



# JOURNÉES DE LA RECHERCHE APICOLE

Mercredi 6 et Jeudi 7 février 2013

## SYNTHÈSE DU COLLOQUE



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

  
FranceAgriMer

**ITSAP**   
INSTITUT DE L'ABEILLE

# Synthèse du colloque

## **1<sup>ères</sup> JOURNÉES DE LA RECHERCHE APICOLE**

les 6 et 7 février 2012

MAS, 10 rue des Terres au Curé

75013 Paris



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



# SOMMAIRE

<b>Introduction</b>	p.5
J.-Y. FOIGNET, ITSAP-Institut de l'abeille et F. GERSTER, ministère de l'Agriculture, de l'Agroalimentaire et de la Forêt	
<b>Méthodes analytiques</b>	
<b>Étude bibliométrique sur les travaux en apidologie</b>	p.7
C. SAVAJOL, ITSAP-Institut de l'abeille	
<b>Synthèse sur les méthodes d'analyse des maladies et agents pathogènes de l'abeille en laboratoire</b>	p.9
M. RIBIERE-CHABERT, ANSES Sophia-Antipolis, LR-UE santé de l'abeille	
<b>Pratiques de nourrissage et composants exogènes : conséquences sur la composition des gelées royales produites</b>	p.11
M. WYTRYCHOWSKI, Institut des Sciences Analytiques, Département SCA	
<b>Synthèse sur les méthodes d'analyse des laboratoires par matrice apicole : état de l'art sur les analyses de résidus de pesticides</b>	p.13
A.-C. MARTEL, ANSES Sophia-Antipolis, LR-UE santé de l'abeille	
<b>Affaiblissement des colonies et stress environnementaux</b>	
<b>Développement d'une technique d'élevage larvaire <i>in vitro</i> pour évaluer l'impact des produits phytosanitaires sur le couvain</b>	p.17
P. AUPINEL, INRA du Magneraud	
<b>Évaluation des effets des pesticides sur le comportement de l'abeille domestique : cheminement d'une recherche méthodologique</b>	p.19
A. DECOURTYE, ACTA / UMT PrADE	
<b>Observatoires de ruchers : un outil pour étudier la complexité des processus d'affaiblissement</b>	p.22
M. Henry, INRA Avignon	
<b>Système européen de surveillance des mortalités à l'origine du plan d'épidémiosurveillance mis en place en France</b>	p.25
P. HENDRIKX, ANSES	
<b>Moyens de lutte contre les bio-agresseurs</b>	
<b>Mise en place de tests moléculaires discriminants et d'essais d'infection concernant <i>Nosema apis</i> et <i>Nosema ceranae</i></b>	p.28
M.-P. CHAUZAT, ANSES Sophia-Antipolis	
<b><i>Nosema ceranae</i> : synergies avec les insecticides et nouveaux moyens de lutte</b>	p.31
F. DELBAC, Univ. Clermont-Ferrand	
<b>Risques d'invasion en Europe de <i>Vespa velutina</i>, le frelon asiatique prédateur d'abeilles</b>	p.34
F. MULLER, MNHN	
<b>Vers la mise en évidence <i>in silico</i> de nouveaux composés anti-<i>Varroa</i> et de moindre toxicité vis-à-vis des abeilles : les inhibiteurs d'acétylcholinestérase</b>	p.37
M.-P. HALM, Univ. De Caen	
<b>Pollinisation et ressources de l'abeille</b>	
<b>La pollinisation des cultures à l'échelle nationale : comparaison besoins, disponibilités et valeur monétaire du service de pollinisation des cultures entomophiles pour l'agriculture française métropolitaine</b>	p.40
F. ALLIER, ITSAP-Institut de l'abeille et B. VAISSIÈRE, INRA Avignon	
<b>FlorApis : la science participative pour mieux connaître les relations entre abeilles domestiques et flore sauvage</b>	p.44
B. VAISSIÈRE et C. COIFFAIT-GOMBAULT, INRA Avignon	
<b>Conclusion</b>	p.47
É. THYBAUD, INERIS / ITSAP-Institut de l'abeille	



## Introduction

### **Jean-Yves FOIGNET, Président de l'ITSAP-Institut de l'abeille**

L'ITSAP, créé il y a trois ans, organise ces journées techniques afin de communiquer sur les travaux de recherche menés, notamment dans le cadre du règlement apicole européen. De nombreuses équipes travaillent en effet de longue date au service de l'apiculture sur les problèmes récurrents de notre filière.

### **François GERSTER, Inspecteur général de santé publique vétérinaire, ministère de l'Agriculture, de l'Agroalimentaire et de la Forêt**

J'ai été chargé par le ministre de l'Agriculture de coordonner l'action du ministère dans le domaine de l'apiculture. Dans ce cadre, je travaille depuis un an avec les directions et les représentants de la profession à l'élaboration d'un *Plan de développement durable de l'agriculture*, qui sera annoncé vendredi 8 février par le Ministre. Celui-ci souhaite affirmer la volonté du Gouvernement de mettre en place un véritable plan de rattrapage du développement de cette filière, afin de lui permettre de mieux se positionner sur le plan européen et international.

Ce plan comprend tout d'abord un volet recherche. Des financements sont ainsi accordés par le plan apicole européen depuis une dizaine d'années et un nouvel appel à projet triennal 2013-2015 a été lancé cette année. Je saisis l'occasion pour remercier les équipes du ministère et de FranceAgriMer qui travaillent à la mise en place et au suivi de ces programmes de recherche.

Rappelons également le rôle fondamental des chercheurs dans la vie d'une filière et dans les politiques publiques. Mais il importe que les nouvelles connaissances qu'ils développent soient publiées : nous finançons des recherches mais nous exigeons qu'elles soient publiées.

Le nouvel appel à projets, d'un montant de 3,6 millions d'euros, a été lancé avec le soutien de l'Agence nationale de la recherche (ANR), qui évalue actuellement l'excellence scientifique des projets déposés. À plus long terme, notre ambition est de travailler avec l'ANR sur un programme européen bilatéral plus ambitieux sur l'apiculture. Dans cette optique, les scientifiques français seront invités à se réunir dans le cadre d'un consortium chargé d'élaborer des programmes pour les années à venir.

Il importe également de transmettre ces connaissances aux professionnels, ce à quoi contribuent ces journées scientifiques et techniques. Au nom du Ministre, je salue donc cette initiative et j'espère qu'elles deviendront à terme un rendez-vous incontournable de la recherche apicole en France.



# Étude bibliométrique sur les travaux en apidologie

Colette SAVAJOL

ITSAP-Institut de l'abeille

## Colette SAVAJOL

Cette étude a été supervisée par un conseil scientifique et un conseil technique. Du point de vue scientifique, la bibliométrie consiste à appliquer des méthodes mathématiques ou statistiques à un ensemble de références bibliographiques afin de mesurer et d'analyser la production scientifique.

