

Lutte contre varroa et sélection :

Où en est-on ?

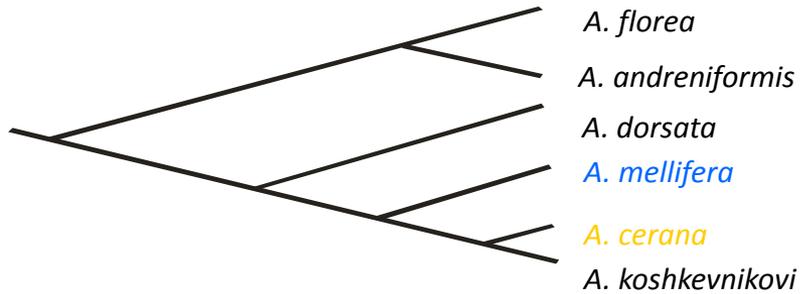


- **Éléments de biologie du varroa et impacts sur la santé de l'abeille**
- **Le rôle des virus**
- **Evaluation de l'infestation et moyens de lutte**
- **Définition des mécanismes de résistance/tolérance au varroa**
- **Historique de la recherche sur la résistance au varroa**
- **Développement d'outils d'aide à la sélection**

BIOLOGIE DU VARROA IMPACTS

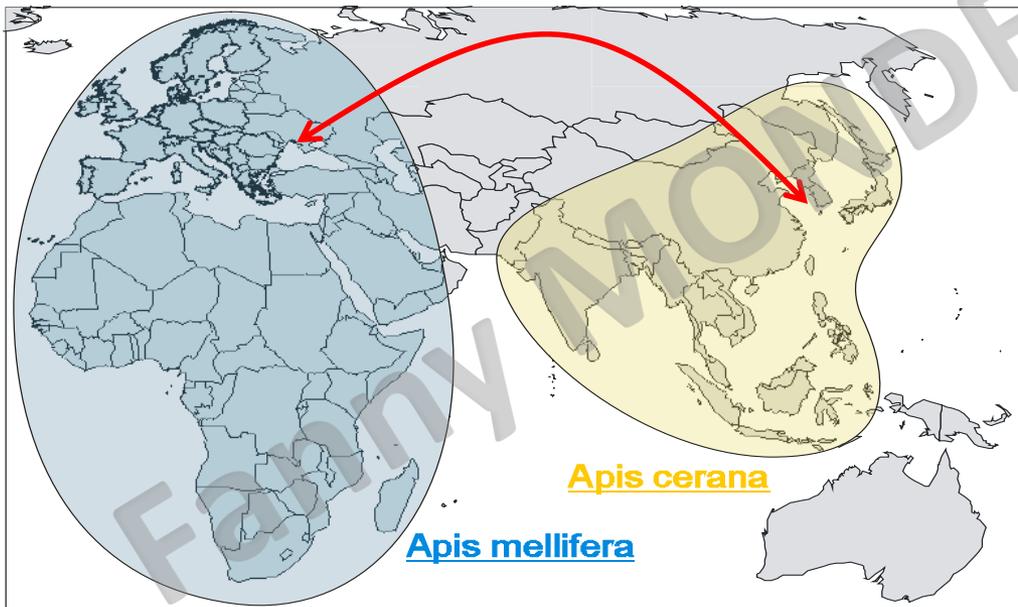


Fanny MONDET, INRAE



Phylogénie du genre *Apis*

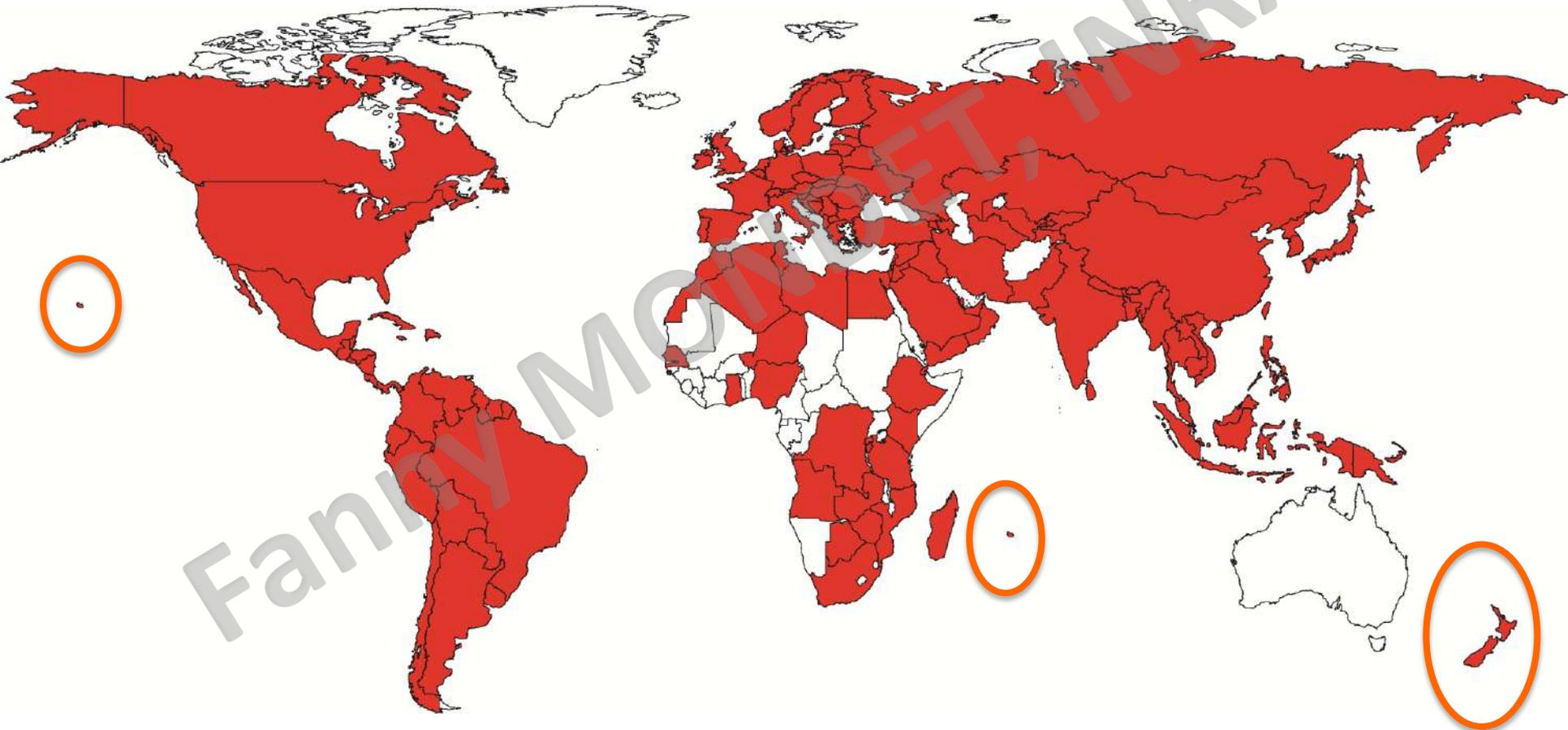
(Alexander, *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 1991)



(Franck, PhD thesis, 1999)

→ Arrivée du varroa en Europe dans les années 80

D'une relation hôte/parasite équilibrée, à une relation déséquilibrée



Carte de la distribution du varroa en 2015

- Varroa en tant que vecteur de virus

- Transfers directs

(Gisder et al. 2009; Chen and Siede 2007)

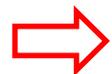
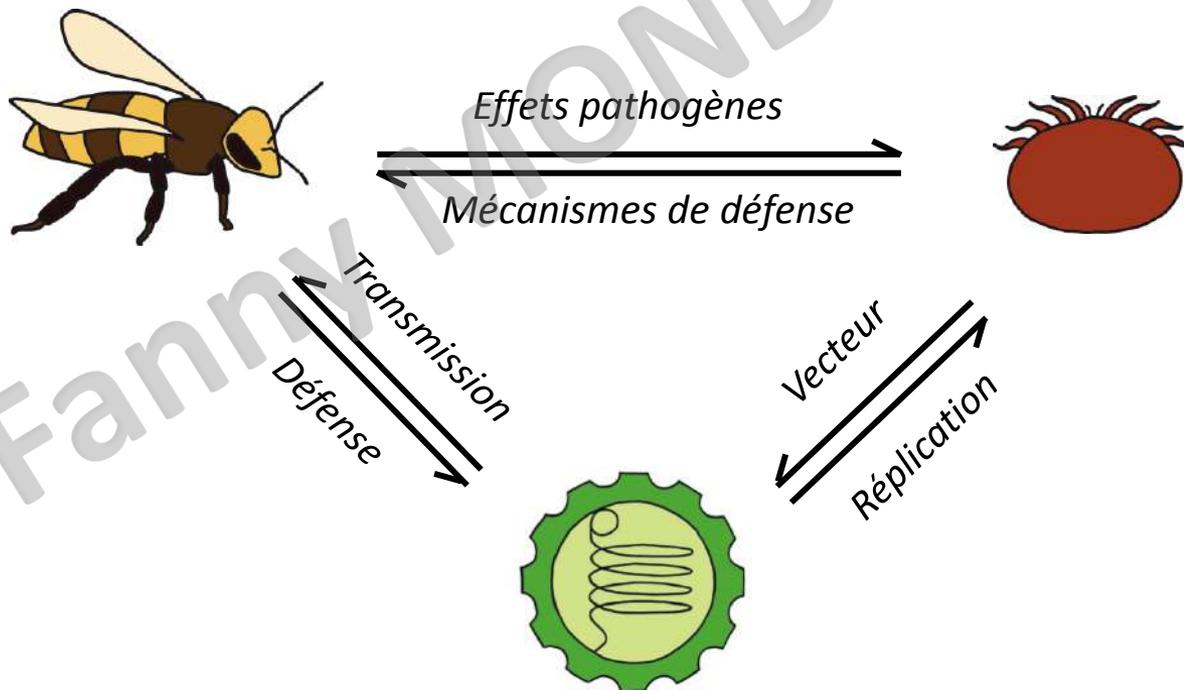
- Transfer indirect par immunosuppression?

(Kuster et al. 2014; Yang and Cox-Foster 2005; Gregory et al. 2005)

- Viruses associés au varroa :

- DWV, IAPV, ABPV, KBV, BQCV, SBV, CBPV

(Sammataro et al. 2012; de Miranda et al. 2012)



D'une relation hôte-parasite bilatérale à une relation triangulaire

Une relation complexe avec l'abeille européenne

New insights on how bees battle deadly varroa mite

June 14, 2016

Home » Publications » Newsletters » Discovery » Discovery Issue 28 » Slowing varroa's deadly march
SLOWING VARROA'S DEADLY MARCH



Varroa Mite

Ministry for Primary Industries
Manatū Ahu Matua



Varroa destructor

Legal Status: Notifiable and Unwanted Organism

Status in New Zealand: Controlled

Varroa mites and honey bee health: can Varroa explain part of the colony losses?*

Yves LE CONTE!, Mari **Articles**

The varroa mite's deadly impact on honey b

Apidologie 35 (2004) 91–92
© INRA/DIB-AGIB/ EDP Sciences, 2004
DOI: 10.1051/apido:2003060

The Varroa mite –
a deadly and dangerous bee parasite

Impact of an ectoparasite on the immunity and pathology of an invertebrate: Evidence for host immunosuppression and viral amplification

Xiaolong Yang and Diana L. Cox-Foster*

Department of Entomology, Pennsylvania State University, University Park, PA 16802

Edited by May R. Berenbaum, University of Illinois at Urbana-Champaign, Urbana, IL, and approved April 14, 2005 (received for review March 7, 2005)

JILL S. PETTIS

Scientific note on *Varroa destructor* resistance to coumaphos
in the United States

Scientific note

- Dimorphisme sexuel

→ Différents types d'individus au sein d'une colonie

Dans la ruche: une colonie d'abeilles et une colonie de varroas



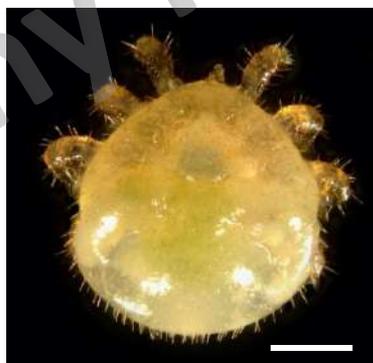
Femelle fondatrice (1.6mm)



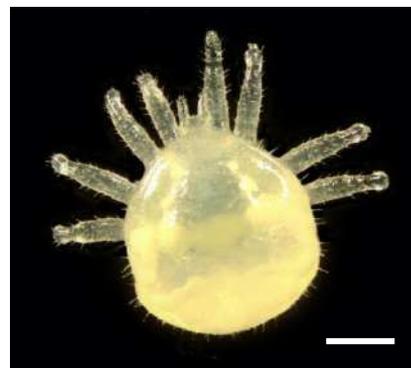
Jeune femelle



Oeuf



Male



Protonymphe



Deutonymphe

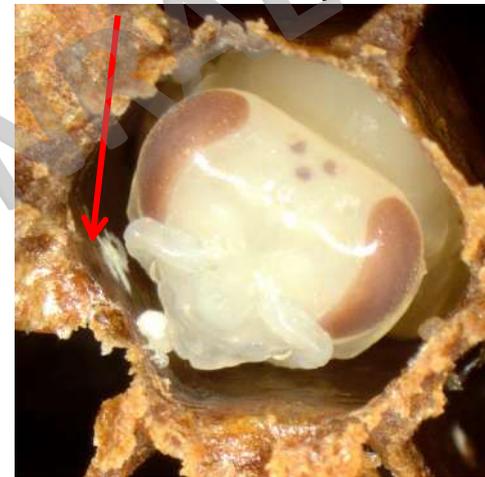
Descendance



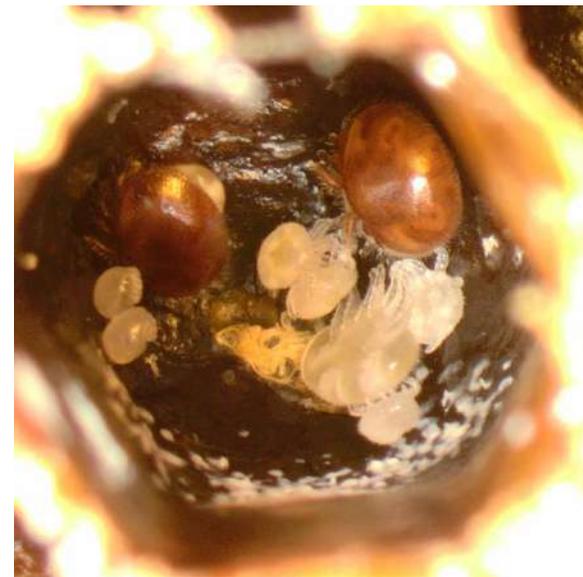
Femelles varroa sur abeille adulte

**Dans la ruche: une
colonie d'abeilles
et une colonie de
varroas**

Cellule de couvain
Parasitée désoperculée



Femelles et
immatures
de varroa
dans une cellule
de couvain vidée



○ Reproduction dans le couvain

→ Dynamique de population du varroa dépend de la dynamique de population de la colonie, plus particulièrement de la dynamique de population du couvain

→ Rupture de ponte en hiver : Rupture dans la dynamique de population varroa
varroa peut survivre 80-100j sans couvain
≈ 10% de la population meurt par mois (sans couvain)

○ **Taux de reproduction** : ≈ 1.3 - 1.5 femelle mature / femelle fondatrice
(2.5 dans couvain mâle – cf cycle plus long)

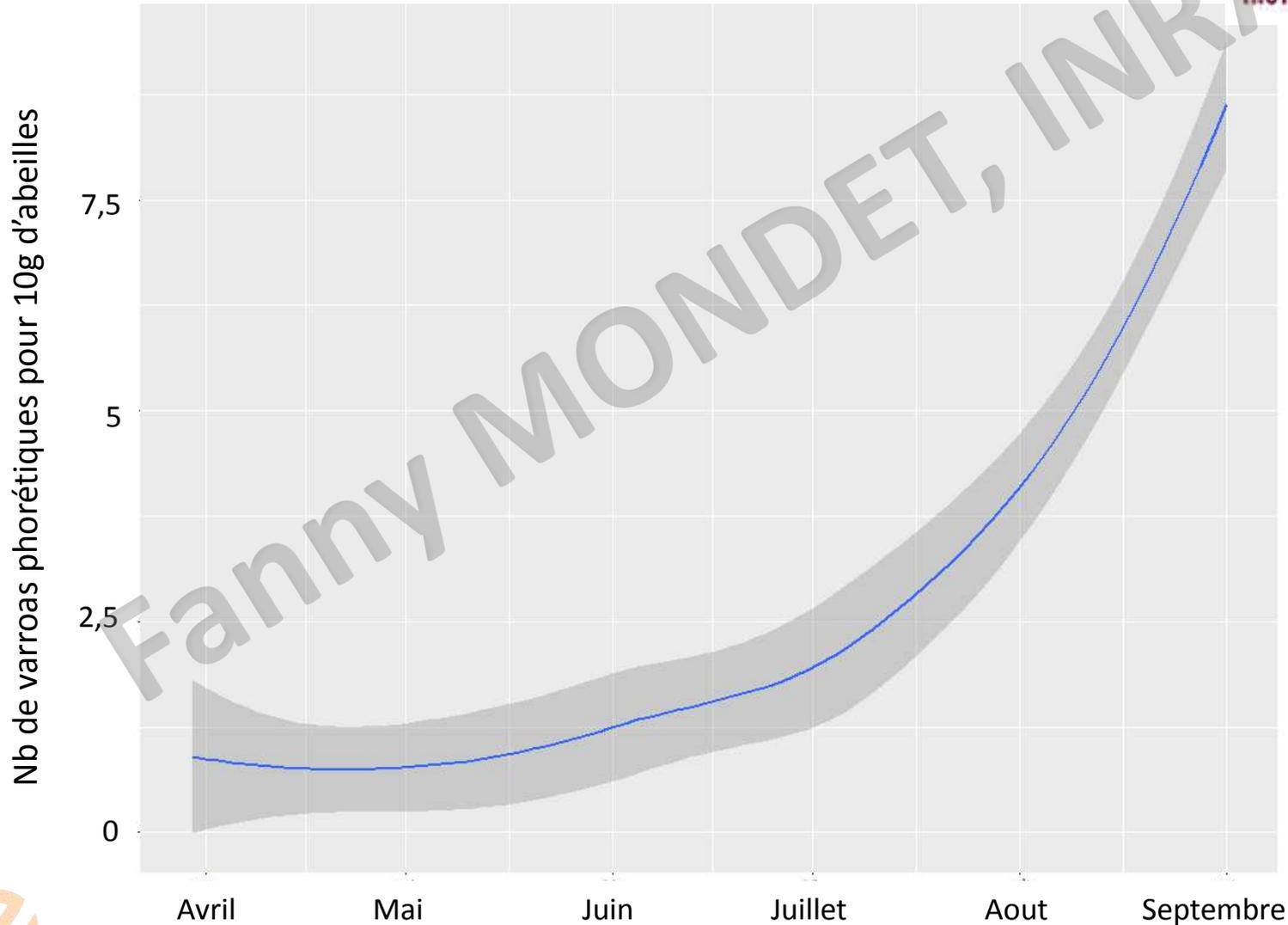
→ **Croissance “exponentielle” de la population de varroa**



5 cycles de reproduction plus tard
(1 varroa, taux de reproduction = 2)

↓
32 varroas !!

