	-	0
		100	-	-	-	-	NT	NT	-	-	0
	QMP-	5	++	+++	++	++	-	-	++	++	0
		30	+	+++	+	+	+	-	+	+	0
		100	-	-	-	-	NT	NT	-	+	0

Tableau 8 : Tableau des résultats (Expérience *Nosema*-QMP-Taille de groupe)

Traitements			Effets					
Infection avec <i>Nosema</i>	Type de ruche	Nombre d'ouvrières	Mortalité			Nombre de spores		
			Hypothèse de départ	Résultats observés	Résultats retenus (significatifs)	Hypothèse de départ	Résultats observés	Résultats retenus (significatifs)
<i>Nosema+</i>	Naturellement résistante au <i>Varroa</i>	30	-	+	0	-	-	0
<i>Nosema+</i>	Non résistante au <i>Varroa</i>	30	+	-	0	+	+	0

Tableau 9 : Tableau des résultats (Expérience *Nosema* – Résistance *Varroa*)

Bibliographie

Alaux, C., Brunet, J. L., Dussaubat, C., Mondet, F., Tchamitchan, S., Cousin, M., Brillard, J., Baldy, A., Belzunces, L. P. & Le Conte, Y. 2010. Interactions between *Nosema* microspores and a neonicotinoid weaken honeybees (*Apis mellifera*). *Environmental Microbiology*, 12, 774-782.

Arnold G. 1976. Contribution à l'étude du déterminisme de l'effet de groupe chez *Apis mellifera*. Académie de Paris.

COLOSS Workshop. (2008). *Nosema* disease, lack of knowledge and work standardisation.

Doucet-Personeni, C., Halm, M.P., Touffet, F., Rortais, A., and Arnold, G. (2003) Imidaclopride utilisé en enrobage de semences (Gaucho®) et troubles des abeilles. Comité Scientifique et Technique de l'Etude Multifactorielle des Troubles des Abeilles (CST).

Dussaubat C., Maisonnasse A., Alaux C., Tchamitchan S., Brunet J-L., Plettner E., Belzunces L.P. and Le Conte Y. 2010. *Nosema* spp. Infection Alters Pheromone Production in Honey Bees (*Apis mellifera*). *J Chem Ecol* DOI10.1007/s10886-010-9786-2

Fischer P. & Grozinger C.M. 2008. Pheromonal regulation of starvation resistance in honey bee workers (*Apis mellifera*). *Naturwissenschaften* (2008) 95:723–729 DOI 10.1007/s00114-008-0378-8

Flemming G. (1871) *Animal plagues, Their history, nature and prevention*, Chapman & Hall.

Forsgren E., and Fries I., (2010). Comparative virulence of *Nosema ceranae* and *Nosema apis* in individual European honey bees

Frank S.A., Schmid-Hempel P., 2008. Mechanisms of pathogenesis and the evolution of parasite virulence. *J. Evol. Biol.* 21, 396–404.

Free J. (1987) *Pheromones of social bees*. Cornell University Press.

Fries I., (2009). *Nosema ceranae* in European honey bees (*Apis mellifera*), *J. Invertebr. Pathol.*, in press.

Forsgren, E. & Fries, I. 2010. Comparative virulence of *Nosema ceranae* and *Nosema apis* in individual European honey bees. *Veterinary Parasitology*.

Gallai N., Salles J.M., Settele J., Vaissiere, B.E. 2009. Economic valuation of the vulnerability of world agriculture confronted with pollinator decline. *Ecological economics* 68 (2009) 810–821.

Gallai N. & Vaissière B.E. 2009. Guidelines for the economic valuation of pollination services at a national scale. Rome, FAO.

Genersch & Al. 2009. Honey bee disease overview. *Journal of Invertebrate Pathology*
Higes M., Garcia-Palencia P., Martin-Hernandez R., Meana A. 2007. Experimental infection of *Apis mellifera* honeybees with *Nosema ceranae* (Microsporidia). *J. Invertebr. Pathol.* 94, 211–217.