La principale source de notre étude est le Web of Science®, qui regroupe 17 000 revues scientifiques avec comité de lecture. Plusieurs requêtes ont été faites sur les abeilles, l'abeille domestique, les abeilles sauvages, le bourdon, l'apiculture et les produits du rucher, sur une période comprise entre 1975 et 2012, soit 26 838 publications.

L'évolution annuelle du nombre de publications depuis 1975 montre que le taux d'études abeilles dans la recherche mondiale est passé de 0,04 % à 0,14 % des publications. Aujourd'hui, 30 % de l'activité est assurée par les vingt premières revues. Le nombre de revues ayant fortement augmenté, le taux de dispersion des écrits s'est accru depuis 1975.

Ces revues sont publiées dans différentes régions du monde, l'Europe assurant durablement 42 % des publications mondiales. Leur nombre est en recul net en Amérique du Nord, contrairement à l'Amérique du Sud et à l'Asie, mais les États-Unis et le Brésil restent les pays qui publient le plus. Par ailleurs, le Brésil, l'Afrique du Sud et l'Argentine produisent des publications très spécialisées, à la différence de la Corée et de la Chine. En France, l'activité se situe dans la moyenne.

Dans 41 pays européens, 1 176 institutions ont réalisé des publications, mais toutes ne sont pas spécialisées dans le domaine apicole. 3 institutions françaises figurent parmi les 22 institutions qui publient le plus en Europe. Ces dernières assurent 30 % de l'ensemble des publications.

La France a produit au total 878 publications, dont 314 sur la période 2007-2012 dans 168 revues. Entre 1975 et 2012, on dénombre 41 % de co-publications, contre 49 % entre 2007 et 2012. La France publie essentiellement avec l'Amérique du Nord et avec l'Allemagne. Le pays compte 98 institutions qui publient dans le domaine apicole, l'INRA et le CNRS représentant 45 % des publications nationales. L'INRA publie plus de la moitié de ses publications en co-publication internationale, tandis que l'ANSES publie essentiellement en France.

14 thématiques ont été identifiées dans ce corpus. La biologie apparaît comme un sujet transversal. Les produits du rucher et l'apiculture semblent davantage représentés au niveau mondial qu'au niveau français, contrairement à l'écotoxicologie. La réglementation, l'économie et les sciences sociales sont en revanche très peu représentés. Enfin, la modélisation fait son apparition à partir de 2007.

L'Europe représente 30 % des publications consacrées aux pesticides, la recherche française s'avérant particulièrement active dans ce domaine. Ainsi, 71 % des publications consacrées à la deltaméthrine sont françaises, la première datant de 1983. Certains pays se spécialisent également sur l'abeille, comme le Brésil (pollinisation, santé, écologie), l'Afrique du Sud, l'Argentine (pollinisation, bioagresseurs et apiculture) et la Turquie (santé, apiculture et modélisation).



## **Échanges avec la salle**

### **Un intervenant**

Il me paraît étonnant que les publications sur les pesticides soient postérieures à l'arrivée de ces produits sur le marché.

### **Éric THYBAUD**

En principe, les firmes réalisent des études avant de soumettre un dossier à l'administration au moment de la mise sur le marché de nouveaux produits phytosanitaires, afin d'obtenir une autorisation. Les équipes de recherche ne commencent à travailler sur les nouvelles molécules qu'après leur mise sur le marché.

### **Un intervenant**

Avez-vous eu la possibilité de pondérer les différentes publications recensées ?

### **Colette SAVAJOL**

Oui, le poids respectif des différentes publications est précisé dans le rapport complet de l'étude. Les publications sont classées en fonction de la revue dans laquelle elles apparaissent et du nombre de citations dont elles font l'objet.

### **Éric THYBAUD**

Le taux de notoriété appelle une certaine vigilance car une publication peut aussi être souvent citée parce qu'elle est mauvaise.

# Synthèse sur les méthodes d'analyse des maladies et agents pathogènes de l'abeille en laboratoire

Magali RIBIERE-CHABERT

Anses Sophia Antipolis, Unité de Pathologie de l'Abeille,  
Laboratoire national de référence sur les maladies des abeilles et Laboratoire de référence de l'Union européenne pour la santé de l'abeille

## Magali RIBIERE-CHABERT

L'abeille est soumise à divers agents pathogènes et prédateurs. Plusieurs listes de maladies réglementées ont ainsi été établies au niveau communautaire :

- les maladies notifiables (liste A) : loque américaine, *Aethina tumida*, *Tropilaelaps* spp. ;
- les maladies pour lesquelles un programme de surveillance national peut être reconnu (liste B) : loque européenne, varroase, acariose ;
- la nosérose à *Nosema apis*, classée en France parmi les maladies réputées contagieuses.

Pour identifier ces agents pathogènes et prédateurs, différents types d'analyse peuvent être mobilisés :

- identification morphologique pour les insectes et acariens ;
- bactérioscopie, mise en culture et caractéristiques biochimiques pour les bactéries ;
- visualisation par microscopie, dénombrement des spores, visualisation des mycéliums pour les champignons ;
- identification par des techniques de biologie moléculaire pour les insectes, acariens, bactéries, champignons, virus ;
- quantification moléculaire permettant également de connaître la charge des agents pathogènes et le niveau d'infestation pour les virus, bactéries, champignons.

Les descriptifs des troubles observés et de l'historique du rucher sont également indispensables pour poser un diagnostic. Ils permettent aux chercheurs de définir les méthodes d'analyse à mettre en place et de conclure sur les causes desdits troubles. Le prélèvement constitue un autre point critique en amont de l'analyse. Il doit être bien ciblé et de bonne qualité.

Plusieurs notions doivent également être prises en considération dans le choix de la méthode analytique : dépistage ou diagnostic, situation épidémiologique, contraintes économiques. Différentes méthodes peuvent en effet être appliquées par les laboratoires, qu'il s'agisse de laboratoires d'analyses de routine ou de laboratoires de recherche.

Les méthodes peuvent évoluer avec l'approfondissement de la connaissance et un outil de recherche constitue souvent une étape indispensable à l'évolution des méthodes d'analyse de routine.

Pour répondre aux besoins du demandeur de l'analyse, les méthodes doivent être validées. La validation se définit comme la confirmation par examen et l'apport de preuves objectives du fait que les prescriptions particulières en vue d'une utilisation prévue déterminée sont remplies (Normes ISO 17 025). La validation est l'étape préalable à la mise en routine. Il existe différents référentiels de validation selon les domaines d'application. L'accréditation de la méthode d'analyse permettra en outre de reconnaître la qualité des méthodes employées.

Des méthodes référencées à l'échelle internationale figurent également dans le manuel des tests de diagnostic et des vaccins pour les animaux terrestres de l'Office International d'Épizootie (OIE). Elles permettent de diagnostiquer les maladies notifiables ainsi que la nosérose. Toutefois, ces méthodes sont validées uniquement par l'expérience. Les nouvelles méthodes développées par le Laboratoire de référence de l'Union européenne (LRUE) et le Laboratoire national de référence (LNR) français sont en cours de validation sur la base des référentiels de normes AFNOR.