- Suivi de varroa sur la station ITSAP 2015 (n = 90 colonies)



○ Effets pathologiques sur immatures, ouvrières, butineuses, mâles

- Nourrissement sur haemolymph (Rosenkranz et al. 2010)
- Altération de l'immunité
- Immatures : réduction du poids, mortalité, déformations
- Ouvrières : réduction poids, durée de vie, capacités apprentissage
- Butineuses : altération des capacités de navigation
- Mâles : diminution des performances de vol et d'accouplement



Effets à l'échelle de la colonie

- PMS
- Mort de la colonie sans traitement



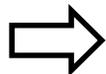
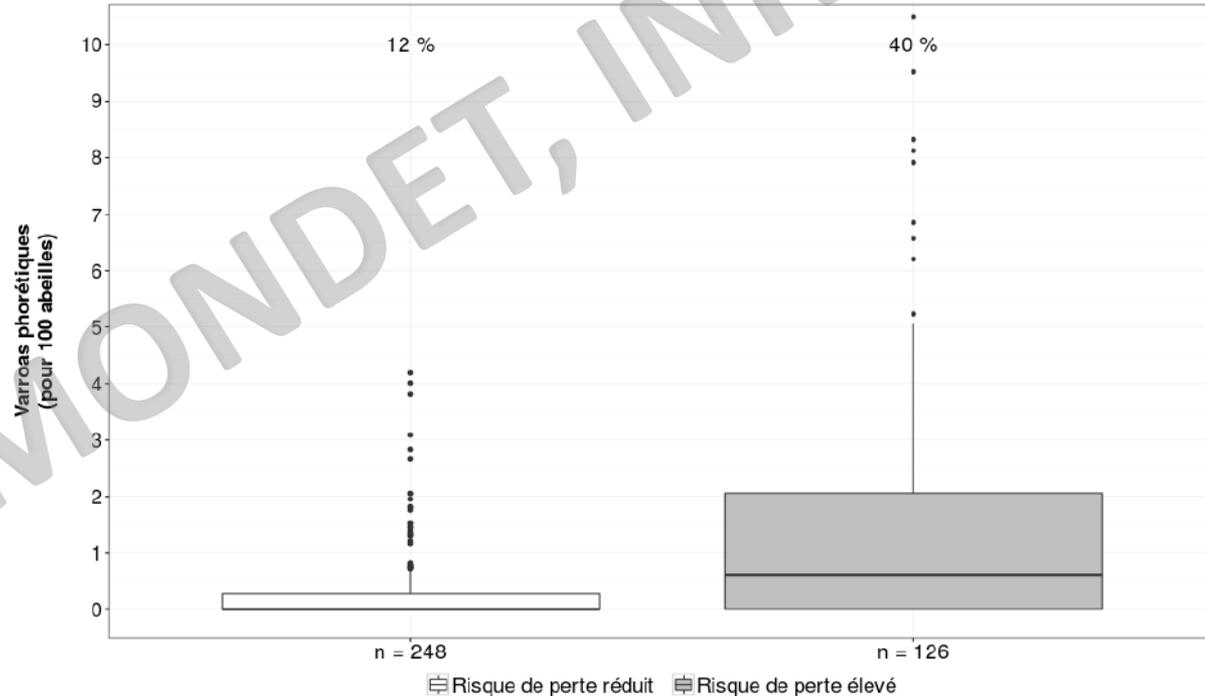
○ Favorise le développement d'infections virales

○ **Projet RESAPI**

450 colonies suivies

3 régions

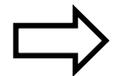
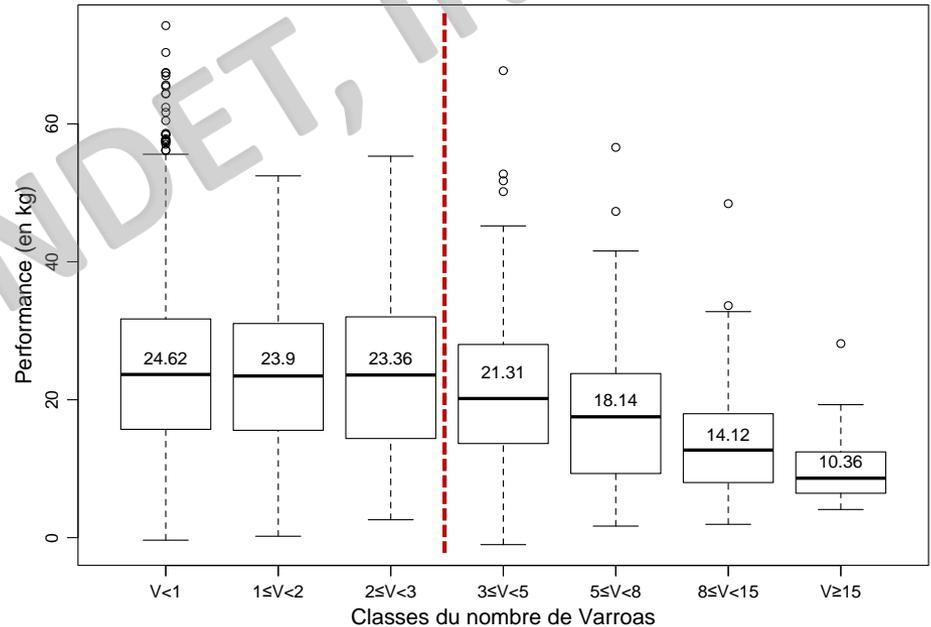
(ADAPI, ADAAQ, ADAPRO-LR)



Association entre mortalité hivernale et charge en varroas

○ Observatoire « lavandes »

3300 colonies suivies
8 ans d'observatoire



Association entre performance et charge en varroas (> 3/100)

EFFETS PATHOLOGIQUES de VARROA ROLE des VIRUS



○ Varroa en tant que vecteur de virus

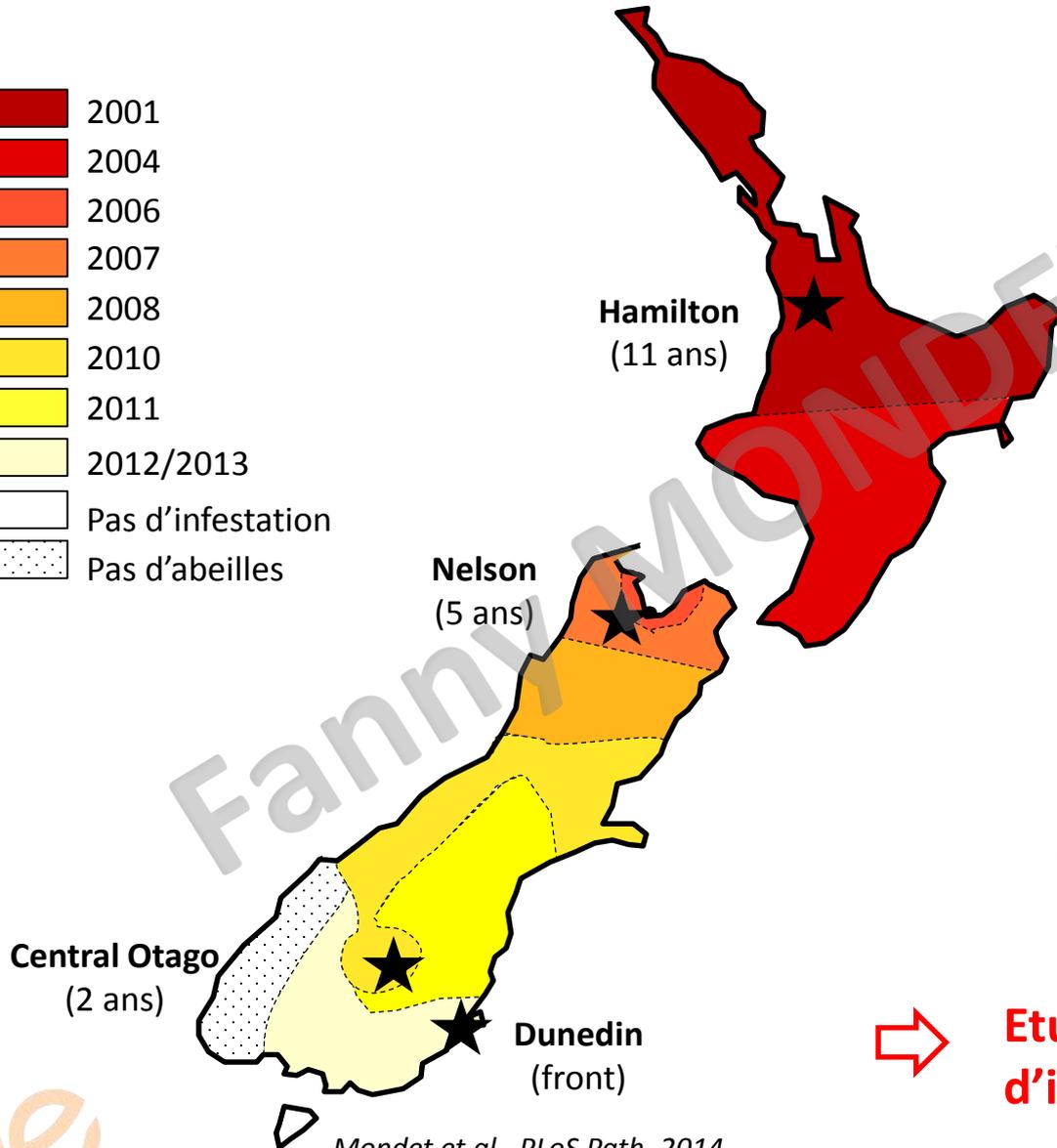
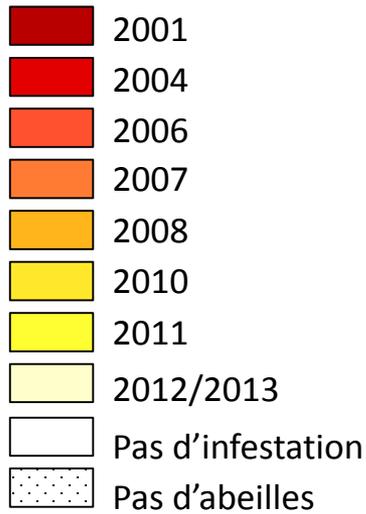
- Transerts directs *(de Miranda 2012 ; Chen and Siede 2007)*
- Transferts indirects (immunosuppression ?) *(Yang and Cox-Foster 2005)*
- Virus associés au varroa : *(Sammataro et al. 2012 ; Hedtke et al. 2011)*
DWV, IAPV, ABPV, KBV, BQCV, SBV, CBPV

○ Effets pathologiques des infections virales

- Peu marqués avant l'arrivée du varroa *(Yue and Genersch 2005)*
- Impact important actuellement ? *(de Miranda and Genersch 2010)*



Relation hôte/parasite triangulaire
Quel impact de l'infestation varroa sur les virus ?



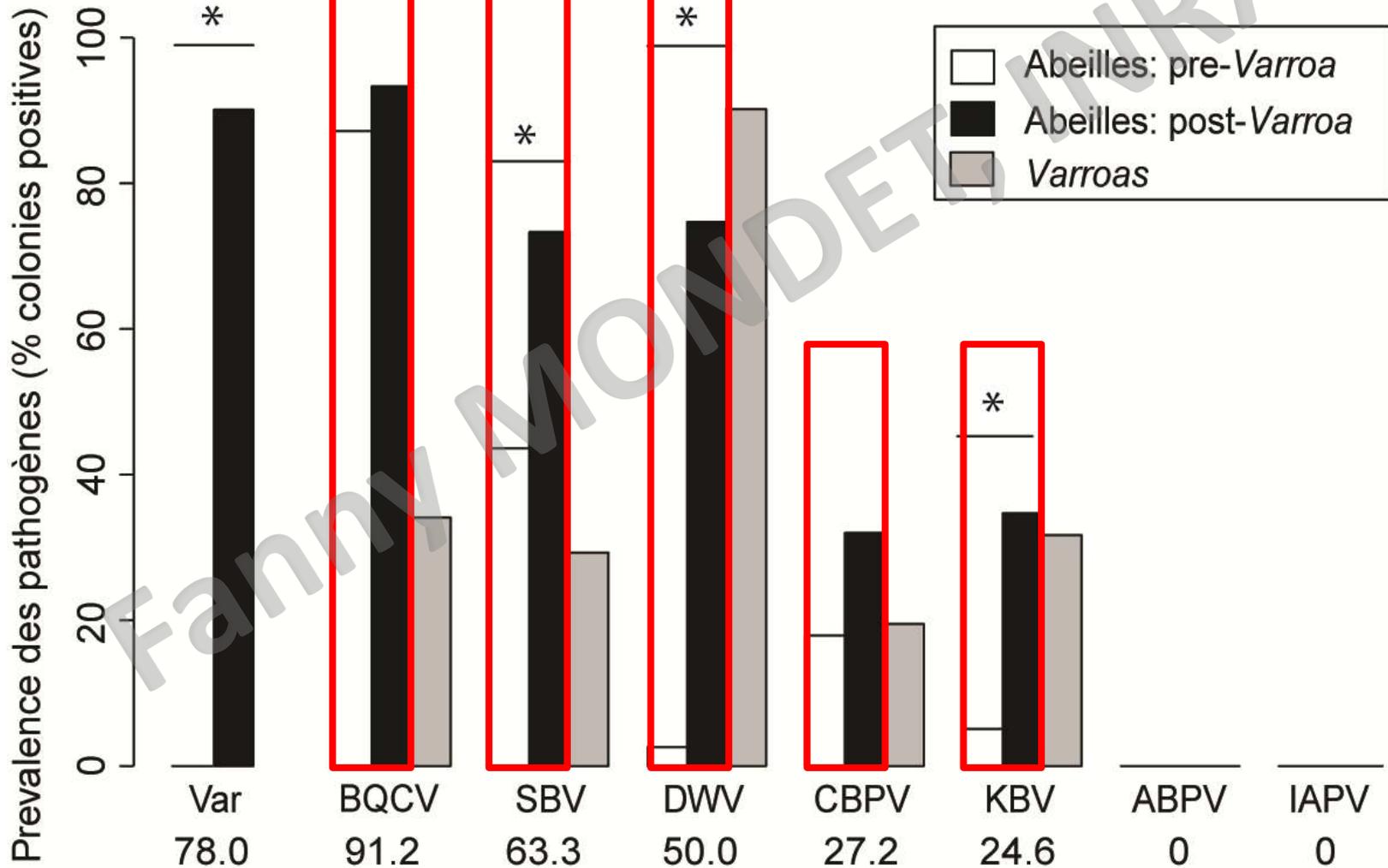
- 5 régions échantillonnées
- 4 ruchers dans chaque région

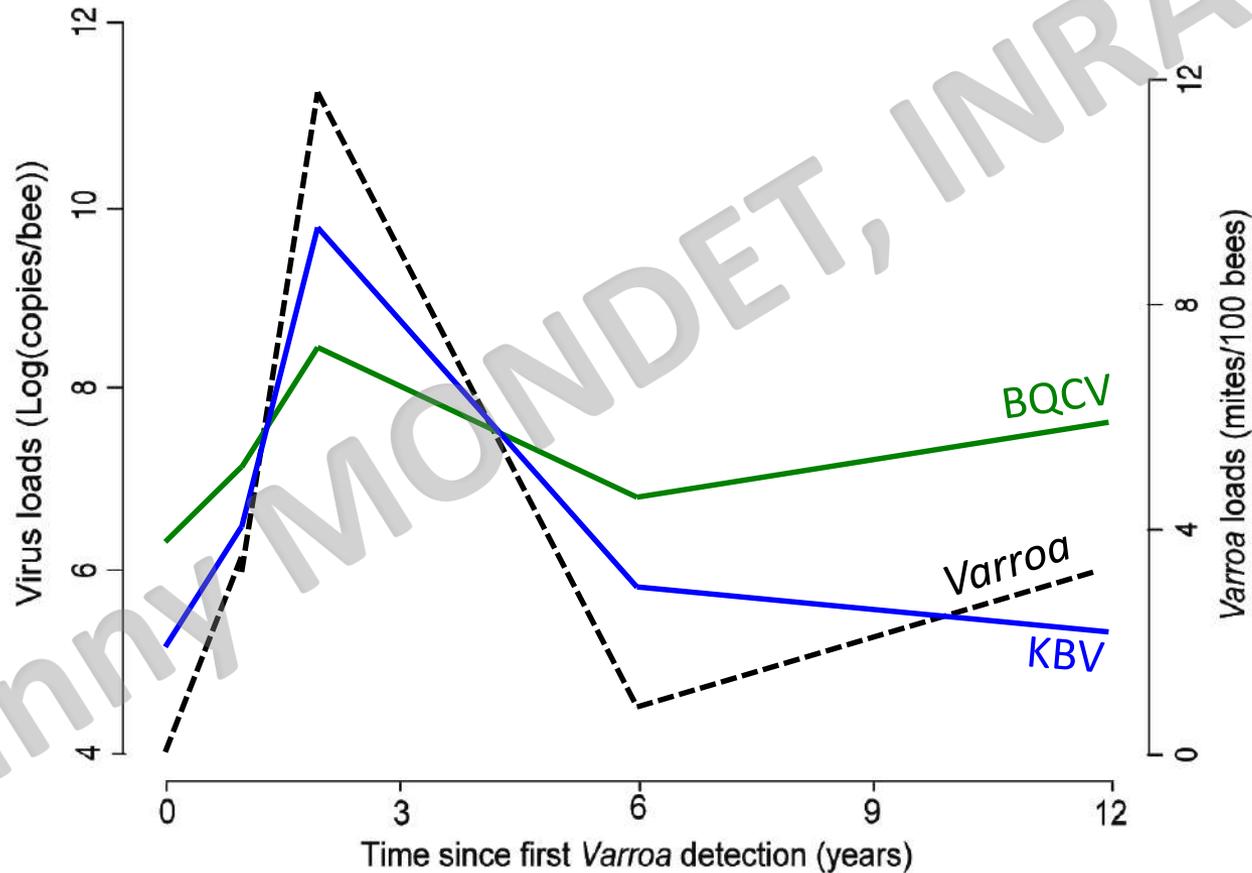


Chatham Islands
(pas d'infestation)