Higes M., García-Palencia P., Cristina Botías C., Meana A. and Martín-Hernández, R. (2010). The differential development of microsporidia infecting worker honey bee (*Apis mellifera*) at increasing incubation temperature. *Environmental Microbiology Reports* (2010) doi:10.1111/j.1758-2229.2010.00170.x

Higes M., Martin-Hernandez R., Meana A. 2010. *Nosema ceranae* in Europe: an emergent type C nosemosis. *Apidologie* Available online at:
c_INRA/DIB-AGIB/EDP Sciences, 2010 www.apidologie.org
DOI: 10.1051/apido/2010019

Huang W.F., Jiang J.H., Chen Y.W., Wang C.H. (2007) A *Nosema ceranae* isolate from the honeybee *Apis mellifera*, *Apidologie* 38, 30–37.

INRA PACA. L'Inra, un institut national. [En ligne]; Pôle Adaptation au Changement Global (ACG). [En ligne]; Abeilles et Environnement. [En ligne]. Pages disponibles sur http://www.paca.inra.fr/l_inra_un_institut_national__1. Consulté le 12/07/2010

Jaffé R., Diemann V., Allsopp M.H., Costa C., Crewe R.M., Dall' Olio R., De La Rua P., El-Niweiri M.A.A., Fries I., Kezic N., Meusel M.S., Paxton R.J., Shaibi T., Stolle E., Moritz R.F.A. (2009) Estimating the density of honeybee colonies across their natural range to fill the gap in pollinator decline censuses, *Conserv. Biol.*, DOI: 10.1111/j.1523-1739.2009.01331.x.

Klein A.-M., Vaissiere B.E., Cane J.H., Steffan-Dewenter I., Cunningham S.A., Kremen C., Tscharntke T. 2007. Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. *Proc. Royal Soc. B.* 274, 303–313.

Yves Le Conte¹, Marion Ellis², Wolfgang Ritter. 2010. *Varroa* mites and honey bee health: can *Varroa* explain part of the colony losses?*

Ledoux M.N., Winston M.L., Higo H., Keeling C.L., Slessor K.N. and LeConte Y. 2000. Queen and pheromonal factors influencing comb construction by simulated honey bee (*Apis mellifera* L.) swarms. *Insectes soc.* 48 (2001) 14–20 0020-1812/01/010014-07 \$ 1.50+0.20/0 © Birkhäuser Verlag, Basel, 2001

Maisonnasse A., Alaux C., Beslay D., Crauser D., Gines C., Plettner E. and Le Conte Y. 2010. New insights into honey bee (*Apis mellifera*) pheromone communication. Is the queen mandibular pheromone alone in colony regulation? *Frontiers in Zoology* 2010, 7:18

Martin-Hernandez R., Meana A., Prieto L., Martinez Salvador A., Garrido-Bailon E., Higes M. 2007. Outcome of colonization of *Apis mellifera* by *Nosema ceranae*. *Appl. Environ. Microbiol.* 73, 6331–6338.

Mayack C., and Naug D. 2009. Energetic stress in the honeybee *Apis mellifera* from *Nosema ceranae* infection. *J Invertebr Pathol* 100: 185–188.

Naug D., and Gibbs A. 2009. Behavioral changes mediated by hunger in honeybees infected with *Nosema ceranae*. *Apidologie*, 40, 595–599.

Oldroyd B.P. 2007. What's killing American honey bees? *PLoS Biol* 5(6):e168. doi:10.1371/journal.pbio.0050168

Paxton R.J., Klee J., Korpela S., Fries I. 2007. *Nosema ceranae* has infected *Apis mellifera* in Europe since at least 1998 and may be more virulent than *Nosema apis*. *Apidologie* 38, 1–9.

Potts S.G., Roberts S.P.M., Dean R., Marris G., Brown M., Jones R., Neumann P., Settele J. 2010. Declines of managed honeybees and beekeepers in Europe, *J. Apic. Res.* 49, 15–22.