Au chapitre des insectes prédateurs, la méthode d'analyse morphologique permet d'identifier *Vespa velutina*. Cette méthode a été validée et peut être distribuée aux laboratoires d'analyses. S'agissant des acariens *Varroa destructor*, la méthode se fonde sur une identification méthodologique ainsi que sur l'analyse du taux d'infestation des colonies par dénombrement. *Tropilaelaps* est diagnostiqué à partir

d'une identification morphologique et d'une identification moléculaire de confirmation. Cette méthode est en cours de validation.

S'agissant de la nosérose, l'OIE décrit le dénombrement des spores et l'identification moléculaire de l'espèce de *Nosema*. Le LNR a contribué à perfectionner cette technique. La PCR en temps réel a été mise en place dans différents laboratoires mais il n'est pas encore possible de parler de véritable quantification en l'absence de seuil permettant d'établir le diagnostic.

En ce qui concerne les bactéries, la méthodologie disponible comprend la bactérioscopie, l'identification moléculaire et des méthodes de mise en culture. Il existe également des techniques de quantification moléculaire qui n'ont pas été validées pour le diagnostic clinique de la maladie. Pour ce qui est des virus, les techniques actuelles se limitent à l'identification génomique des agents, par PCR qualitative et quantification des seuils d'infestation.

À l'heure actuelle, plusieurs réseaux de laboratoires de première intention sont agréés par la Direction générale de l'alimentation (DGAL). Ils travaillent avec des méthodes validées, en lien avec le LNR. Des formations, des échanges et des essais inter-laboratoires sont organisés dans le cadre de ces réseaux.

L'interprétation des résultats s'avérant parfois difficile, les laboratoires ont besoin de disposer de relais sur le terrain, comme les vétérinaires ou les apiculteurs, afin d'améliorer leur diagnostic et de mieux orienter leurs analyses et leurs conclusions.

Les laboratoires doivent encore travailler à l'optimisation des analyses quantitatives. Le rôle du LNR et du LRUE consiste dans cette optique à développer, optimiser, valider et harmoniser les outils analytiques en lien avec les réseaux de laboratoires.

# **Pratiques de nourrissage et composants exogènes : conséquences sur la composition des gelées royales produites**

**Marine WYTRYCHOWSKI, G. DANIELE, H. CASABIANCA**

Institut des Sciences Analytiques, Département SCA – 5 rue de la Doua - 69100 VILLEURBANNE

## **Marine WYTRYCHOWSKI**

La gelée royale est un produit à haute valeur ajoutée, de plus en plus consommé en France. 100 tonnes de produit doivent ainsi être importées chaque année, sachant toutefois que la gelée royale produite en France est vendue 40 % plus chère que la gelée royale importée. En quoi la production et la composition de ces deux types de gelée royale diffèrent-elles ?

En l'absence de réglementation, un projet de normalisation est en cours, associant la Chine, le Japon, la France, l'Italie et la Turquie. Il a permis d'aboutir à une première définition selon laquelle la gelée royale est produite par des abeilles exclusivement nourries à partir de denrées naturelles (pollen, nectar et miel) au cours de la période de production de la gelée royale. Le nourrissage est donc interdit.

L'analyse de la composition de la gelée royale menée par le Service Central d'Analyse du CNRS vise donc à établir s'il y a eu nourrissage. Dans ce cadre, 500 gelées royales de référence issues du Groupement des Producteurs de Gelée Royale (GPGR) obtenues sans nourrissage ont été comparées à 150 gelées royales achetées dans le commerce.

Les différentes composantes de la gelée royale ont été analysées par des techniques adaptées (Karl Fischer, analyseur élémentaire, détection par fluorescence, spectrométrie de masse des rapports isotopiques) qui ont permis de calculer des intervalles de naturalité sur les 500 gelées françaises. 99 % d'entre elles se situent dans un écart-type de plus ou moins 30 % par rapport à la moyenne. Cette analyse a été réalisée pour tous les critères (eau, protéines...).

Les intervalles ainsi obtenus ont été comparés aux gelées royales du commerce, qui sortent des limites fixées notamment pour le Delta C13 et les quatre sucres. Cette différence s'explique vraisemblablement par une pratique apicole différente. Trois études de nourrissage ont donc été réalisées portant sur les sucres, les protéines et une combinaison sucres et protéines.

Dans le cadre de la première étude, le nourrissage au sucre a été réalisé à base de quatre sirops, hors miellée la première année puis durant une miellée de tournesol l'année suivante. L'analyse révèle une augmentation des teneurs en saccharose et en erlose dans le cas des nourrissements à base de sucre de canne ou de betterave sucrière en 2010 et en 2011. Ces augmentations peuvent être directement reliées à la composition des sirops. Les teneurs en maltose et en maltotriose augmentent par ailleurs pendant une miellée.

Durant la deuxième année, la teneur diminue dans le cas du nourrissage au maïs, ce qui conduit à penser que l'abeille s'est nourrie aussi à partir de son environnement, d'où une dilution des teneurs. Nous constatons en outre une réduction de la teneur en Delta C13 dans le cas des nourrissements à base de céréales et de betteraves mais une augmentation pour les nourrissements à base de sucre de canne et de maïs.

La même analyse a été réalisée pour les protéines. Le nourrissage a été réalisé dans ce cas à partir de protéines de soja et de levure de bière. À l'issue de l'analyse, aucun des critères analysés ne présente de différence par rapport au témoin. Ainsi, le 10 HDA et les protéines restent stables et conformes aux bornes de naturalité. L'hypothèse est donc que les abeilles synthétisent leurs propres protéines, quelle que soit la source protéique.

Enfin, le nourrissage combiné sucre et protéines a été réalisé pendant deux années hors miellée. Les variations observées sont identiques aux variations relevées dans le cas du nourrissage au sucre. L'étude statistique permet d'identifier des zones distinctes en fonction des différents nourrissements. Le nourrissage à base de betteraves apparaît toutefois le plus difficile à détecter.

Au total, plus de 200 gelées royales ont été analysées. Premier constat : les témoins des nourrissements recouvrent parfaitement l'échantillon du GPGR. La représentation graphique laisse également apparaître les éléments suivants : un axe présentant de fortes teneurs en maltose et maltotriose et un second axe marqué par des teneurs élevées en saccharose et en erlose et un Delta C13 relativement élevé.

Les gelées royales du commerce se regroupent en majorité sur ce dernier axe, ce qui conduit à penser que le nourrissement le plus utilisé serait composé essentiellement de sucre de canne. En période de miellée ou hors miellée, ces critères (sucre et Delta C13) permettent bien de détecter les nourrissements. Pour information, ces études sur la gelée royale ont fait l'objet de quatre publications.