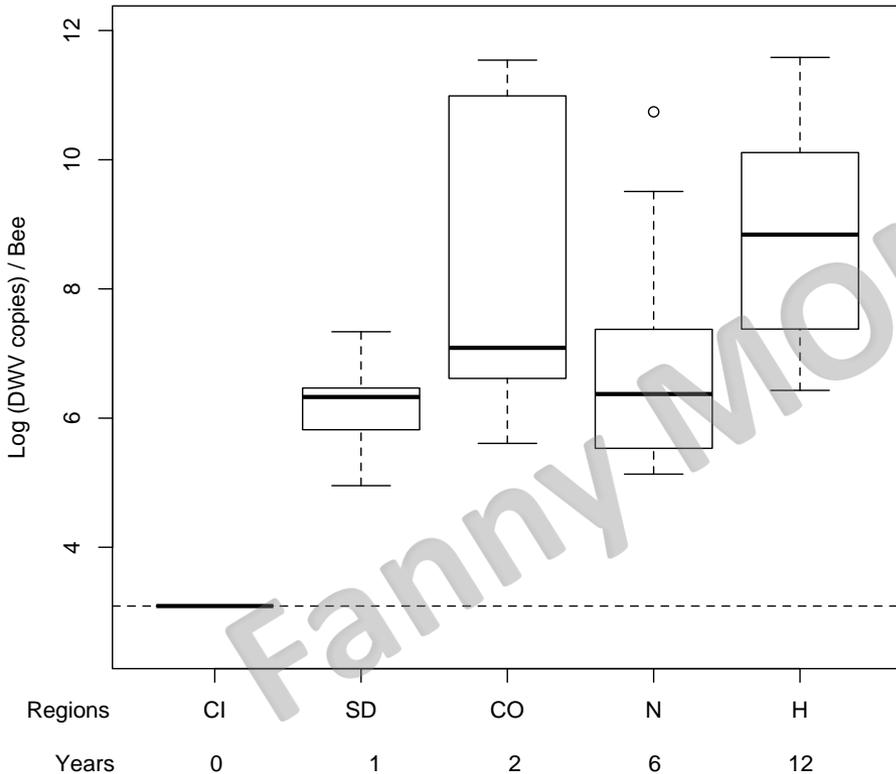
**Etude le long du gradient
d'infestation varroa**



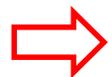
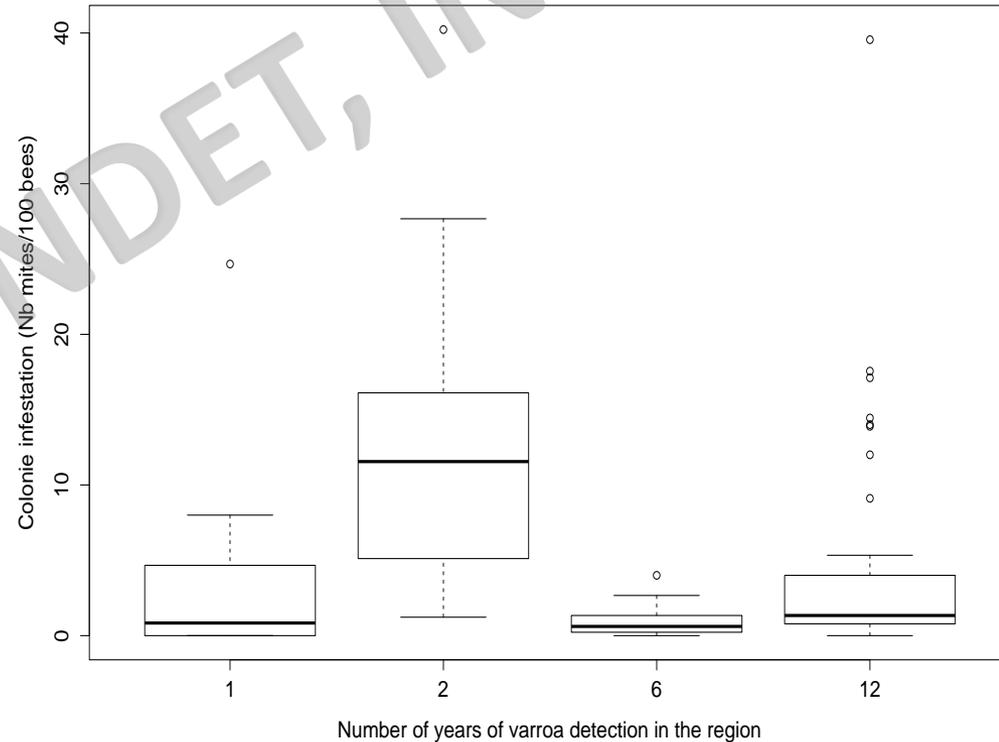


**Les dynamiques de BQCV et KBV
reflètent celle de l'infestation varroa
CBPV et varroa ne sont pas liés**

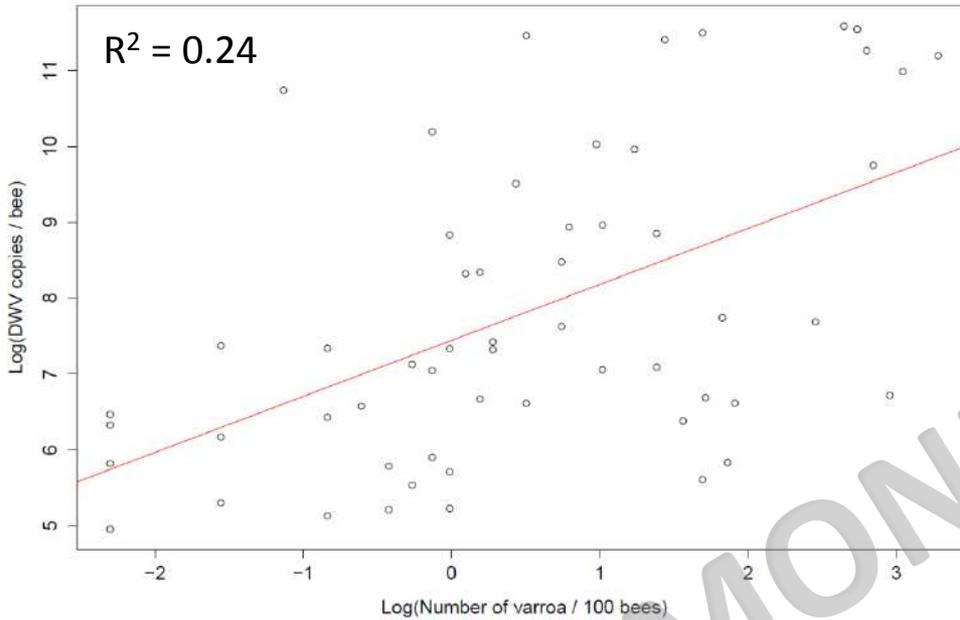
Charges en DWV



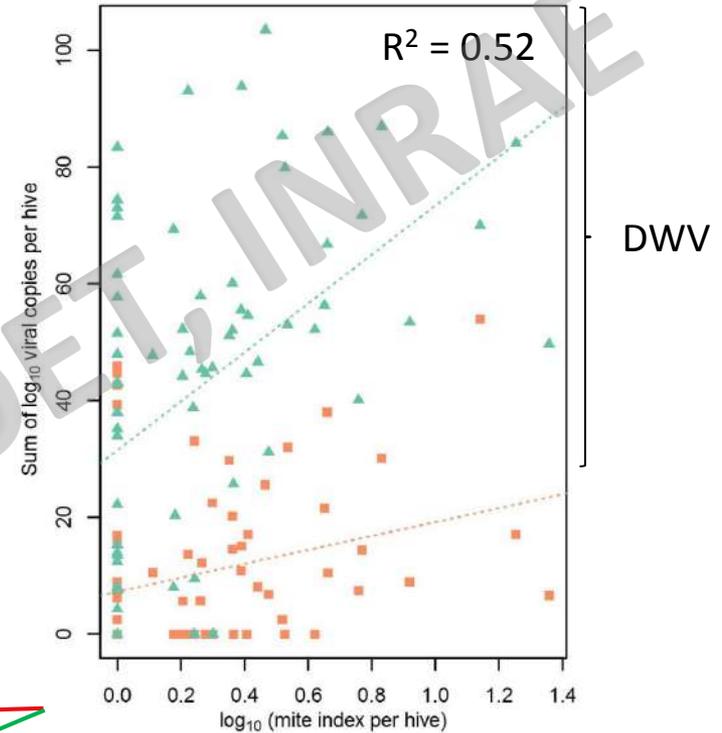
Taux d'infestation varroa



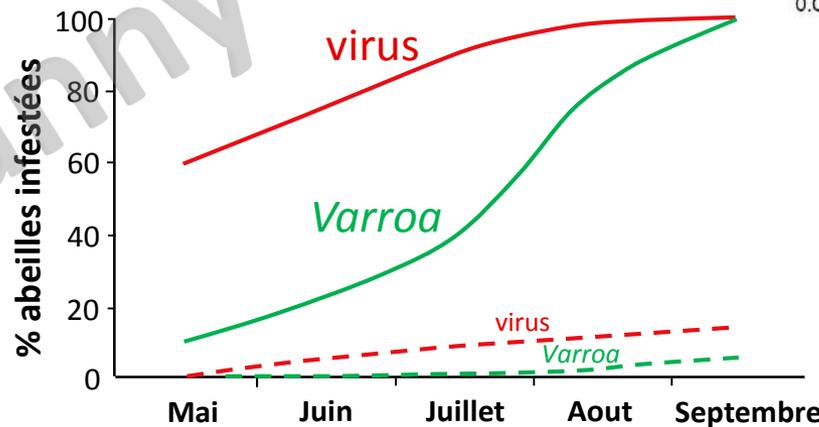
Les charges en DWV augmentent avec le nombre d'années d'exposition au varroa, malgré une diminution des charges en varroa



Mondet et al., PLoS Path. 2014



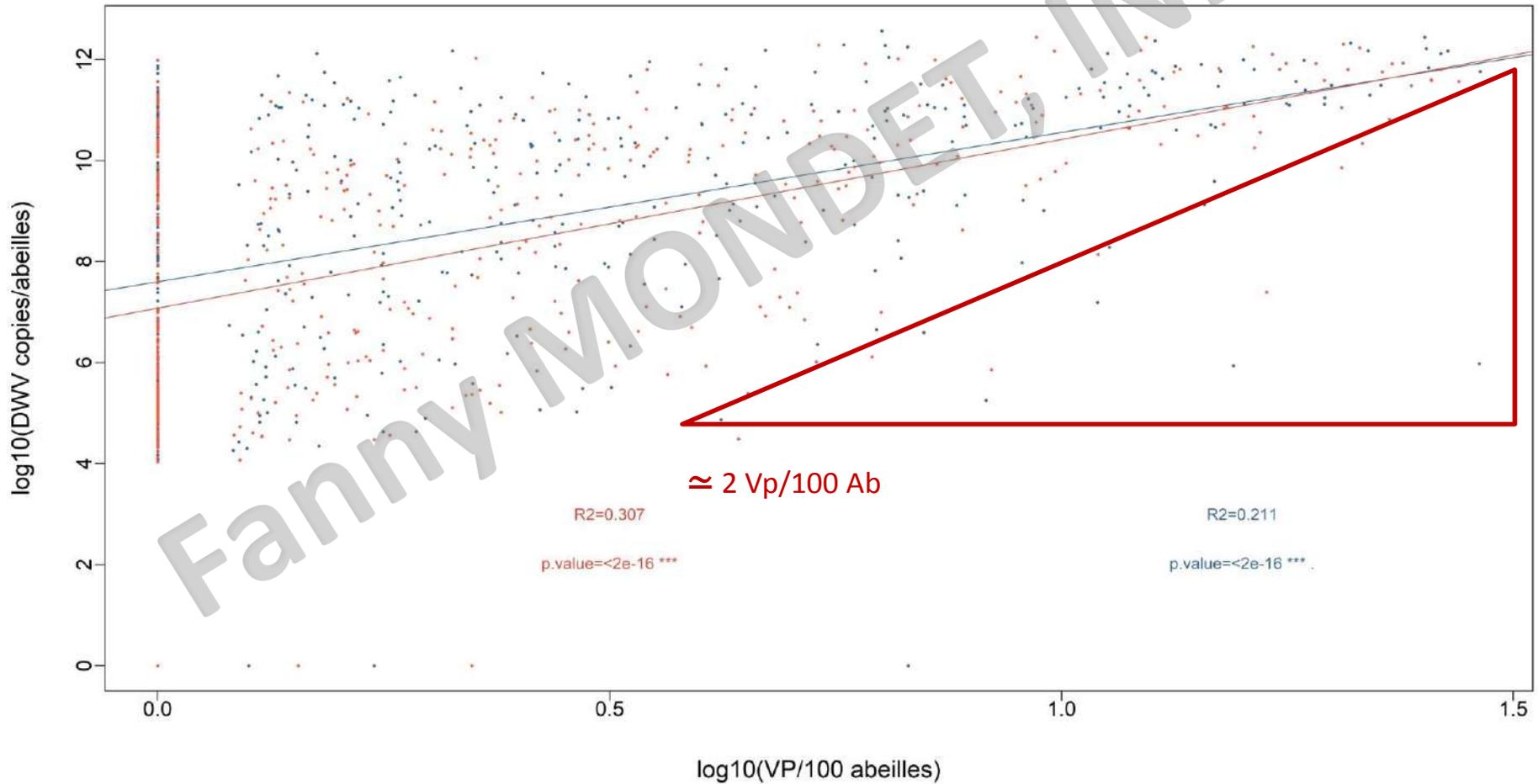
Francis et al., PLoS One 2013



D'après Ritter, OIE, 2014

➡ La charge en DWV est (partiellement) liée à l'infestation *Varroa*

Corrélation entre DWV et varroa en France



- **Varroa = vecteur mécanique et biologique**

Cause des symptômes \neq quantité de virus

= comment le virus est transmis : **PAR varroa, PENDANT stade nymphal**

- **L'infection virale devient létale pour la colonie:**

quand la majorité des individus sont atteints

- **DWV est devenu plus abondant et constant**

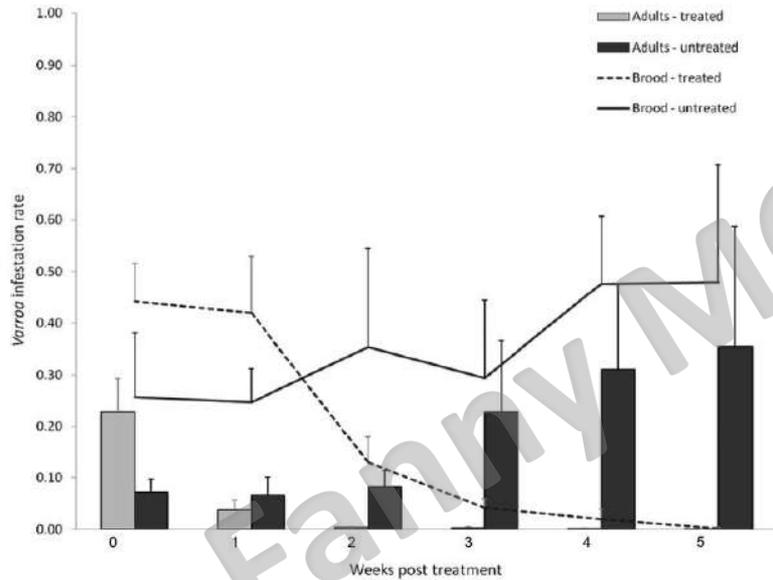
→ Il est plus difficile de l'éradiquer efficacement des colonies

→ « Moins de varroas » aujourd'hui peuvent causer plus de dommages que
« plus de varroas » il y a 30 ans