Rennie J., White P.B., Harvey E.J. (1921) Isle of Wight disease in hive bees, *Trans. R. Soc. Edinburgh* 52, 737–779.

Slessor K.N., Winston M.L., and Le Conte Y. 2005. Pheromone communication in the Honeybee (*Apis mellifera* L.). *Journal of Chemical Ecology*, Vol. 31, No. 11, November 2005 (#2005) DOI: 10.1007/s10886-005-7623-9

Southwick E. E. & Southwick Jr L. 1992. Estimating the economic value of honey bees (Hymenoptera: Apidae) as agricultural pollinators in the United States. *J. Econ. Entomol.* 85, 621–633.

VanEngelsdorp D., Meixner M.D. 2009. A historical review of managed honey bee populations in Europe and the United States and the factors that may affect them. *J. Invertebr. Pathol.* (2009), doi:10.1016/j.jip.2009.06.011

Wilson W.T., Menapace D.M. 1979. Disappearing disease of honeybees: A survey of the United States, *Am. Bee J.* 119, 118–119; 184–186; 217.

Zander E., 1909. Tierische Parasiten als Krankheitserreger bei der Biene. *Münchener Bienenzeitung* 31, 196–204.

Annexe : Réflexion personnelle sur la recherche

Le monde de la recherche m'était totalement inconnu jusqu'à l'opportunité de ce stage. Je remercie donc vivement mon école, l'Ecole Supérieure d'Agriculture d'Angers, et Yves Leconte, directeur de l'unité Abeilles et Environnement de l'INRA d'Avignon, pour m'avoir offert la possibilité de découvrir le monde de la recherche.

La Recherche est à mon avis une discipline très intéressante pour une personne qui a la vocation proprement dit. L'intérêt de la discipline réside dans les diverses et inévitables pièces qui la composent. Le chercheur doit ainsi se tenir au courant jour après jour des nouveautés mondiales sur le sujet (veille scientifique), analyser les connaissances actuelles, et isoler une ou plusieurs question(s) qui l'intéresse pour ensuite approfondir la ou les questions et faire progresser la recherche. Il doit être capable de juger ce qui est pertinent ou non à chercher pour lui-même et pour le monde de la recherche. Le problème est que chercher ne dit pas forcément trouver, et cela peut être assez frustrant de consacrer sa vie à la recherche et prendre le risque de ne pas satisfaire ses ambitions personnelles par l'absence d'une découverte qui nous satisferait. Je ne suis pas prêt à prendre ce risque, même si le jeu en vaut la chandelle, car bien souvent quand au final on trouve quelque chose d'intéressant c'est une grande récompense aussi bien personnelle que professionnelle.

Autre caractéristique de la recherche, la spécialisation. Quand on est chercheur on est avant tout spécialiste dans son domaine, et on a la reconnaissance qui va avec, mais pas toujours. Or, cela à un coût, on est cloisonné dans son domaine, du moins de ce que j'ai pu en voir en 3 mois. Pour ma part je préfère la polyvalence d'autres types de métiers, une polyvalence dirons-nous synonyme d'une boîte à outils utilisable dans des contextes variés. Dans le même sens je préfère avoir une vision macroscopique d'un problème plutôt que microscopique.

Enfin, dernier point dans la recherche qui m'a déplu, le renfermement sur elle-même. Les répercussions sur la société, quand il y en a, sont souvent inconnues des chercheurs. Et inversement, des découvertes scientifiques restent souvent lettres mortes avant de trouver une application concrète dans notre société. En résumé, la recherche et le monde font deux, alors que la première devrait guider le second dans ses orientations, et le second pousser la première à chercher toujours plus loin et plus vite. Mais cette avis ne tient peut être qu'au fait que ce soit de la recherche fondamentale que j'ai réalisé durant mon stage et non de la recherche appliquée.