## **Échanges avec la salle**

### **Un intervenant**

Dans certains pays tropicaux ou équatoriaux, les plantes ne sont pas les mêmes. Les résultats pourraient donc être différents de ceux que vous avez obtenus, ce qui rendrait plus délicat le classement en gelées royales naturelles et non-naturelles.

### **Marine WYTRYCHOWSKI**

En effet. Nous avons toutefois analysé des gelées royales provenant de France, d'Italie, de Turquie et de Crète, qui sont conformes à nos bornes. Nous n'avons pas pu analyser d'échantillons provenant d'autres pays.

### **Un intervenant**

Les critères de naturalité pourraient être régionalisés en fonction des parties du monde concernées.

### **Un intervenant**

Des études comme celles-ci sont fondamentales car la production de gelée royale française doit se démarquer d'autres productions, notamment chinoises. Le projet de norme ISO en cours est actuellement en échec, la France refusant le projet de norme proposé par la Chine. Il importe que nous parvenions à normaliser la gelée royale européenne avec nos qualités et nos nourrissements naturels et que nous fassions ensuite prévaloir cette norme au niveau international.

### **Gaëlle DANIELE**

Lors des réunions ISO, nous avons réclamé une meilleure traçabilité des gelées royales à la Chine et au Japon mais nous ne parvenons pas à obtenir satisfaction. Les résultats de la base de données française ont toutefois été présentés lors de ces réunions internationales. Les bornes établies n'ont pas appelé de commentaires ni suscité de réaction de la part des représentants des pays asiatiques. Ceux-ci sont toutefois opposés à certains des critères que nous avons sélectionnés.

### **Un intervenant**

Le fait est qu'il restera impossible de vérifier l'universalité des bornes que nous avons définies tant que nous ne pourrons pas analyser de gelée royale chinoise ou japonaise.

### **Un intervenant**

Le sujet est complexe à suivre compte tenu du nombre de critères étudiés. Nous retrouvons toutefois des analogies avec les travaux menés dans le passé sur la naturalité des miels. Comme pour la gelée royale, les nourrissements à base de sucre de betterave échappent en partie aux méthodes de détection.

# **Synthèse sur les méthodes d'analyse des laboratoires par matrice apicole : état de l'art sur les analyses de résidus de pesticides**

**Anne-Claire MARTEL**

Anses, Laboratoire de Sophia Antipolis, Unité de Pathologie de l'Abeille,  
105 route des Chappes - 06902 Sophia Antipolis Cedex, France

## **Anne-Claire MARTEL**

Le terme « pesticide » englobe plusieurs molécules entrant dans la composition de produits phytosanitaires, phytopharmaceutiques et des médicaments vétérinaires. Ils sont classés en fonction de leur cible entre insecticides et acaricides, fongicides et herbicides.

Les produits phytosanitaires sont utilisés pour protéger les cultures. Les résidus présents sur les cultures suite aux applications peuvent être des résidus de contact ou systémiques. Les agriculteurs doivent respecter les conditions d'emploi et utiliser des produits homologués. Enfin, des seuils réglementaires d'usage sont fixés. Les traitements des cultures peuvent toutefois entraîner l'apparition de résidus dans les abeilles, le pollen, le nectar et le pain d'abeille. C'est pourquoi l'abeille est protégée par différentes réglementations encadrant l'usage des produits phytosanitaires.

Les médicaments vétérinaires à destination des abeilles (insecticides - acaricides) sont appliqués dans la ruche par l'apiculteur. Ce dernier doit également utiliser des produits homologués ayant une autorisation de mise sur le marché (AMM), noter dans son cahier d'élevage le type de médicament appliqué et respecter les doses. En effet, il existe des limites maximales de résidus (LMR) qui sont des seuils réglementaires à ne pas dépasser, définis par produit et par matrice. Les traitements réalisés dans les ruches avec des médicaments vétérinaires peuvent entraîner la présence de résidus dans les abeilles, le miel, la gelée royale, le pain d'abeilles et la cire, au même titre que les traitements phytosanitaires destinés aux cultures.

L'analyse des pesticides porte sur les résidus et vise à séparer la molécule à doser de l'ensemble des composants de la matrice puis à la quantifier. Il importe pour cela de connaître précisément les caractéristiques des molécules. Les techniques d'analyse varient en fonction de la matrice étudiée. Les matrices apicoles sont à la fois très complexes et très diverses.

La procédure analytique commence par une étape d'échantillonnage réalisée sur le terrain. L'extraction (par homogénéisation, ultrasons, mini-extracteurs ou l'utilisation de la méthode Quetchers), la purification (par séparation liquide/liquide ou par extraction solide/liquide) et le dosage chromatographique (en phase gazeuse ou en phase liquide) sont ensuite réalisés en laboratoire.

Différents détecteurs peuvent être utilisés selon les molécules à doser. Un « effet matrice » peut toutefois altérer le signal, ce qui nécessite la réalisation d'un test préalable. Lorsque tous les paramètres sont en place, la méthode peut être validée à l'aide de différents guides (Document SANCO/12495/2011 pour les résidus de pesticides ou Directive 2002/657/CE pour les résidus de médicaments vétérinaires).

Les appareils analytiques des laboratoires doivent faire l'objet d'une maintenance et d'un étalonnage rigoureux. Enfin, en cas de résultat positif, il est nécessaire de compléter l'analyse par des techniques d'identification et de confirmation de la présence du pesticide détecté grâce au couplage avec un détecteur de spectrométrie de masse (GC-MS, GC-MS/MS et LC-MS/MS). Le résultat s'exprime enfin en milligrammes par kilo ou en nanogrammes par abeille, en fonction des doses toxicologiques.

En l'absence de méthode de référence, chaque laboratoire peut développer ses propres méthodes, dont les performances doivent toutefois être similaires afin d'éviter toute différence excessive dans les résultats. L'accréditation des laboratoires est délivrée par le COFRAC à des laboratoires qui, une fois agréés, peuvent ensuite procéder à des analyses officielles. En outre, il est conseillé aux laboratoires de procéder à des analyses inter-laboratoires afin de confronter et d'évaluer la pertinence de leurs méthodes.

Ces analyses s'avèrent longues et délicates à mener d'autant qu'il existe une multitude de molécules et que la sensibilité des techniques de dosage tend à s'accroître avec l'augmentation du niveau d'exigence de la réglementation. En outre, l'échantillonnage dépend des acteurs de terrain qui doivent respecter des

modalités rigoureuses de collecte et de transport des échantillons. Le dialogue entre les laboratoires et les professionnels s'avèrent à cet égard extrêmement important.

## Échanges avec la salle

### Philippe LECOMPTE

Comment peut-on extraire 120 % d'une substance, comme vous l'annoncez ?

### Éric THYBAUD

Un coefficient de 20 % est appliqué pour prendre en compte l'incertitude liée au matériel. L'incertitude est en effet diffuse tout au long de la méthode et elle peut être chiffrée.