- **Correlation varroa - DWV**

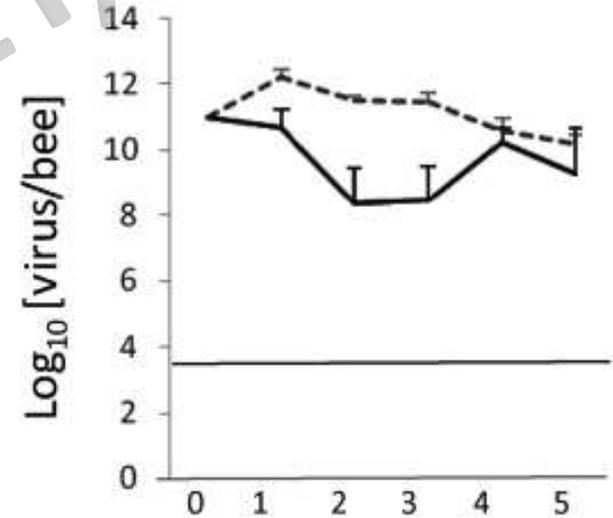
→ Avec beaucoup de varroas, impossible de ne PAS avoir beaucoup de DWV

○ Effet court-terme des traitements acaricides :



---- traité

Abeilles adultes

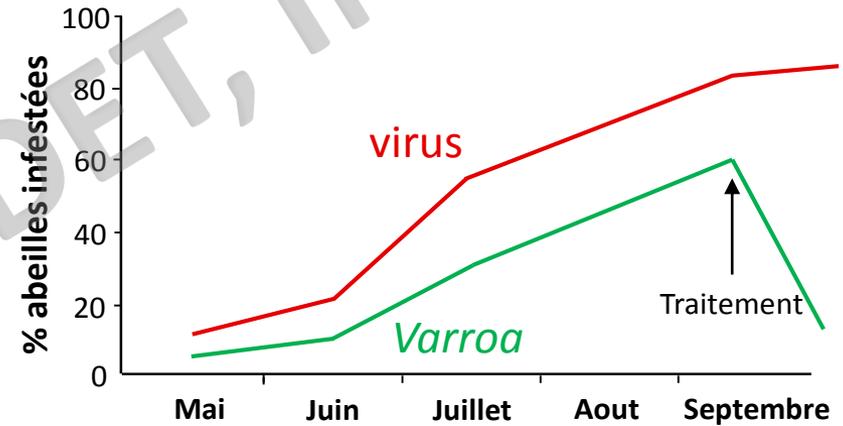
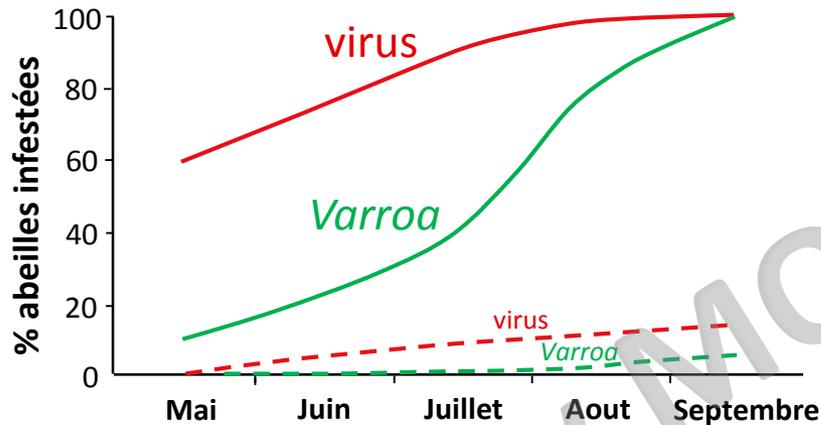


Locke et al., A&E Microbiol, 2012

⇒ Réduction de varroa devrait permettre réduction charges virales

○ Dynamiques de population varroa/virus :

D'après Ritter, OIE, 2014



Maintien d'une faible population de varroa :
→ Limitation de la population virale

Traitements anti-varroa tardifs :
→ Diminution charge varroa
→ **MAIS**
maintien niveau élevé d'infection virale



Le timing des traitements varroa peut influencer la pression virale

EVALUATION de l'INFESTATION et LUTTE



- 12 médicaments avec AMM en 2020

- Médicaments “conventionnels”

- Apistan® (tau-fluvalinate)
- Apivar® (amitraze)
- Apitraze® (amitraze)
- Bayvarol® (flumethrine)
- PolyVar® Yellow (flumethrine)

- Médicaments en “bio”

- Thymovar® (thymol)
- Apilife Var® (thymol, he)
- Apiguard® (thymol)
- MAQS® (acide formique)
- Api Bioxal® (acide oxalique)
- Oxybee® (acide oxalique)
- VarroMed® (acide formique, oxalique)



+ méthodes populationnelles

- Encagement
- Retrait de couvain

Compter des varroas ?

Ouais, vas-y
Tout droit,
C'est bon.

Tout va bien je
n'ai pas VARROA
dans mes
colonies !!



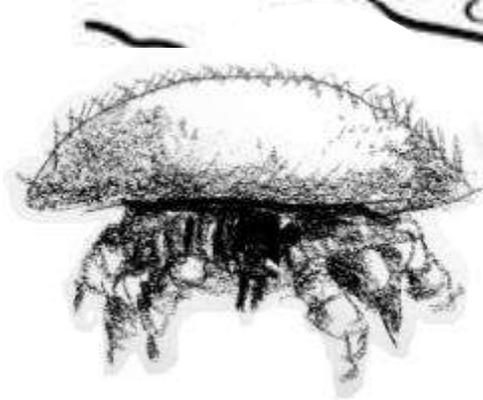
Compter des varroas ?

Ouais, vas-y
Tout droit,
C'est bon.

Tout va bien je
n'ai pas VARROA
dans mes
colonies !

FAUX

Fanny MONDEIN

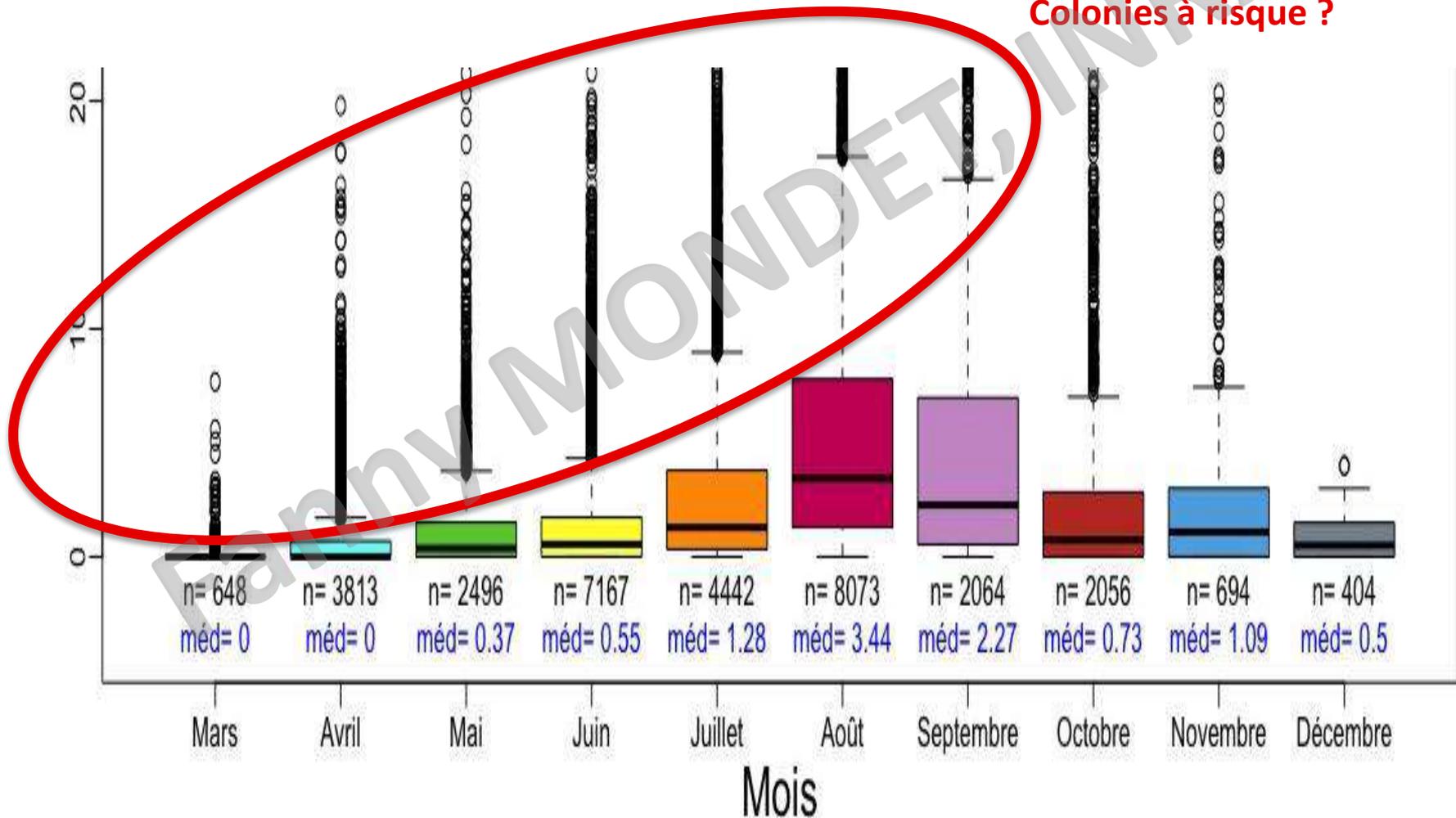


Une base de données de plus de 40.000 mesures pour :
comprendre,
avoir des références,
se comparer....

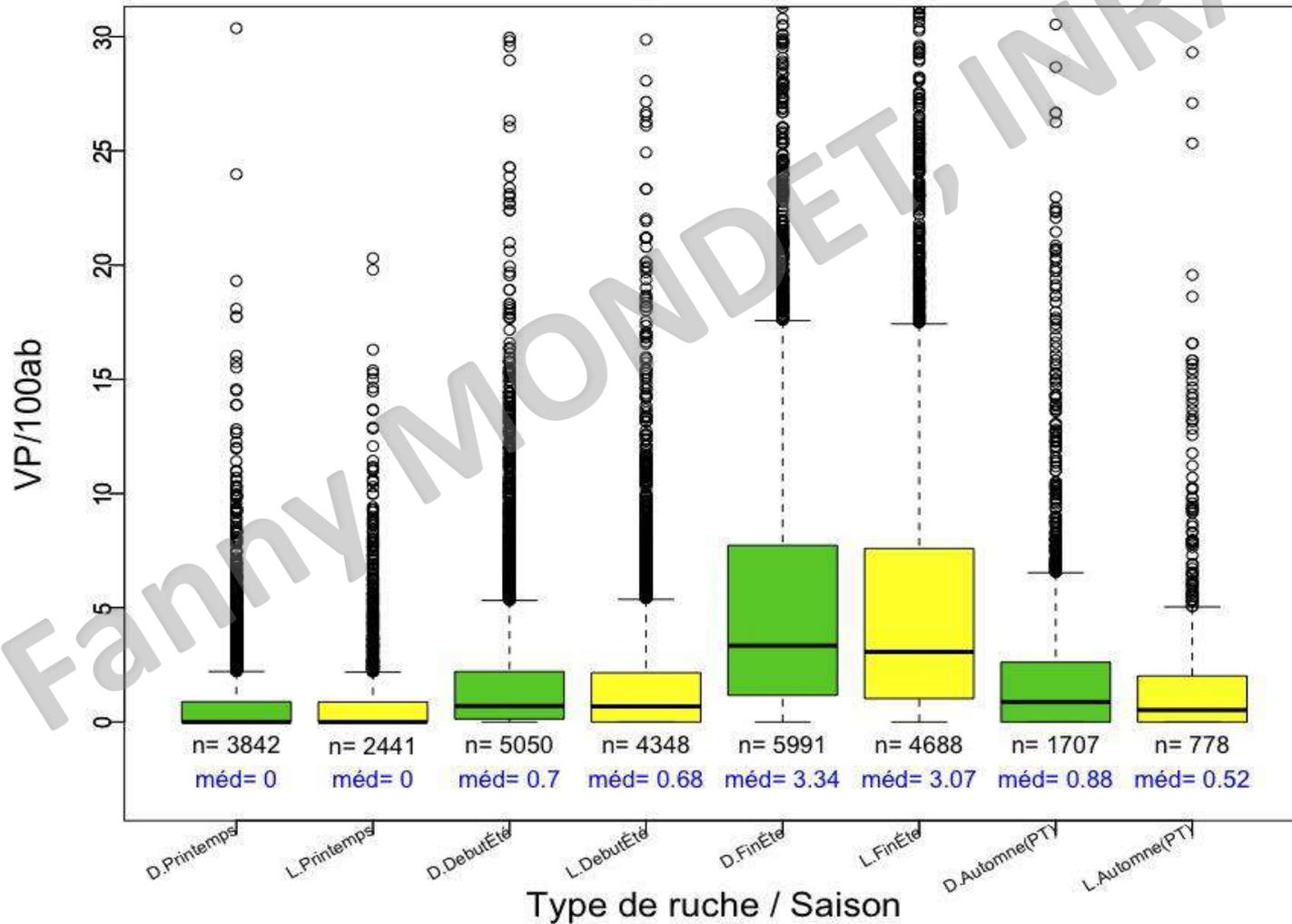
"Base Varroas phorétiques ; données collectivement rassemblées par les organismes suivants : ADA-NA, ADAPI, ADAPIC, ADA-AURA, ADA-OCCITANIE, AOP-Corse, ITSAP, INRA-A&E, INRA-BioSP."

Charge en Varroas par mois, toutes régions confondues 2009-2017
n=28000

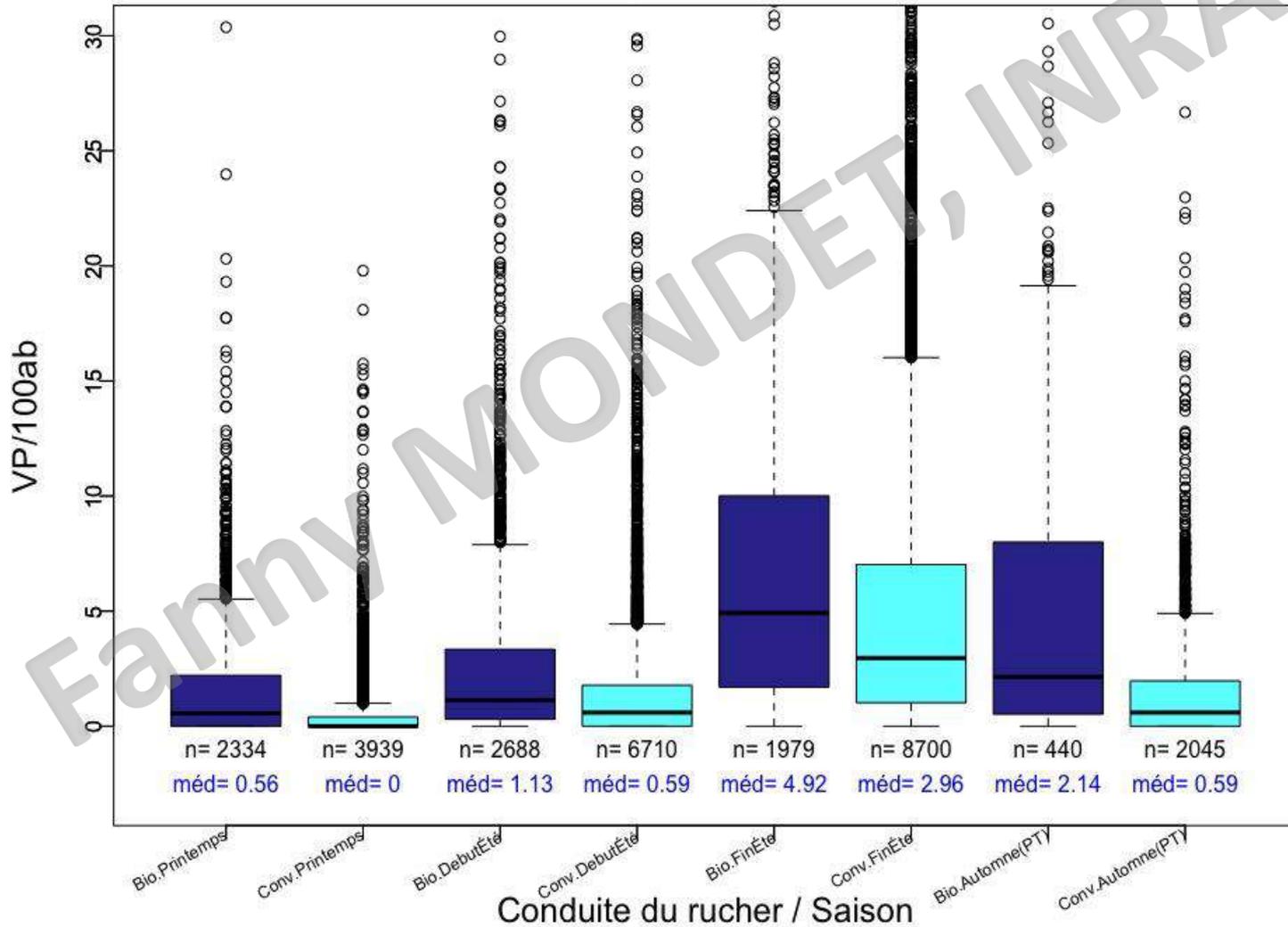
Colonies à risque ?



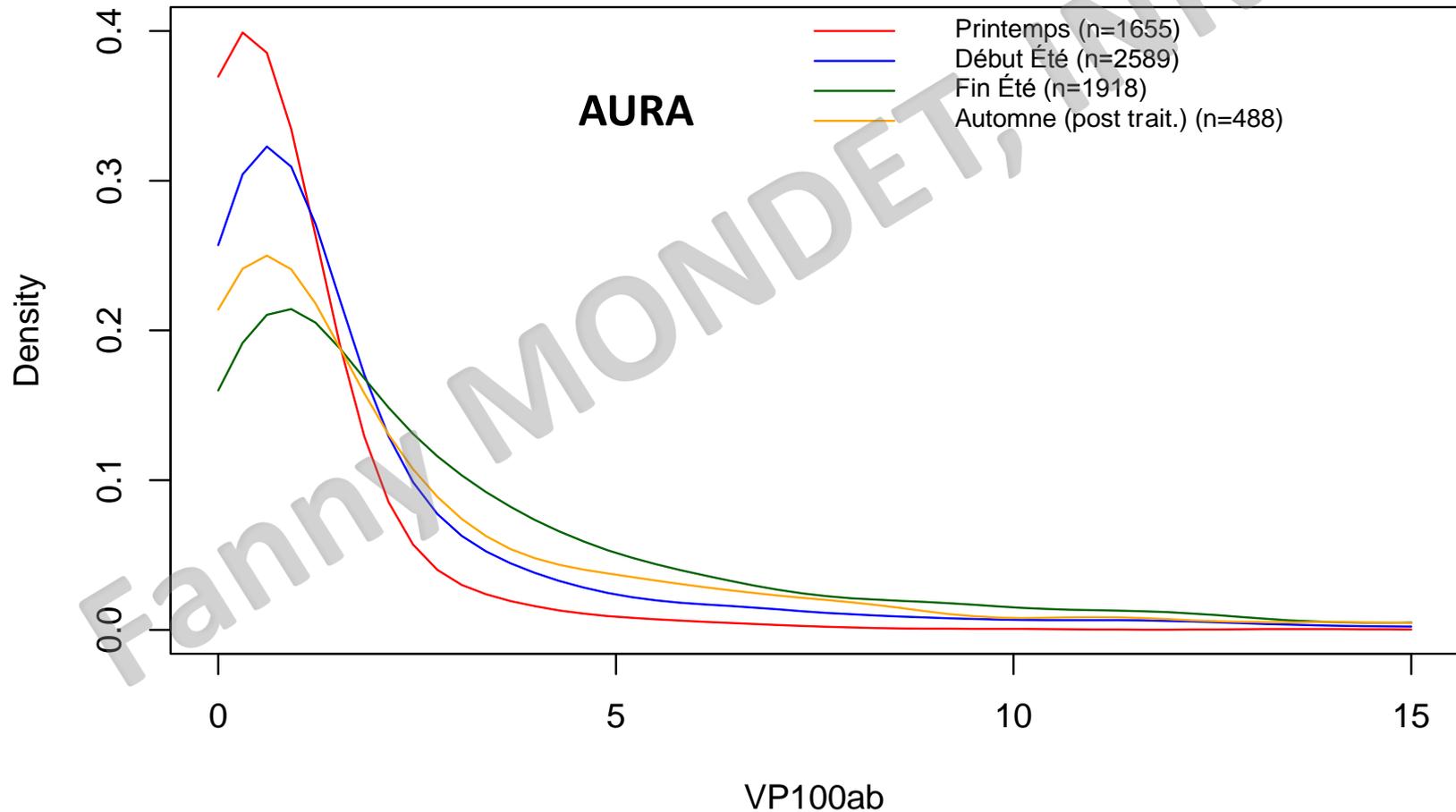
Charge en varroas comparant Dadant et Langstroth pour chaque saison



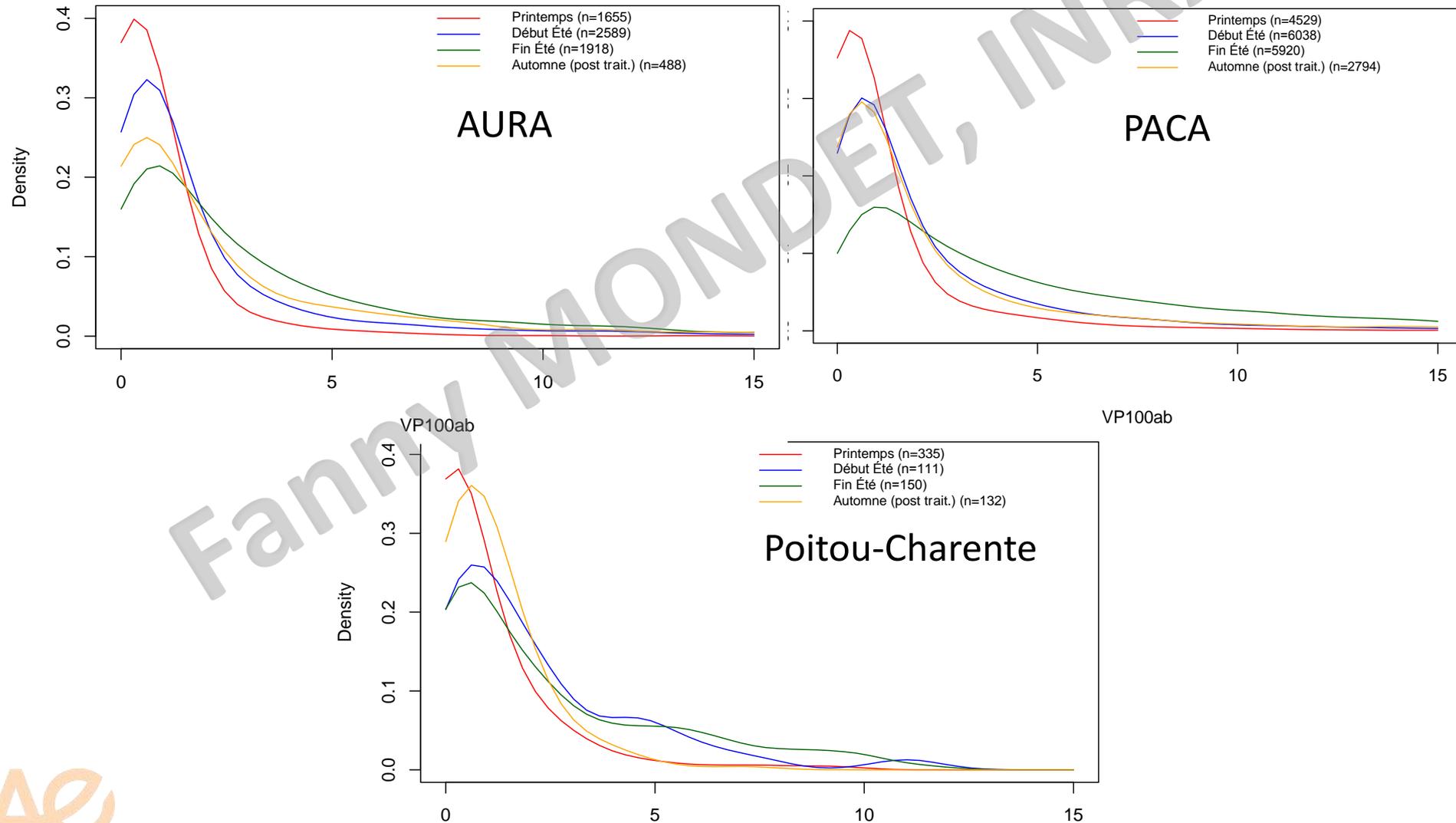
Charge en varroas comparant Bio et Conventionnel pour chaque saison



Effet des traitements de fin de saison / spécificités régionales



Effet des traitements de fin de saison / spécificités régionales



CONTROLE de VARROA et RESISTANCE



- Limites / échec des stratégies de lutte contre le varroa

- Efficacité *(Rosenkranz et al. 2010; Rademacher et al. 2006)*
- Effets non désirables *(Mondet et al. 2011; Johnson et al. 2009; Chauzat et al. 2009)*
- Résistance *(Nazzi et al. 2010; Pettis et al. 2004; Milani et al. 1999)*

⇒ **Besoin de développer de nouvelles solutions contre le varroa**

- But = réduire la dépendance aux traitements chimiques
(cibler des étapes clés du mécanisme de parasitisme)

- Stratégie à long-terme : sélection pour la capacité de survie au varroa

⇒ **Difficultés : quels mécanismes en jeu ?
quels outils de phénotypage (sélection) ?**

○ Définition de la tolérance/résistance

“Capacité de colonies d’abeilles parasitées par le varroa à survivre pendant plusieurs années, en l’absence de traitement anti-varroa”

(Mondet and Le Conte, OIE, 2014)

○ Potentiellement, une solution durable

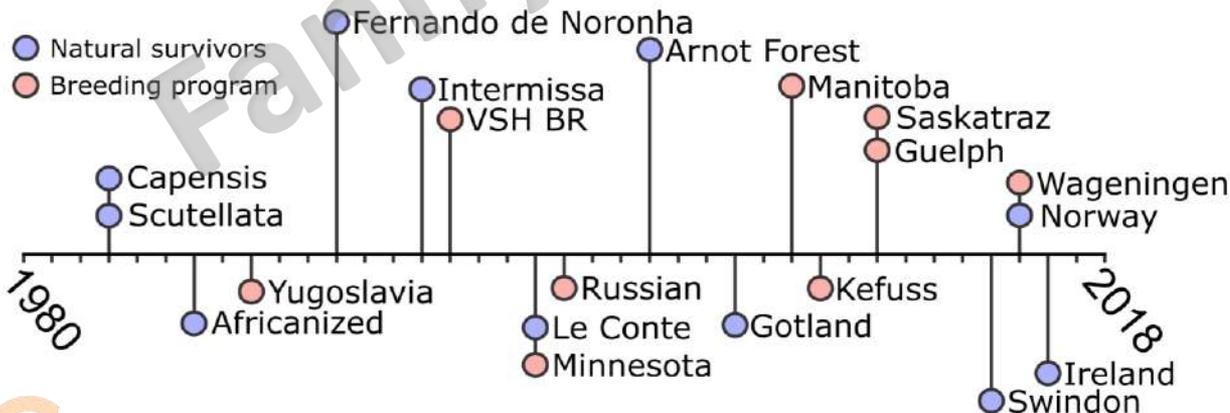
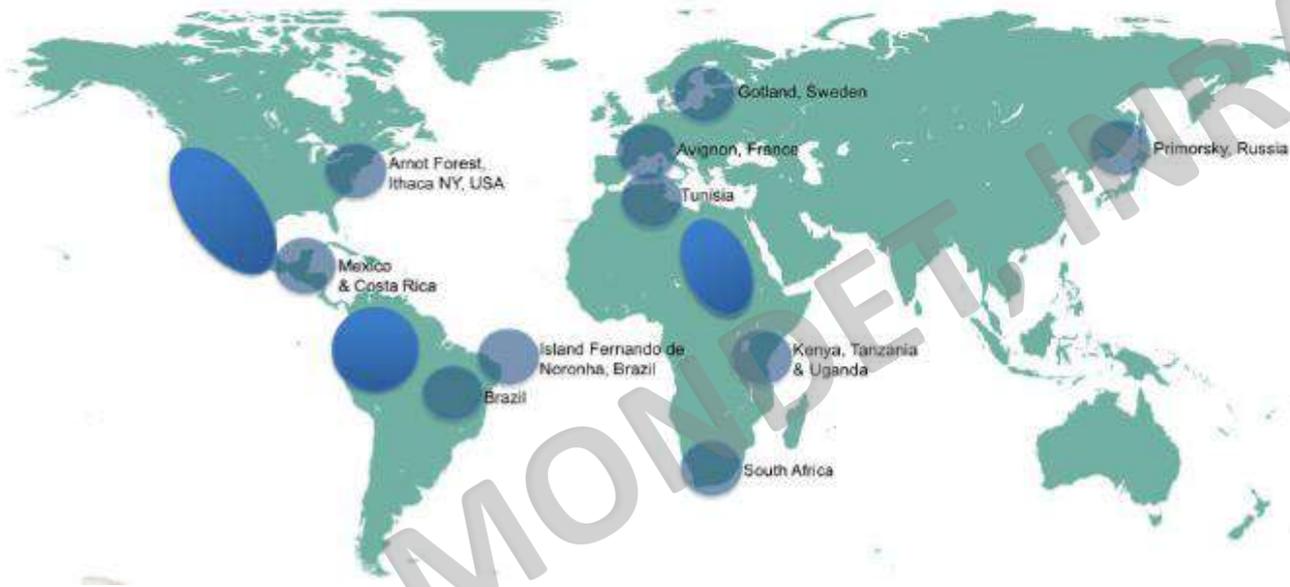
○ Démonstration localement dans différentes populations

- Abeilles africanisées *(Boecking et al. 1993 ; Rosekranz et al. 1999)*
- Abeilles européennes *(Le conte et al. 2007 ; Fries et al. 2006 ; Seeley et al. 2007)*

○ Plusieurs programmes de sélection (critères)

- US *(Harris 2003 ; Harbo 1999 ; Ibrahim and Spivak 2006)*
- Allemagne *(Buchler et al., Apidologie, 2010)*
- Pays-Bas *(Arista, unpublished)*
- Nouvelle-Zélande *(BettaBees, unpublished)*
- ...

Populations d'abeilles survivantes au varroa INRAE



Les pressions naturelles de sélection sont supprimées par nos pratiques d'apiculture

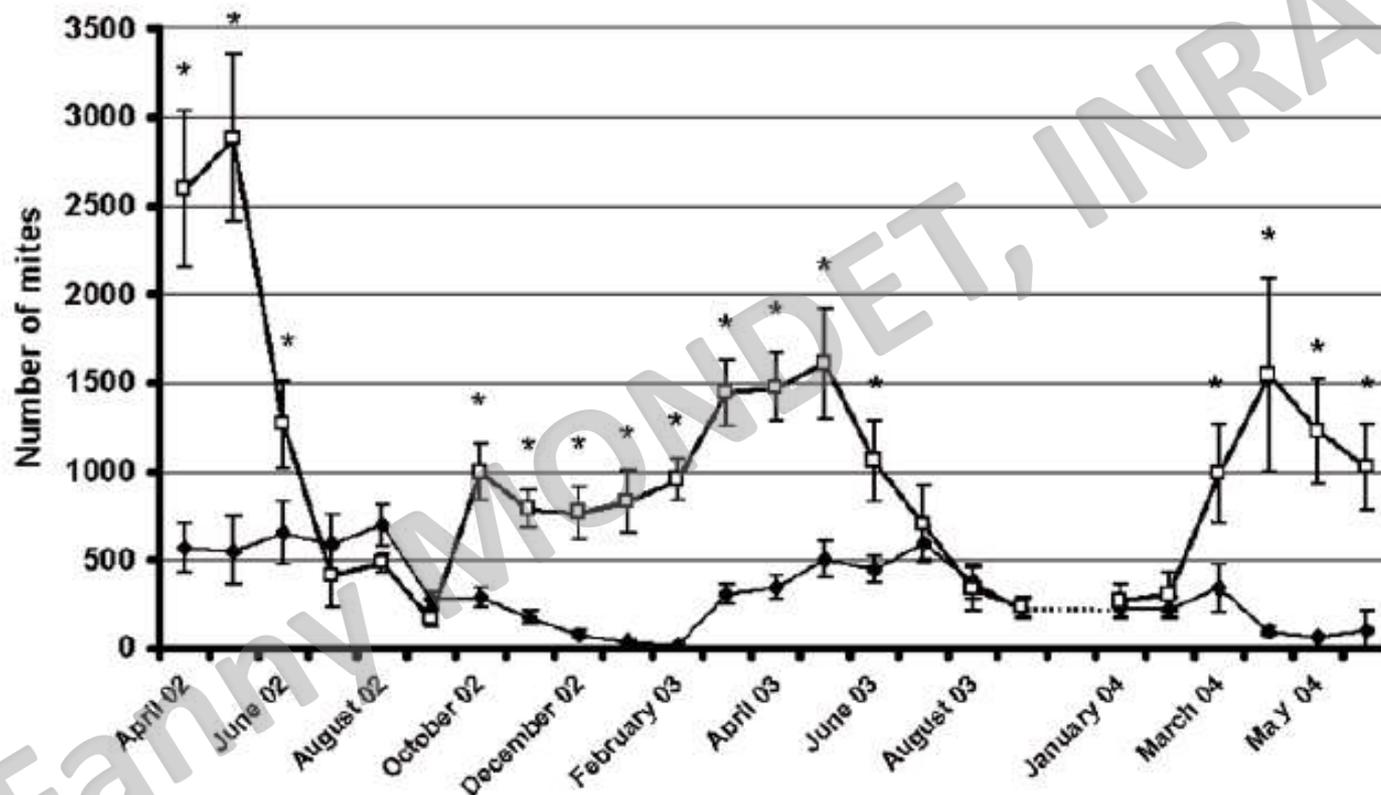


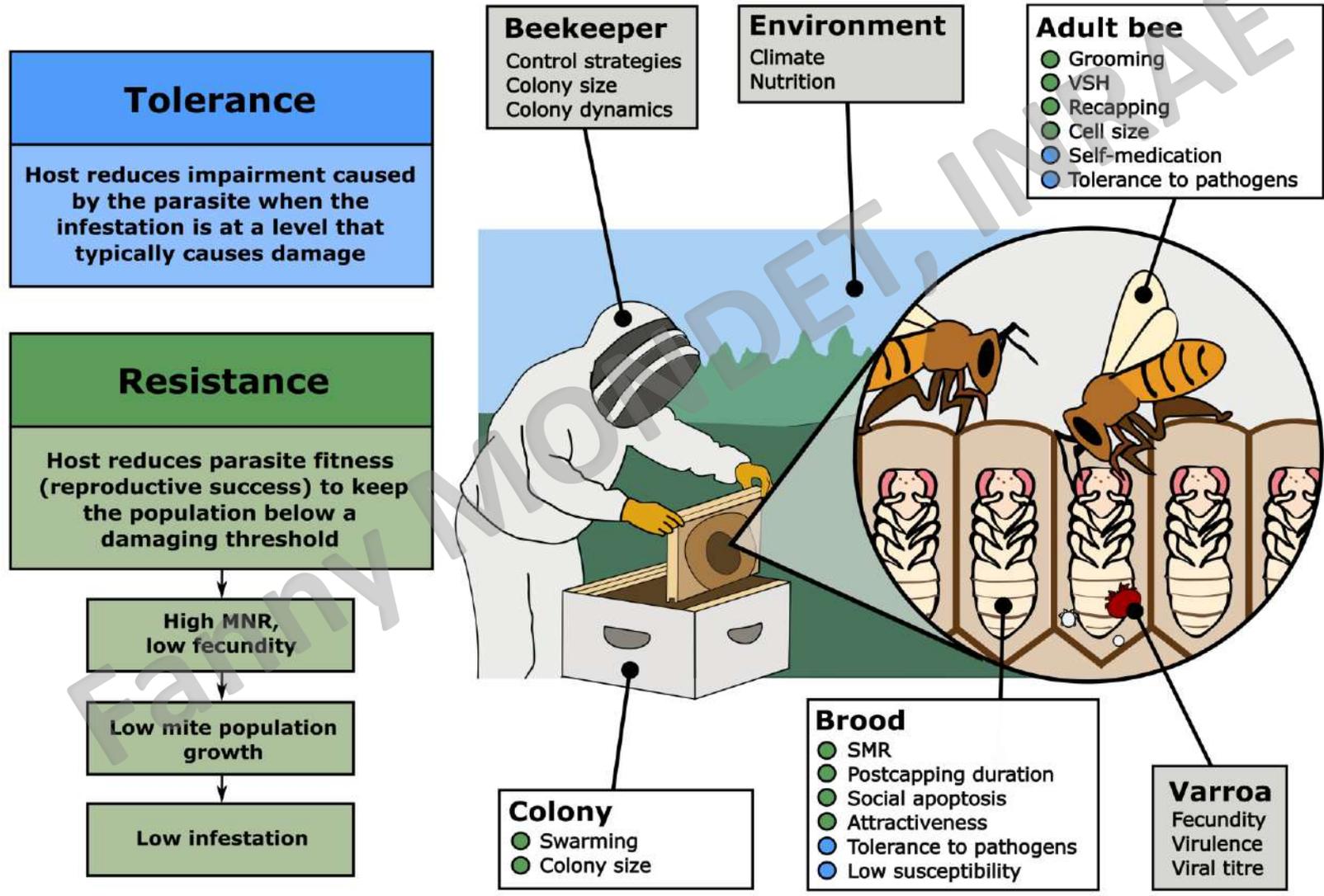
Figure 1. Number of mites collected per month on the bottom board (mean \pm S.E.) from April 2002 to June 2004. Mites were not counted between October 2003 and December 2003. \diamond represent mean number of mites in VSB (n = 12 colonies), \square represent control colonies (n = 16). (* Significant statistical differences, Mann-Whitney test, $P < 0.05$).