### Eugenia POMMARET

Existe-t-il un organisme d'accréditation européen ? Qu'en est-il des échanges inter-laboratoires au niveau européen ?

### Anne-Claire MARTEL

Chaque pays possède son organisme d'accréditation. Il existe par ailleurs un laboratoire de référence pour les pesticides au niveau européen avec lequel échangent effectivement les différents Laboratoires nationaux de référence (LNR). Le Laboratoire de référence de l'Union européenne (LRUE) Pesticides, situé à Fribourg, organise ainsi chaque année des essais internationaux auxquels les LNR sont tenus de participer.

### Pierrick PETREQUIN

Existe-t-il un document résumant les types d'analyse qui doivent être appliqués aux différentes familles de molécules ? Quels seuils de détection est-on en droit d'attendre pour chaque famille ?

### Anne-Claire MARTEL

En matière de seuils, l'objectif consiste à essayer de descendre au niveau des LMR voire en dessous. Il existe par ailleurs des méthodes de référence au niveau européen.

### Éric THYBAUD

Rappelons en outre qu'une base de données a été mise en place par l'Institut. Elle recense les laboratoires, les méthodes d'analyse développées et les méthodes de détection dans les différentes matrices. Cet outil vous est destiné. Il est actuellement complété sur la partie relative aux prélèvements.

### Un intervenant

Qu'en est-il de la cire dont la matrice est généralement présentée comme particulièrement problématique en matière d'analyse de résidus ?

### Anne-Claire MARTEL

L'analyse des cires pose effectivement problème car certaines molécules liposolubles tendent à s'y accumuler. Il est donc complexe de les extraire de la matière grasse tout en limitant la présence de cette matière grasse. La cire peut être solubilisée grâce aux ultrasons. Des étapes de centrifugation, de mise au froid de la graisse et de purification permettront ensuite de préparer l'analyse. Il s'agit néanmoins d'une procédure très difficile à mener. Il est donc particulièrement complexe d'atteindre des niveaux de sensibilité très bas.

### Franco RADICATI

L'activité du LRUE est très intéressante. L'Autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA) a récemment publié une étude consacrée à la toxicité des néonicotinoïdes : dans quelle mesure avez-vous collaboré à cette étude ?

### Marie-Pierre CHAUZAT

L'EFSA a sollicité la Direction des produits réglementés (DPR) de l'ANSES pour obtenir des informations sur la toxicologie de ces produits et les expérimentations réalisées. Le laboratoire de Sophia Antipolis en lui-même ne travaille pas sur la partie toxicologie.

### Anne-Claire MARTEL

Nous fournissons des résultats quantifiés aux toxicologues qui se chargent ensuite de les interpréter.

### **Éric THYBAUD**

Par ailleurs, la DPR de l'ANSES intervient plutôt en amont de l'autorisation de mise sur le marché d'un produit, tandis que les laboratoires de référence assurent le suivi après l'autorisation de mise sur le marché.

### **Un intervenant**

La plupart des apiculteurs ont déjà été confrontés à l'obtention de résultats différents à la suite d'analyses réalisées par deux laboratoires différents.

### **Anne-Claire MARTEL**

On en revient toujours au problème de l'échantillonnage. Les prises d'essai doivent être réalisées sur des prélèvements préalablement homogénéisés. Les différences de résultat entre laboratoires peuvent s'expliquer par des prélèvements d'origine non homogènes. Un travail inter-laboratoires est actuellement réalisé sur la manière d'obtenir un échantillon homogène et stable qui pourra être analysé par plusieurs laboratoires.

### **Une intervenante**

Les essais inter-laboratoires permettent de comparer les résultats obtenus par différents laboratoires et d'harmoniser les pratiques. Cela n'est pas encore possible pour toutes les molécules mais il s'agit d'une étape clé de la validation et de l'accréditation des laboratoires.

### **Un intervenant**

Dans un programme de recherche, des analyses lourdes et longues peuvent être menées alors que les méthodes doivent être allégées dans le cadre des analyses de routine. Les laboratoires utilisent donc des méthodes différentes, susceptibles de déboucher sur des résultats différents. En outre, les matrices sont particulièrement complexes et les produits de plus en plus toxiques. Il devient donc particulièrement compliqué d'effectuer des dosages dans ces matrices.

### **Frédéric DELBAC**

Les approches multirésidus ne permettent apparemment pas de détecter certains pesticides. À l'avenir, ces approches seront-elles améliorées ou est-il nécessaire de passer par des analyses monorésidu ?

### **Anne-Claire MARTEL**

Dans le cas des néonicotinoïdes, tout dépend du seuil que l'on souhaite atteindre. Il existe bien une approche multirésidus mais elle s'appliquera à une même famille. En ce qui concerne les molécules nouvelles, plus polaires, les échantillons ne devront pas être préparés de la même manière. Les molécules peuvent éventuellement être extraites et analysées avec d'autres molécules très proches. Notre laboratoire dispose pour sa part d'une méthode lui permettant d'extraire plusieurs néonicotinoïdes. Il s'agit d'une analyse multirésidus.

### **Nicolas CERRUTTI**

Comment procédez-vous dans le cas de la matrice pain d'abeille ? La méthodologie d'analyse de cette matrice est-elle acceptée par les différents laboratoires et est-elle appelée à évoluer ?

### **Anne-Claire MARTEL**

Pour analyser les pesticides sur les pains d'abeille, il est demandé aux personnes chargées de réaliser l'échantillonnage d'effectuer plusieurs prélèvements en plusieurs points de la ruche. Au laboratoire, nous disposons de cadres et extrayons le pain d'abeille des cellules avant de le broyer et de réaliser la prise d'essai. Pour l'heure, aucun essai inter-laboratoires n'a été réalisé sur le pain d'abeille. Il serait intéressant d'envoyer les échantillons homogénéisés à différents laboratoires pour qu'ils puissent être menés.

### **Nicolas CERUTTI**

Un laboratoire nous avait demandé d'extraire nous-même le pain d'abeille des alvéoles. J'avais cru comprendre que tous les laboratoires n'avaient pas la même méthode.

### **Anne-Claire MARTEL**

En effet, il vous appartient d'extraire le pain d'abeille mais c'est au laboratoire d'homogénéiser les échantillons qu'il reçoit.

### **Axel DECOURTYE**

L'un des problèmes qui se posent actuellement concerne la probabilité de trouver certaines molécules dans les matrices. Les propriétés physico-chimiques des molécules permettent-elles d'estimer mathématiquement la probabilité de trouver certaines d'entre elles dans des matrices données ?



**Anne-Claire MARTEL**

La composition des matrices permettrait en effet de lister les molécules susceptibles d'apparaître dans une matrice donnée. Par exemple, les molécules liposolubles ont plus de probabilité de se retrouver dans la matrice cire que dans la matrice miel, à la différence des néonicotinoïdes.

**Axel DECOURTYE**

Suffit-il d'étudier certaines caractéristiques physico-chimiques qui existent dans toutes les molécules ou bien est-il nécessaire d'étudier toutes les analyses des molécules présentes dans les matrices abeille ?