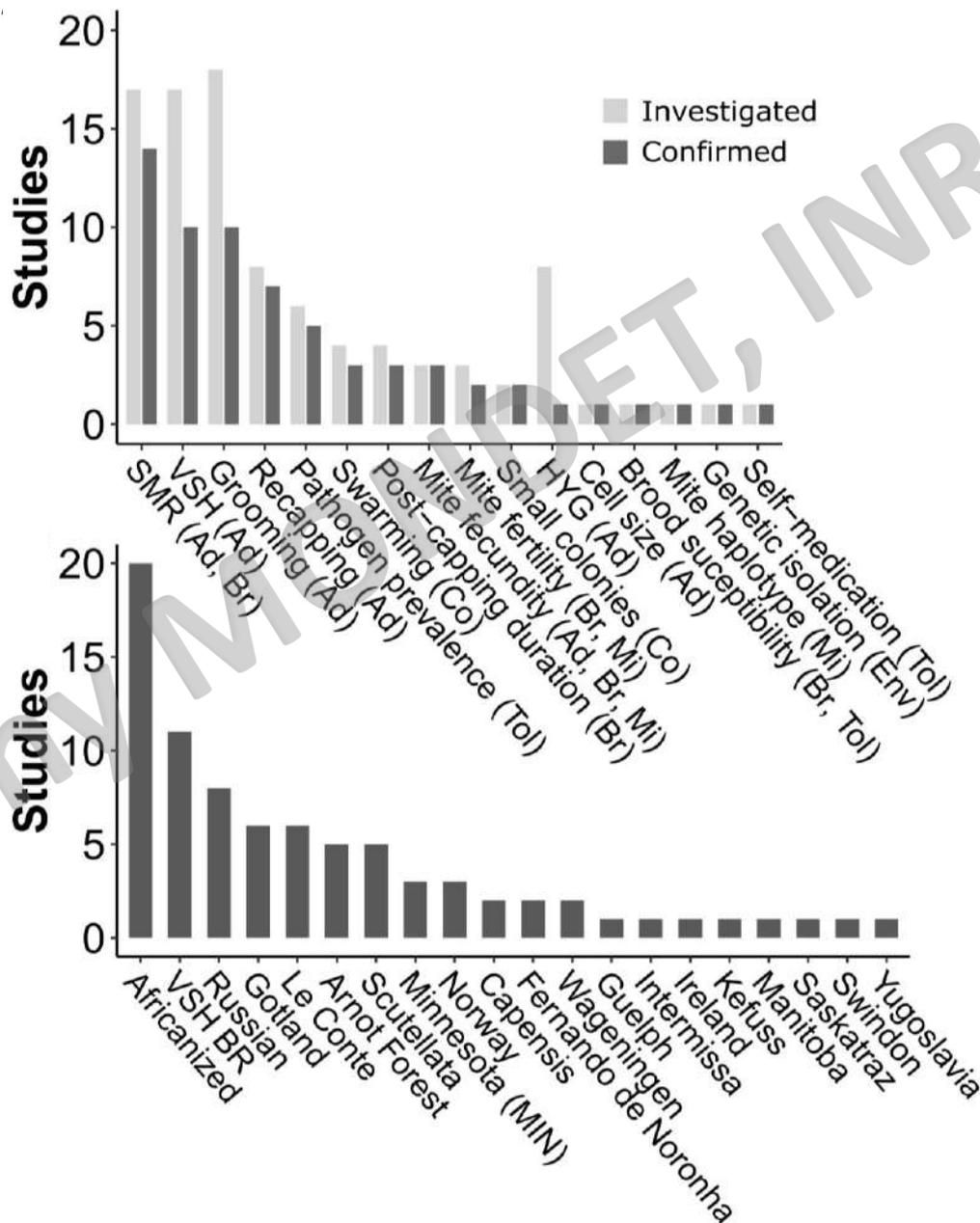
Buchler et al., 2010



Survie par mécanismes de résistance

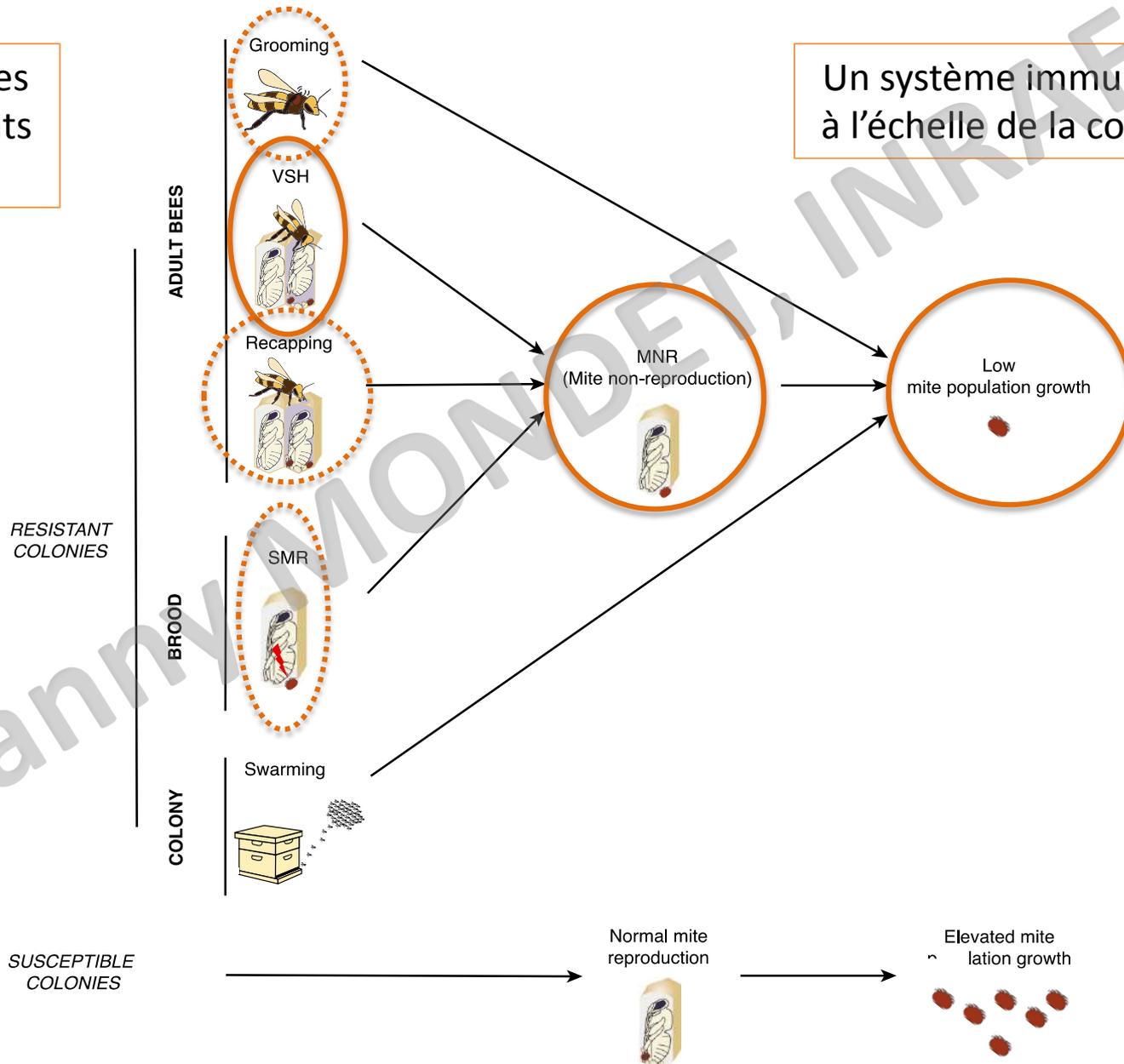




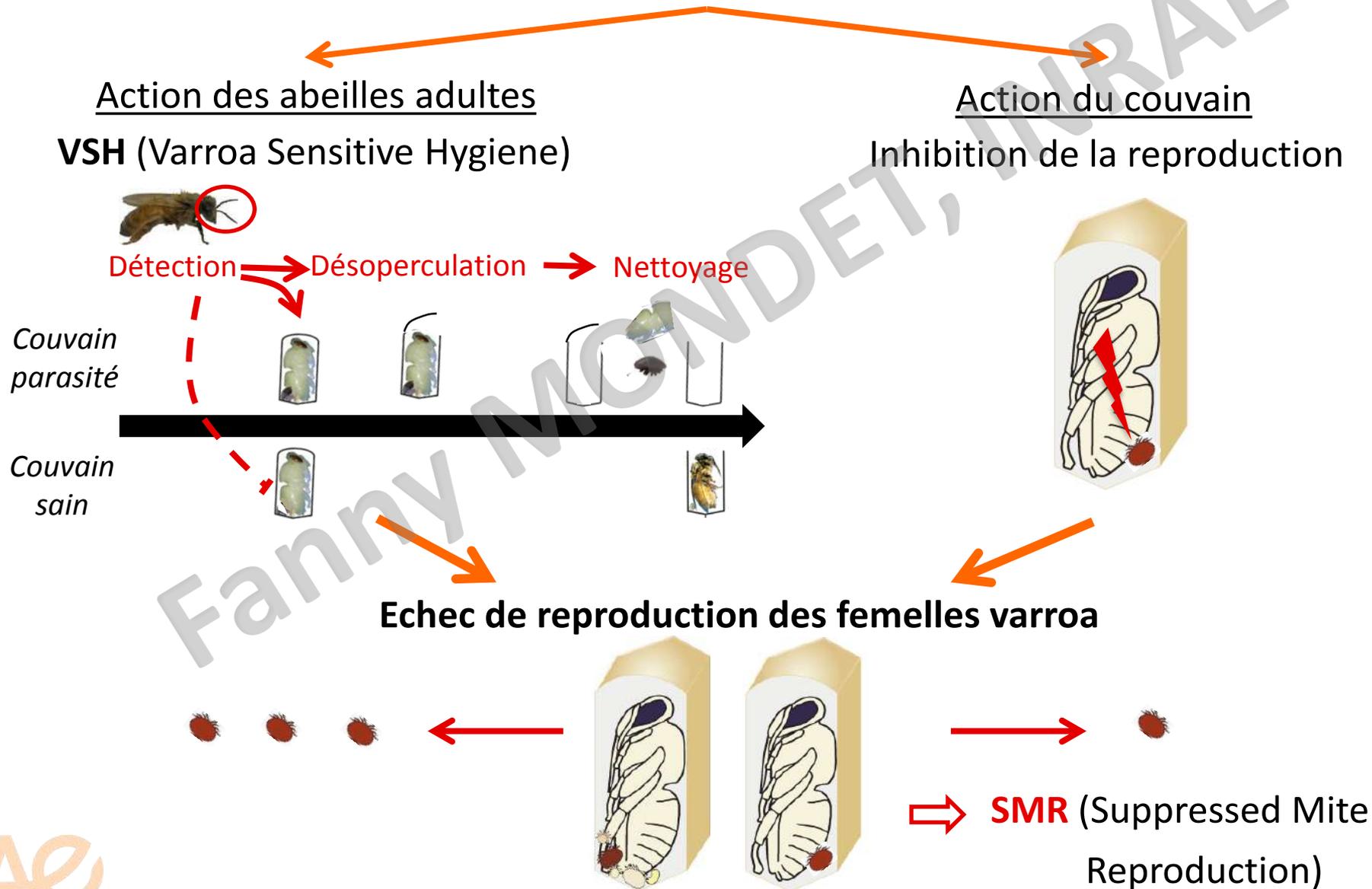


Importance des comportements de défense

Un système immunitaire à l'échelle de la colonie !



- *Apis mellifera* peut développer des réponses comportementales au varroa



- **Nettoyage sélectif des cellules infestées par varroa**
- **Coïncide avec un faible taux de varroas reproducteurs**
- **Une forte expression de VSH confère une forte tolérance/résistance à varroa**
 - Potentiel de sélection selon ce critère



© F. Mondet



© F. Mondet

Etapes de nettoyage des cellules infestées

Fanny MONDET, INRAE

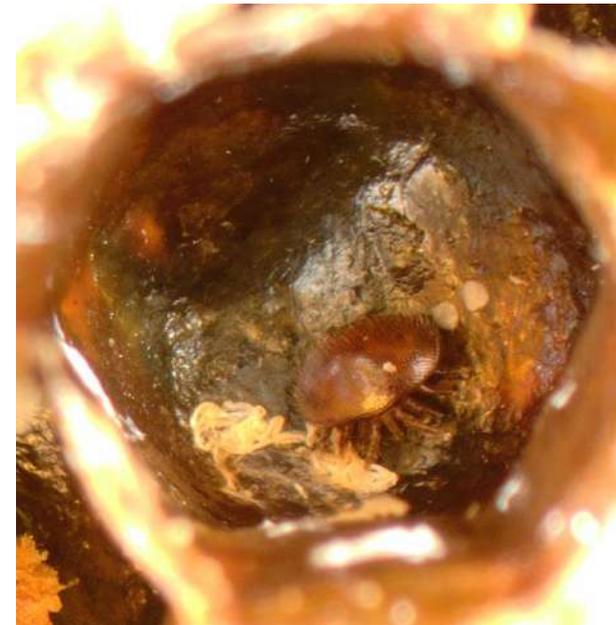
- **1997** : Détection d'abeilles avec une faible croissance varroa
- **1999** : Découverte de la suppression de reproduction (SMR)
- **1999** : Découverte du caractère héréditaire du comportement
- **2001** : Démonstration de l'utilité en croisements
- **2005** : Identification du mécanisme = VSH
- **2007** : Débuts d'utilisation en apiculture
(commercialisation de reines aux USA)
- **2010+** : Début de la caractérisation moléculaire
(USA, Suède, Allemagne, Canada)

McAfee et al., Mol Cell Proteo, 2017

Spotter et al., J.Hered, 2016

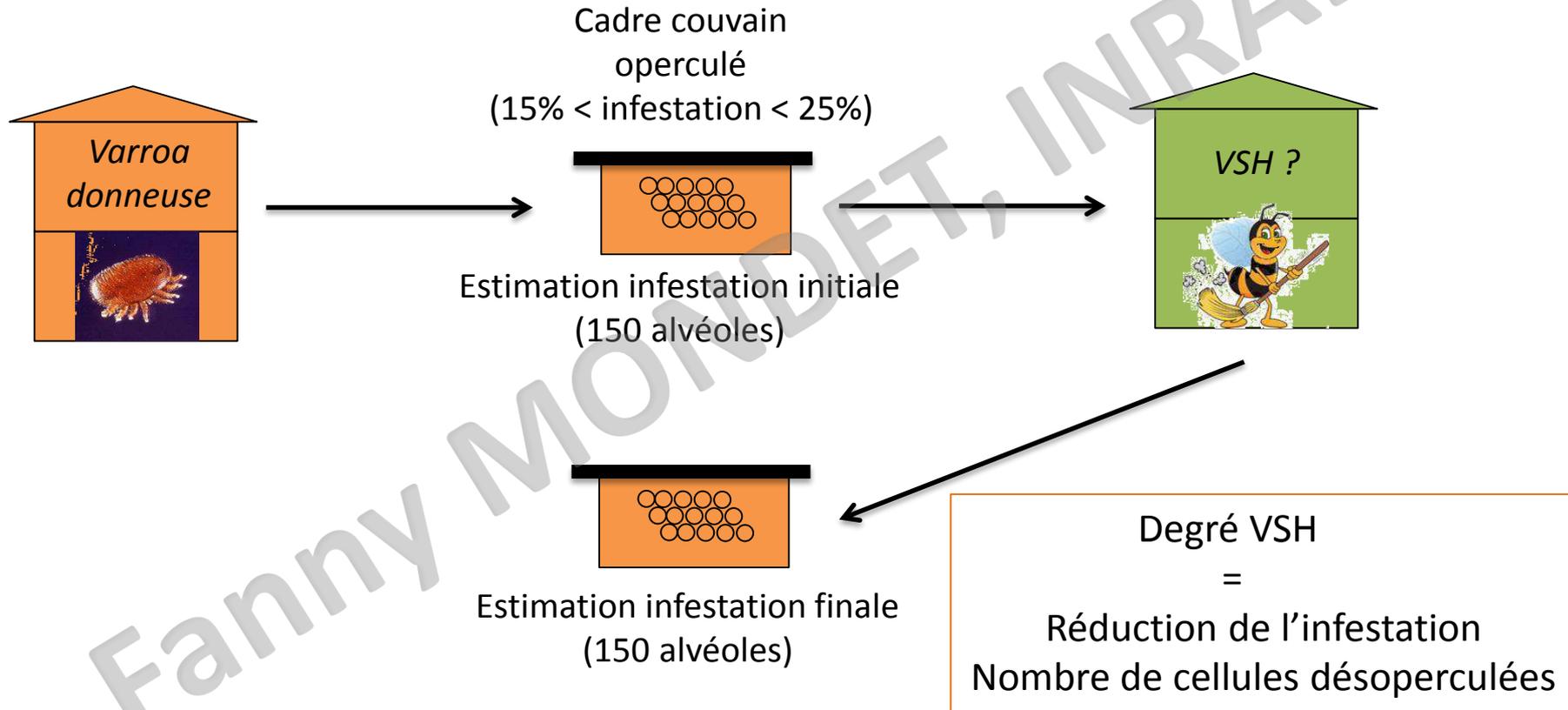
Tsuruda et al., PLoS One, 2012

Behrens et al., Ecol&Evol, 2011



Femelle varroa non reproductrice

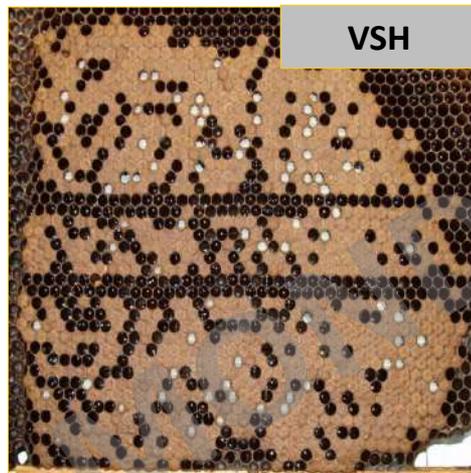
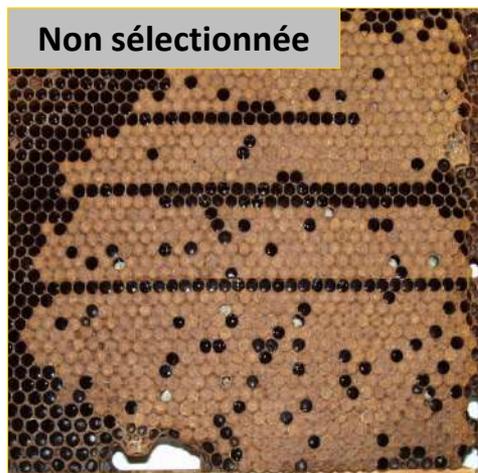
○ Réponse VSH à du couvain infesté par varroa



○ Test alternatif : test par infestation artificielle



- Réponse à court/moyen terme à du couvain infesté par *Varroa*



Réponse à 4 heures

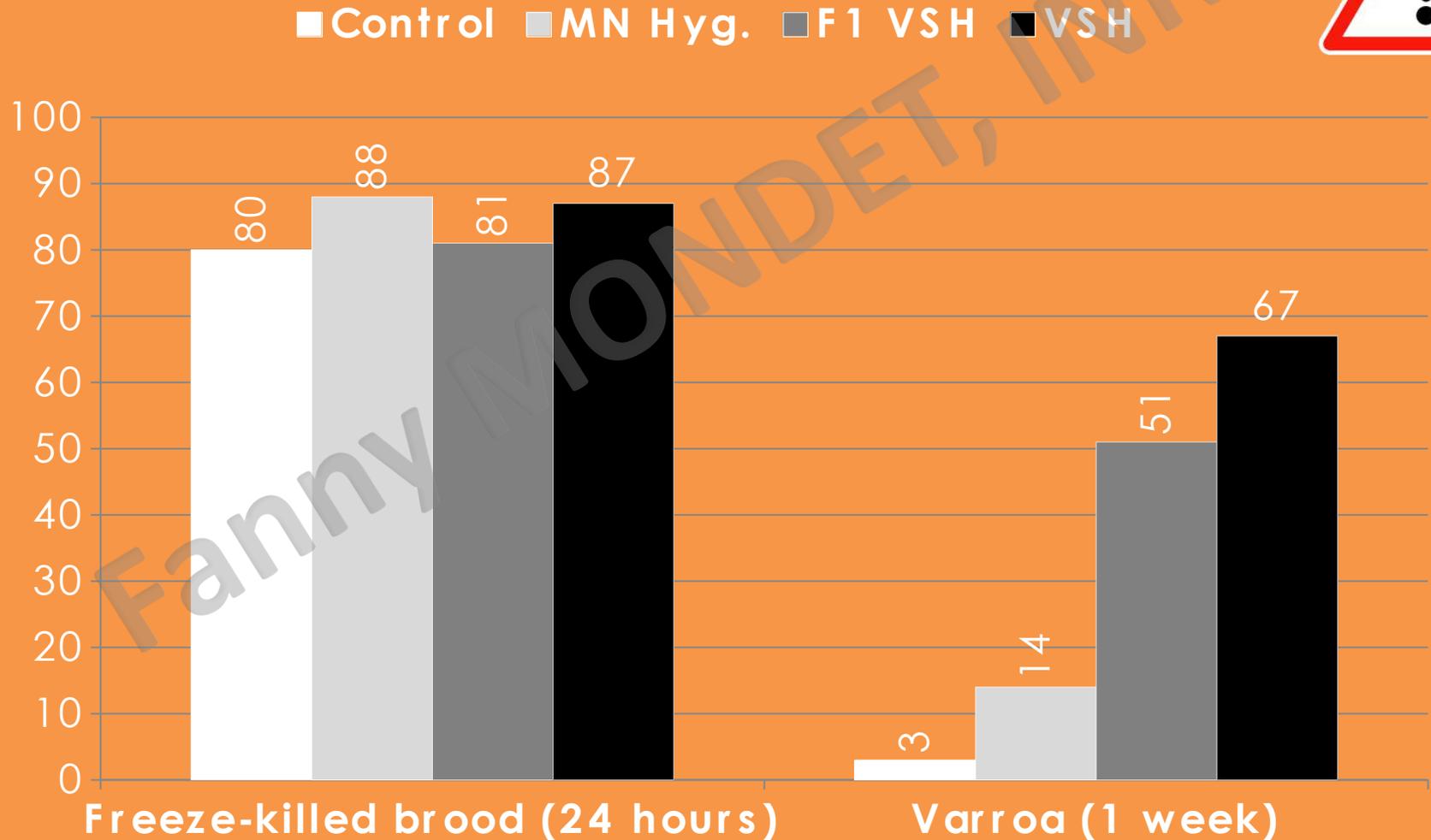


Réponse en une semaine

Enlèvement du couvain infesté :
> 60%

Test du couvain congelé



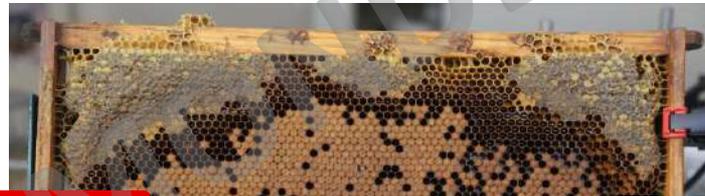


Phénotypage du caractère non reproducteur INRAE

- En “fin de saison” : infestation en varroa du couvain > 5%

Prélèvement d'un cadre de couvain operculé dans la colonie à évaluer pour SMR

- Phénotypage du caractère SMR



Alvéole de couvain parasitée avec **varroa non-reproducteur**

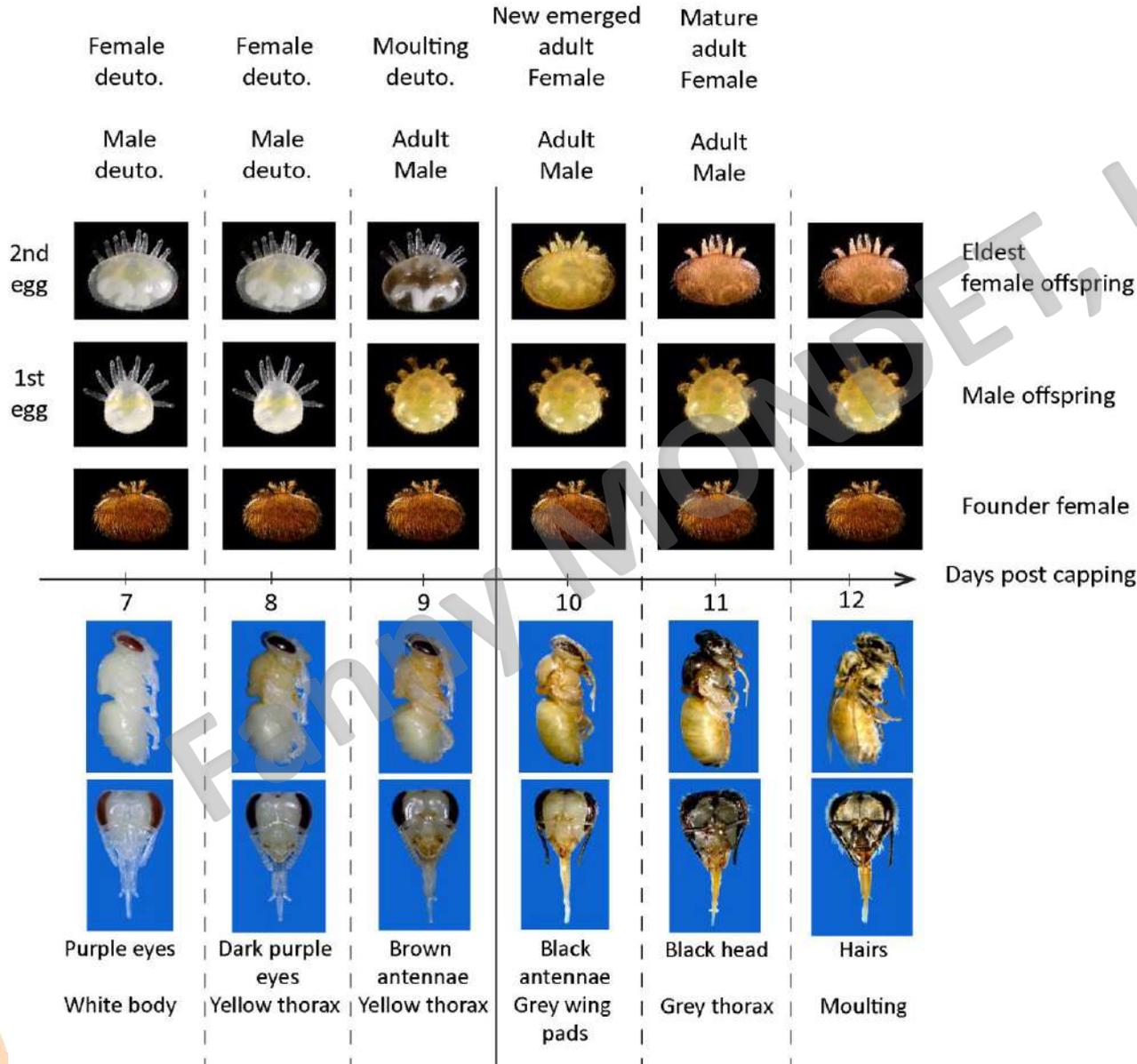


Alvéole de couvain parasitée avec **varroa reproducteur**



→ Dissection de 35 alvéoles infestées → **ratio non-reproducteur / reproducteur**

Protocole de phénotypage SMR



Fanny MONDET, INRAE

Avantages / inconvénients de la sélection VSH/SMR

○ Caractéristiques du VSH/SMR

- La survie au varroa diminue le besoin en traitement acaricide
- Caractère héréditaire

○ Inconvénients de la sélection VSH/SMR

- Difficile à mesurer (intérêt de la sélection assistée par marqueurs, autres méthodes)
- La plupart de la sélection s'est basée seulement sur la survie au varroa, pas en miel, hivernage etc...

⇒ **Vers d'autres outils de mesure du VSH et SMR**

- Intégration dans les schémas de sélection existants, pour :
 - Permettre la sélection en parallèle sur d'autres critères (production)
 - Garantir le maintien de la diversité existante des abeilles en France

- Rôle des organismes de recherche / développement :
 - Développer et diffuser des outils pour détecter le VSH/SMR dans les colonies
 - Détection de la capacité de résistance
 - Emettre des recommandations pour l'utilisation optimale du caractère (conditions d'expression, transmission à la descendance...)
 - ~~Sélectionner une lignée d'abeille « super VSH »~~

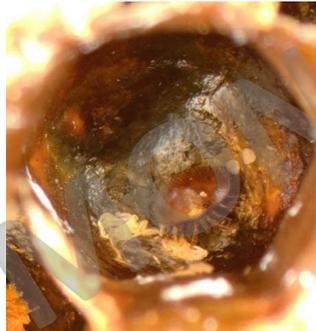


Comment reconnaître des colonies VSH/SMR ?

○ Objectifs : **Nouveaux outils d'évaluation de la résistance utilisables par la filière**

○ Développement de marqueurs moléculaires du SMR

- Mosar
- BeeStrong



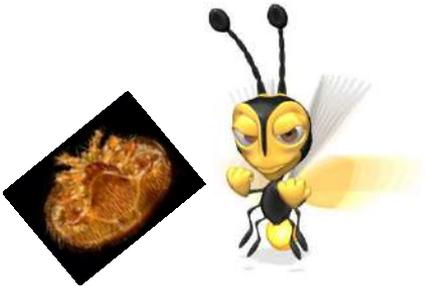
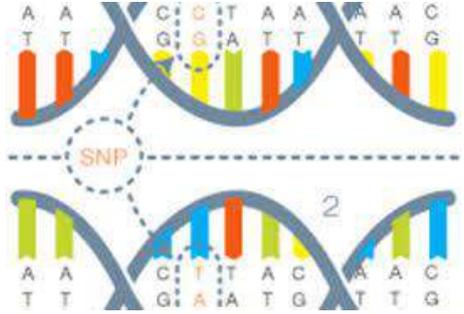
○ Développement de marqueurs « chimiques » du VSH

- Mosar
- Varestic
- Optivar



○ Recherche de marqueurs moléculaires du VSH/SMR

- Objectif : trouver un outil pour évaluer le potentiel VSH/SMR des colonies
- Problème : Pas de mesure disponible sur le terrain
- Caractère transmissible → déterminisme génétique

	Caractère recherché	Caractère mesuré	Outil de mesure
MIEL		Quantité de miel	
VARROA		VSH SMR	

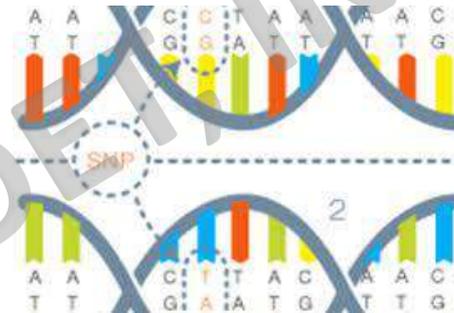
- Etape 1 : Evaluation des colonies à partir de l'outil de mesure



Productrice



Peu productrice



Résistante

Sensible

- Etape 2 : prise en compte dans les schémas de sélection par l'apiculteur

- Choix des colonies à reproduire, en fonction des différents critères retenus
- Choix des croisements (stations de fécondations...)