**Marie-Pierre CHAUZAT**

Il convient aussi de tenir compte du turn-over dans la colonie. C'est le pollen qu'il convient d'examiner en priorité si l'on souhaite trouver des pesticides. Par ailleurs, il faut rappeler que l'abeille fait obstacle à la transmission de pesticides au miel. Cette question de la modélisation devrait être posée à des mathématiciens.

**Une intervenante**

Une modélisation mathématique a déjà été réalisée sur l'une des molécules. Ce type de démarche soulève cependant une difficulté liée à l'introduction dans la colonie. La molécule est introduite dans la colonie et l'on examine par dosage la répartition dans les différentes matrices. On modélise ensuite pour l'appliquer à d'autres molécules. Mais toute la difficulté porte sur la manière d'introduire la molécule dans la colonie.

**Un intervenant**

Pour information, l'INRA s'apprête à recruter un chargé de recherches responsable des problématiques de modélisation. Il pourrait travailler sur ce programme.

**Pierre MICHEL**

L'étude pourrait-elle aboutir à des résultats différents selon qu'elle est réalisée sur le pollen issu de la trappe à pollen ou le pollen stocké par l'abeille ?

**Anne-Claire MARTEL**

Nous avons réalisé quelques analyses de pollen et de pain d'abeille mais nous avons peu de recul. Il est difficile de comparer ces substances.

# Développement d'une technique d'élevage larvaire *in vitro* pour évaluer l'impact des produits phytosanitaires sur le couvain

Pierrick AUPINEL, D. FORTINI

Unité expérimentale d'entomologie, INRA, Le Magneraud, BP 52, 17700 SURGERES

## Pierrick AUPINEL

Entre 2004 et 2007, nous avons mis au point une méthode visant à évaluer les effets des produits phytosanitaires sur les larves d'abeille.

Au moment où nous avons commencé notre étude, il existait une seule méthode : celle d'Oomen *et al.* (1992), qui consistait à alimenter une ruche avec une solution de sirop contaminée par la substance étudiée, et à suivre l'évolution des échantillons de larves. Elle présente toutefois un inconvénient majeur dans la mesure où elle ne permet pas de connaître l'exposition des larves ni de disposer des données quantitatives requises pour une stratégie d'évaluation du risque à plusieurs niveaux. En outre, ce test n'a fait l'objet d'aucune validation.

L'objectif de notre travail était donc d'élaborer une méthode d'élevage larvaire *in vitro* standardisée, pour évaluer les effets non intentionnels des pesticides sur le couvain d'abeilles domestiques. Nous souhaitions pouvoir maîtriser l'exposition, déterminer des valeurs quantitatives et définir une méthode standard susceptible d'être intégrée dans un schéma d'évaluation des risques.

Plusieurs publications avaient déjà été consacrées à ce sujet. Trois méthodes utilisaient des modèles d'élevage en collectif (Weaver [1974], Dimorphisme femelle ; Czoppelt *et al.* [1990] Pesticides ; Peng *et al.* [1992] Antibiotique), mais elles ne permettaient pas de connaître l'exposition. En outre, elles font appel à des manipulations fréquentes de larves, qui sont des facteurs excessifs de mortalité. Deux autres publications (Rembolt and Lackner (1981) Dimorphisme femelle ; Vandenberg and Shimanuki (1987), Technique élevage) faisaient appel à des modes d'élevage individuels, mais l'aliment était distribué *ad libitum* ou de manière subjective. Or cette voie ne peut pas être privilégiée dans une méthode standard.

Ces méthodes nous ont toutefois fourni plusieurs points de référence, notamment concernant la base alimentaire, l'importance de l'élevage individuel et l'usage d'une cage d'isolement. Il convenait néanmoins d'améliorer l'évolution de la composition alimentaire en fonction de la croissance et de standardiser la distribution alimentaire. Il nous semblait également important de limiter le nombre de manipulations des larves.

À J-3, nous avons commencé à sélectionner une colonie et à isoler la reine de la colonie afin de lui permettre de pondre un nombre homogène de larves. Les larves sont ensuite prélevées, greffées dans des dispositifs individuels d'élevage et nourries. Les cadres sont ensuite placés dans des boîtes d'élevage. Toutes les larves reçoivent la même quantité d'alimentation, ce qui permet en particulier d'homogénéiser leur poids. En outre, la variation progressive de la composition de l'aliment a permis d'améliorer le taux d'émergence.

Le test mené sur cet échantillon peut être réalisé à partir d'une exposition aiguë ou d'une exposition chronique. Il s'achève à J22, avec l'émergence des adultes.

Nous avons beaucoup travaillé avec le diméthoate, que nous avons choisi comme toxique de référence dans les tests. La mortalité 48 heures après l'exposition à 4 jours est élevée, ce qui permet de déterminer une DL50 au diméthoate. L'exposition chronique permet de déterminer une concentration sans effet, autour de 2,5 milligrammes par kilo. La mortalité croît ensuite avec l'augmentation des concentrations. Nous avons également travaillé avec le fénoxy carb, dont les effets sont perceptibles plus tardivement, sur le taux d'émergence des adultes. Il était donc capital de ne pas limiter l'essai au stade larvaire.

Ce travail a donné lieu à une publication de rang B et à quelques publications de rang A. Deux d'entre elles seront intégrées dans le *Beebook*, réalisé par le groupe COLOSS qui a choisi d'utiliser cette méthode comme méthode de référence. Nous avons beaucoup communiqué sur cette technique qui a été largement utilisée pour différents types de recherches, notamment en pathologie et toxicologie. Nous avons participé

à plusieurs congrès et groupes de travail organisés par COLOSS et SETAC. Enfin, nous avons participé à un test de validation inter-laboratoires en 2008.

Cette méthode a été adoptée par la Commission des essais biologiques (CEB) en 2007 et déposée à l'Organisation de coopération pour le développement économique (OCDE) en 2011. Elle a vocation à évoluer en ligne directrice européenne après 2013, sous réserve de validation des deux types d'exposition et des trois stades d'observation.

Ce programme a été financé pendant quatre ans mais dix ans ont été nécessaires pour qu'il atteigne son objectif final. Cette méthode française a toutefois été validée au plus haut niveau international. Elle a permis de développer un outil expérimental très largement utilisé par la communauté scientifique dans d'autres domaines.

## **Échanges avec la salle**

**Christina NIELSEN-LEROUX**

Cette méthode a-t-elle été utilisée pour tester des infections : champignons, bactéries ?

**Pierrick AUPINEL**

La méthode a été utilisée et validée uniquement pour les pesticides. Elle a toutefois été utilisée de manière expérimentale pour d'autres recherches. Il s'agit d'un outil éminemment adaptable.

**Un intervenant**

À quoi correspond le taux de substance toxique auquel sont exposées les larves ?