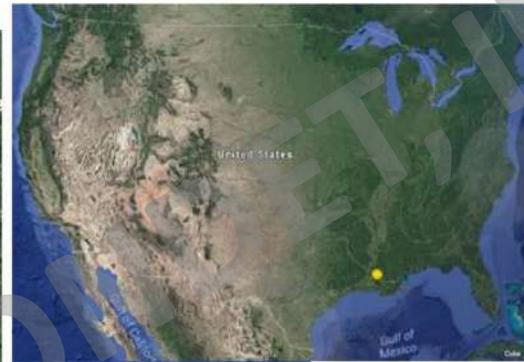
- Objectif : **Développer une nouvelle méthode de phénotypage fiable, rapide, applicable aux populations en production, par développement de marqueurs moléculaires du caractère SMR**

Phénotypage de 1500 colonies

Séquençage complet du génome des colonies

Identification de marqueurs associés au phénotype de résistance

Développement d'une prestation de service de phénotypage

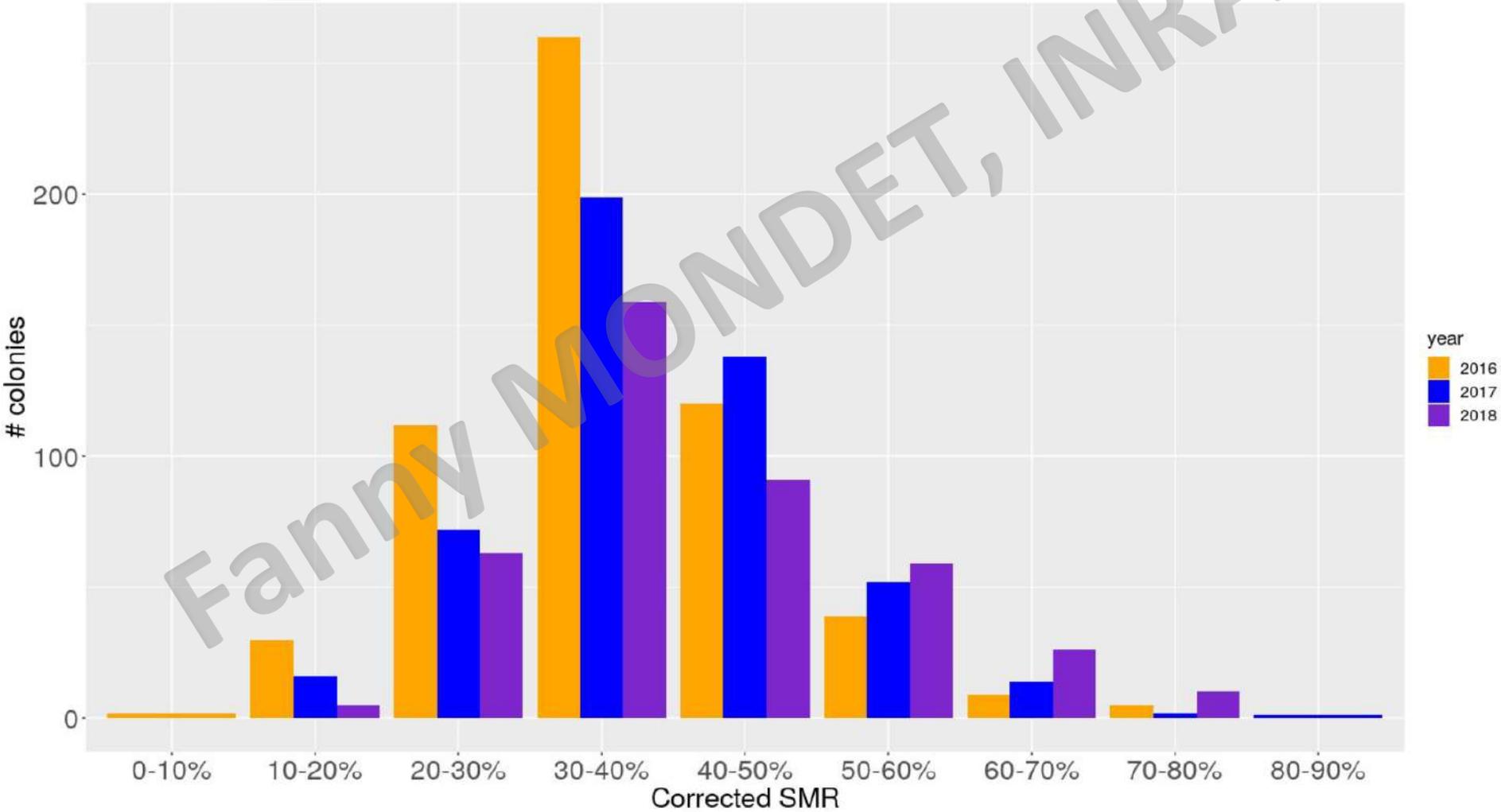


Apiculteurs visités :
80

Colonies phénotypées :
1863

Colonies séquencées :
1500

Distribution of SMR in France



- > 1500 colonies phénotypées sur le SMR en trois ans
 - Taux moyen de SMR similaire aux données européennes
 - Caractère de résistance présent dans la population française
 - Pas de structuration évidente selon les races (à confirmer)
 - Identification de 'souches' potentiellement intéressantes
- Etapes en cours et à venir
 - Analyse des données de phénotypes :
 - lien avec la saison, la charge en varroas, stabilité de la mesure,
 - lien avec d'autres critères (croissance de la population varroa),
 - Analyse pour la détection des marqueurs en cours
 - Réflexion avec les réseaux d'apiculteurs sur des projets de sélection

- Hypothèse principale = stimulus olfactif

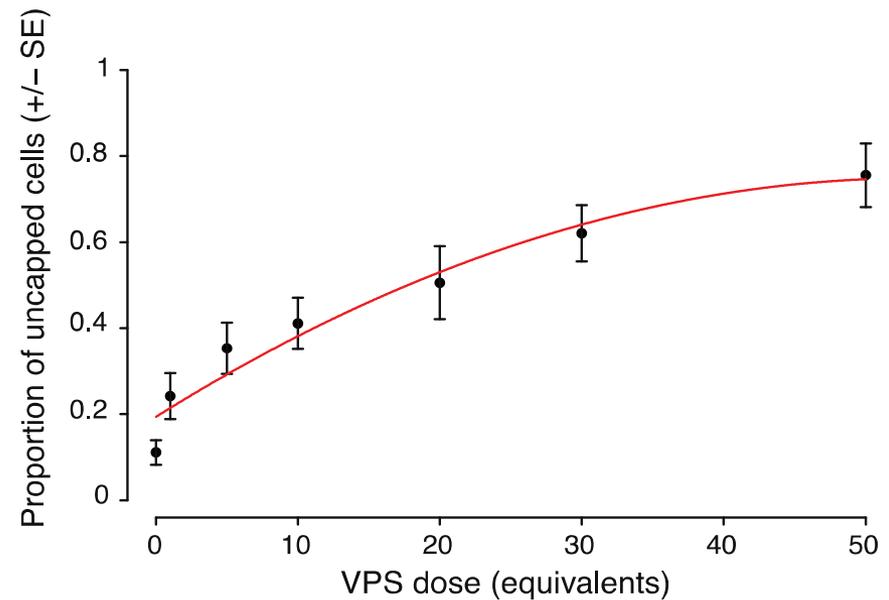


→ Quelle est l'odeur qui est responsable de la détection ?

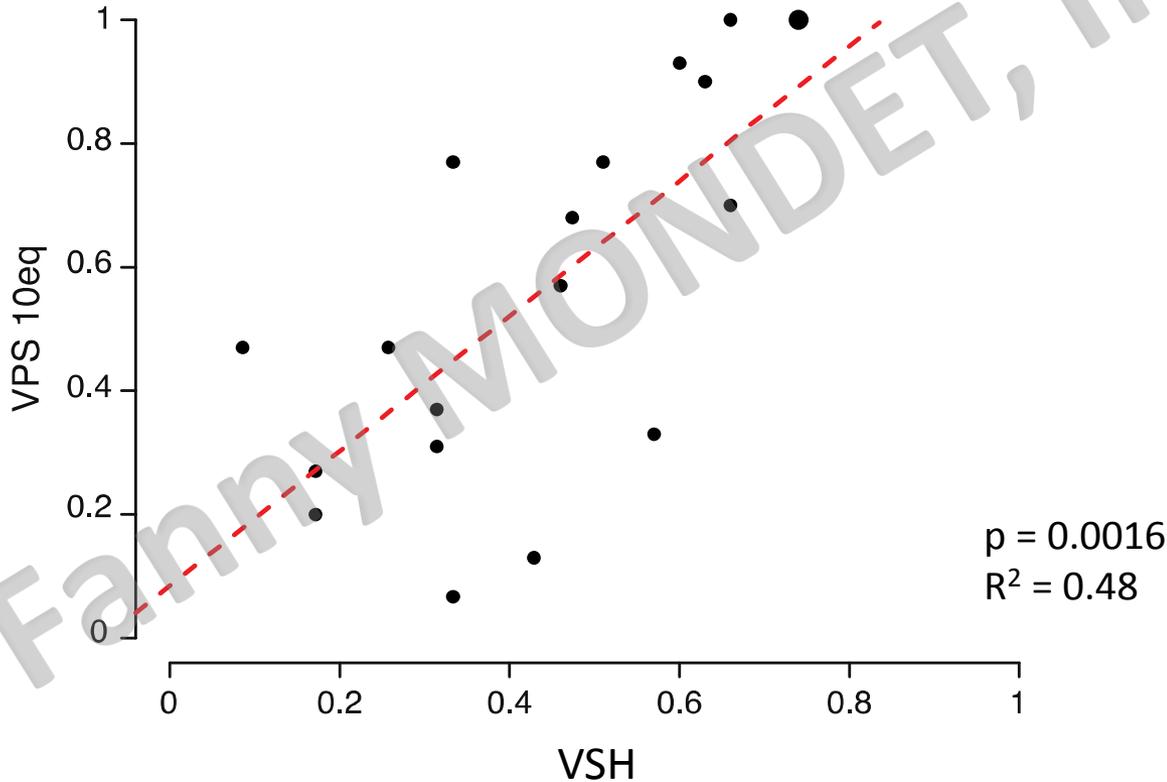
- Ecologie chimique : recherche de molécules ("l'odeur") par extraits d'alvéoles parasitées / saines
- Essai comportemental : test des molécules



- Confirmation de la réponse aux molécules candidates



- Comparaison entre le nouveau test comportemental et un test de référence
Mesure du comportement VSH



(Mondet et al., In Prep.)



**Nouveau test :
bon potentiel d'estimation de la résistance des colonies ?**

○ Validation de l'activité VSH des composés VPS et BEP (pheromone de couvain)

- Les composés VPS (et BEP) déclenchent une réponse VSH sur le terrain
- Correlation entre le comportement déclenché par les VPS et l'évaluation de la résistance des colonies (VSH)



○ Vers un nouvel outil de testage du phénotype VSH / de la résistance au varoa

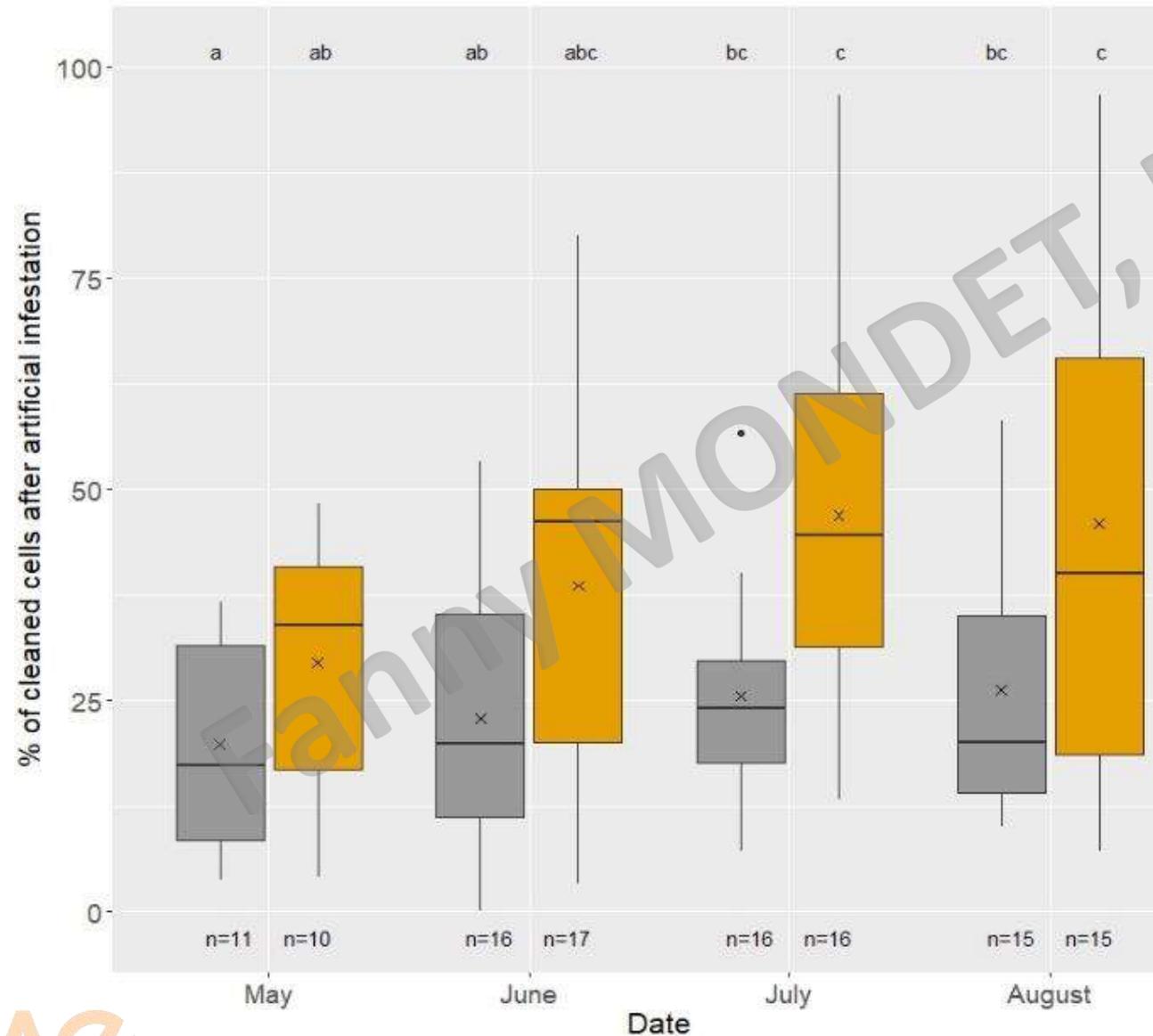
- Développement du test : Amélioration du protocole d'application des composés
- Comparaison avec les protocoles d'évaluation de résistance à grande échelle

OPTIVAR : Contexte environnemental qui pourrait influencer l'expression de la résistance au varroa

- Dynamique de la colonie (couvain)
Plus de couvain → plus de VSH ?
- Charge en varroa (phorétiques)
Plus de varroa → plus de VSH (seuil d'infestation) ?
- Quantité de nourriture stockée et disponibilité de ressource disponible
Butinage/miellée → moins de VSH (répartition des tâches) ?
Plus de stocks de nourriture → plus de VSH (« rien d'autre à faire ») ?



Léa Tison



⇒ Effet significative de la **Génétique** et de la **Date** sur le VSH

⇒ Pas d'impact de :

- Charge en varroa
- Surface de couvain fermé
- Stocks de nourriture

Influence de :

- Emplacement des ruchers (lavande ou – sédentaire en juillet).

Genetic

- Unselected
- Varroa-selected



⇒ Pas de corrélation

⇒ Certaines colonies sélectionnées avec des charges en varroa faibles sont très efficaces pour le VSH

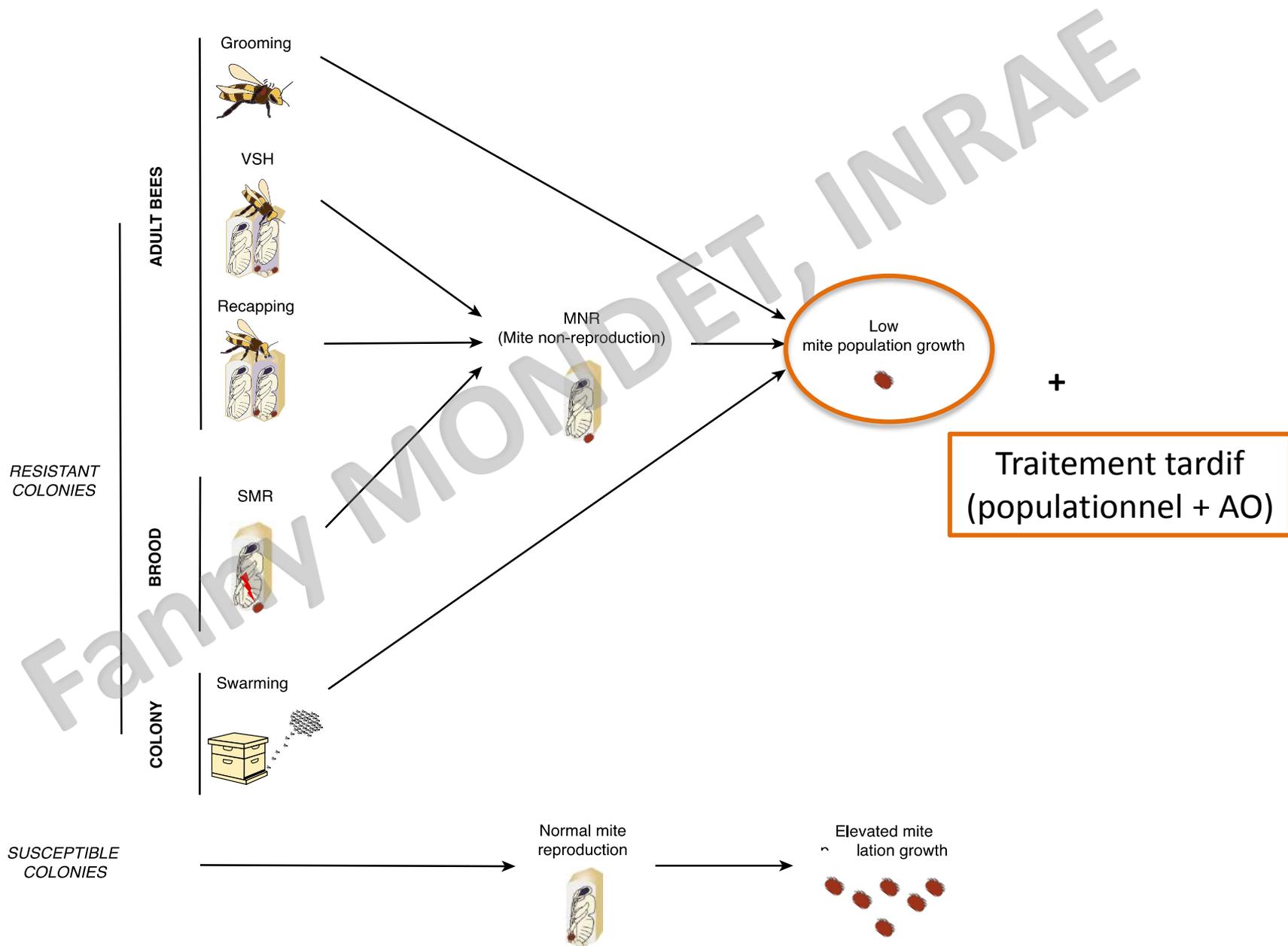
Genetic

● Unselected

● Varroa-selected

- La génétique peut influencer le score VSH
- Pas plus de varroas dans les colonies survivantes (non traitées contre le varroa)
- Pas d'influence de la charge en varroa sur la capacité des abeilles à réaliser le VSH
- VSH à mesurer préférentiellement en Juillet ou Aout et en dehors des périodes de miellées (lavande)





Remerciements



INRAE



FranceAgriMer