**Pierrick AUPINEL**

C'est variable. Nous connaissons les quantités de sucre et de pollen qu'une larve est capable d'ingérer. Dès lors que l'on connaît la quantité de résidu d'un pesticide donné dans ces matrices, il devient possible de calculer le taux d'exposition réel.

**Un intervenant**

Ce test pourrait-il être intégré aux autorisations de mise sur le marché de certains pesticides ?

**Pierrick AUPINEL**

Je l'espère en effet. La démarche suit son cours.

**Yves LE CONTE**

As-tu réussi à obtenir des reines parfaites à l'aide de ce test ?

**Pierrick AUPINEL**

Non. Les facteurs de différenciation des larves sont encore mal connus et ne permettent pas d'obtenir des résultats probants dans ce domaine.

# Évaluation des effets des pesticides sur le comportement de l'abeille domestique : cheminement d'une recherche méthodologique

Axel DECOURTYE<sup>1,2</sup>, P. AUPINEL<sup>3</sup>, M. GAUTHIER<sup>4</sup>, J. DEVILLERS<sup>5</sup>, P. JOURDAN<sup>2,6</sup>, L. BELZUNCES<sup>2,7</sup>, M.-E. COLIN<sup>8</sup>, J. FOURRIER<sup>9</sup>, F. BRUN<sup>10</sup>, M. HENRY<sup>2,7</sup>

<sup>1</sup> ACTA, Domaine Saint Paul de l'INRA, Site Agroparc, Avignon Cedex 9

<sup>2</sup> UMT PrADE (protection des abeilles dans l'environnement), Avignon

<sup>3</sup> INRA, UE 1255 Entomologie, Le Magneraud, Surgères

<sup>4</sup> CNRS, CRCA, Université Paul Sabatier, 118 Route de Narbonne, 31062 Toulouse Cedex

<sup>5</sup> CTIS, 3 chemin de la gravière, 69140 Rillieux La Pape

<sup>6</sup> ADAPI, Site Agroparc, Avignon Cedex 9

<sup>7</sup> INRA, UR 406 Abeilles et Environnement, Site Agroparc, Avignon cedex 9

<sup>8</sup> Montpellier SupAgro, 900 rue Jean-François Breton, 34090 Montpellier

<sup>9</sup> ACTA, École Vétérinaire de Lyon, 1 avenue Bourgelat - BP 83, 69280 MARCY L' ETOILE

<sup>10</sup> ACTA, UMR 1248 AGIR, B.P. 52627, 31326 Castanet Tolosan Cedex

## Axel DECOURTYE

De nombreuses équipes françaises ont participé à la mise en place de nouvelles méthodes pour évaluer les effets comportementaux des pesticides chez l'abeille, suivant un cheminement de recherche méthodologique particulier.

Toutes les équipes partent du constat que les tests de toxicité classiques avant la mise sur le marché des produits ne répondent pas à toutes les questions qui se posent sur le terrain. Ces tests ne permettent notamment pas d'appréhender les effets comportementaux chez les butineuses exposées à de faibles doses ni les transferts de résidus à l'intérieur de la ruche. Les effets comportementaux figurent pourtant bien dans les lignes directrices européennes, cependant celles-ci ne préconisent aucun test en particulier.

Toutes les structures ont orienté leurs travaux d'analyse sur le comportement de butinage, qui est conditionné par l'intégrité de plusieurs processus biologiques (motricité, communication, perception, apprentissage). Les premiers travaux ont porté sur l'analyse de l'effet de certains pesticides sur ces différentes composantes, prises indépendamment les unes des autres. Des études ont notamment été consacrées aux effets de certains pesticides sur la perception du sucre par les abeilles; d'autres visaient à mesurer les performances d'apprentissage des individus, dégradées par l'exposition à certains produits.

Ces bio-essais sont relativement précis et permettent de définir des concentrations seuils mais ils restent limités à des individus maintenus en contention en laboratoire. Il a donc été décidé de réaliser un test sur l'apprentissage visuel des butineuses en vol libre, à l'aide d'un dispositif développé par une équipe australienne. Il montre que les abeilles parviennent à s'orienter très rapidement. En revanche, leurs performances d'apprentissage diminuent nettement après traitement au fipronil.

Certains auteurs ont également travaillé directement sur l'activité de butinage. Les tests révèlent qu'elle diminue après l'application de fipronil sur des nourrisseurs. Pour s'affranchir des problèmes de contrôle de l'exposition, d'autres auteurs procèdent différemment en exposant les butineuses en laboratoire. Les temps de retour à la ruche peuvent aussi être mesurés, à courte distance en laboratoire ou à longue distance en plein champ, à l'aide de puces RFID. Les tests effectués dans ce but ont été conçus de manière à mesurer la modulation de l'effet en fonction de la distance ou de l'expérience des butineuses. La publication de ces travaux a conduit l'Autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA) à préconiser en 2012 la prise en compte des effets sublétaux des pesticides.

Ces travaux peuvent aussi être employés dans un autre cadre. Ainsi, l'enregistrement automatique des comportements peut être utilisé comme outil d'évaluation et de surveillance des colonies en conditions réelles.

Les équipes françaises ont beaucoup travaillé sur l'écotoxicité et notamment sur la toxicité comportementale des pesticides, en lien avec les problématiques de la filière. Un large panel de méthodes a été développé mais la plupart d'entre elles restent encore à valider. Dès lors, se pose la question du compromis à trouver entre la pertinence écologique et la simplicité des bio-essais afin qu'ils puissent être réalisés en routine.

## Échanges avec la salle

### **Yves LE CONTE**

Des travaux de recherche en apiculture peuvent donc déboucher sur des décisions politiques, ce qui est remarquable.

### **Monique GAUTHIER**

Les tests que tu as présentés portaient uniquement sur une exposition aiguë.

### **Axel DECOURTYE**

En effet, je n'ai pas précisé la distinction entre une exposition aiguë et une exposition chronique mais certains des tests que j'ai mentionnés impliquaient bien une exposition chronique.

### **Monique GAUTHIER**

Il reste parfois difficile d'étudier les effets sublétaux des molécules en exposition aiguë mais ce sont essentiellement des tests en intoxication chronique qui font défaut aujourd'hui. Il y a un travail important à mener dans ce domaine.

### **Axel DECOURTYE**

En effet. Nous sommes également démunis s'agissant de l'étude du vol de retour par exemple.

### **Un intervenant**

Les méthodes que vous présentez sont-elles applicables à d'autres espèces, comme les bourdons ?

### **Axel DECOURTYE**

Oui. Par exemple, la technique des puces RFID est maintenant utilisée chez les insectes dans leur ensemble. Les pollinisateurs présentent l'intérêt de revenir vers un site unique, ce qui facilite l'utilisation de ce type de technique.

### **Marianne DECOIN**

Sans dévoiler les résultats obtenus, pouvez-vous nous en dire davantage sur les manipulations que vous avez réalisées depuis l'année dernière ?

### **Axel DECOURTYE**

Nous nous intéressons actuellement beaucoup à la modulation des effets des pesticides en fonction du contexte (climat, paysage...). Des études dans ce domaine nous permettraient de disposer d'éléments et d'alimenter un observatoire sur la santé des abeilles, en lien avec les pratiques phytosanitaires. Actuellement, nous savons évaluer les effets distincts des produits mais nous sommes démunis face aux conditions réelles dans lesquelles ils sont associés. Nous estimons qu'en travaillant sur les effets des produits modulés en fonction du paysage, nous pourrions progresser sur le sujet.

### **Cyril FOLTON**

Quel sera désormais le rôle de l'ITSAP et des chercheurs : irez-vous jusqu'à proposer des procédures d'homologation des produits phytosanitaires ou votre action se limitera-t-elle à attirer l'attention des autorités sanitaires ?

### **Axel DECOURTYE**

Nous appartenons à un groupe qui travaille sur la standardisation de ce type de méthodes et les instances qui proposent des méthodes sont bien identifiées. La question qui se pose encore à l'heure actuelle est celle du test inter-laboratoires : à quelle structure incombe la responsabilité de réaliser ces tests ? Ceux-ci tendent à devenir obligatoires mais le problème de leur coordination et de leur financement reste posé. En outre, les critères de validation dans le domaine de l'écotoxicologie ne sont pas toujours clairement définis. Il me semble qu'il manque un relais entre les développeurs et les structures d'accréditation.

### **Un intervenant**

Les tests standardisés d'écotoxicologie existent pour d'autres organismes depuis 1974. Il n'y a donc pas de raison que l'on n'y parvienne pas pour l'abeille, même si cela nécessite effectivement des années.

**Axel DECOURTYE**

En effet. Nous cherchons actuellement à mettre en place un ring test sur la toxicité chronique sur adultes. En ce qui concerne le comportement, nous recherchons la méthode qui doit être mise en avant.

**Yves LE CONTE**

Les scientifiques s'impliquent largement dans cette démarche car ils sont les principaux utilisateurs des tests qui sont mis au point.

## Observatoires de ruchers : un outil pour étudier la complexité des processus d'affaiblissement

Mickaël HENRY<sup>1,2</sup>, J.-F. ODOUX<sup>3</sup>, P. AUPINEL<sup>3</sup>, V. BRETAGNOLLE<sup>4</sup>, P. JOURDAN<sup>2,5</sup>,  
A. KRETSCHMAR<sup>6</sup>, E. MAIRE<sup>7</sup>, F. RHONE<sup>7</sup>, A. DECOURTYE<sup>2,8</sup>

<sup>1</sup> INRA, UR 406 Abeilles et Environnement, Site Agroparc, Avignon ;

<sup>2</sup> UMT PrADE (protection des abeilles dans l'environnement), Avignon ;

<sup>3</sup> INRA, UE 1255 Entomologie, Le Magneraud, Surgères ;

<sup>4</sup> CEBC-CNRS UPR 1934 – USC INRA/CNRS Agripop, Chizé ;

<sup>5</sup> ITSAP-Institut de l'abeille, Paris ;

<sup>6</sup> INRA, Unité Biostatistiques et Processus Spatiaux, Site Agroparc, Avignon ;

<sup>7</sup> Laboratoire GEODE - UMR 5602 CNRS, Université de Toulouse-Le Mirail, Toulouse ;

<sup>8</sup> ACTA, Domaine Saint Paul de l'INRA, Site Agroparc, Avignon.

### Michaël HENRY

Il existe plusieurs observatoires de ruchers en France, qui sont en place depuis quelques années. Ils ont été constitués dans le cadre de programmes de financement pluriannuels. Chacun a développé des techniques similaires, pour répondre aux besoins de ses propres recherches.

L'observatoire se définit comme un dispositif mis en œuvre par plusieurs partenaires pour suivre l'évolution d'un ou plusieurs phénomènes, dans l'espace et dans le temps (Moine A., 2007. *Le territoire : comment observer un système complexe*). Les observatoires existants s'intéressent généralement aux mécanismes d'affaiblissement des colonies. Ils évaluent les différents types d'environnements et peuvent également tester l'efficacité de certaines innovations sur la dynamique des colonies. Ils travaillent sur des cohortes, qu'ils suivent au fil du temps.

Les observatoires cherchent ainsi à caractériser les différents états du système et la dynamique des colonies. Ils recherchent des points de basculement et identifient les pressions qui pèsent sur les individus. Les observatoires sont mis en place par des scientifiques mais leur rôle consiste également à organiser les retours d'information vers la profession. La localisation des éléments du paysage et des pratiques agricoles a une influence sur la dynamique de la ruche. Tous ces observatoires sont donc confrontés à l'importance de la dimension spatiale.

Les observatoires diffèrent toutefois des réseaux de veille sanitaire. Ils se concentrent en effet sur des études et des suivis spatialement intensifs et produisent donc des données plus précises. La complexité des systèmes qu'ils étudient représente par ailleurs un obstacle aux démarches participatives privilégiées par les réseaux de veille, comme le réseau COLOSS par exemple.

Mon propos portera essentiellement sur l'activité des observatoires suivants :

- InterApi en région Centre ;
- ECOBEE dans les Deux-Sèvres ;
- GEODE en région Midi-Pyrénées ;
- Lavande-Drôme/Provence à Avignon ;
- RésApi, en Languedoc-Roussillon.

Certains observatoires définissent leurs cohortes *a priori* afin de contrôler l'effet environnemental, de manière à comparer les variations qui affectent cet environnement. Les observatoires RésApi et InterApi, qui travaillent respectivement sur les pertes hivernales et le manque de ressources en pré-hivernage, fonctionnent ainsi de cette manière. D'autres privilégient la définition de cohortes *a posteriori*, comme POLINOV ou le dispositif Lavandes. Tous ces observatoires bénéficient de l'appui des associations régionales de développement apicole (ADA).

GEODE est un laboratoire de l'Université de Toulouse – Le Mirail qui travaille sur l'impact de l'hétérogénéité du paysage et des structures semi-naturelles sur la dynamique des colonies. Dans le cadre de ces recherches, des sites d'observation ont été disposés et un protocole de suivi de la dynamique de la colonie

a été défini (pesées, prélèvements). Une analyse de l'architecture paysagère a également été élaborée, comprenant notamment un volet sociétal. Les résultats obtenus jusqu'à présent ont permis d'établir un profil moyen de la dynamique des colonies.

L'observatoire ECOBEE a pour objectif d'établir le profil de l'écologie de l'abeille dans un environnement de grandes cultures et de détailler l'effet de l'hétérogénéité temporelle et spatiale des ressources sur la colonie. Le dispositif est situé sur la zone atelier de Chizé, qui représente 45 000 hectares. La base de travail est donc considérable et permet de disposer de données remontant à 1995. Sur ce site, le CNRS favorise la mise en place de mesures agro-environnementales en travaillant avec les agriculteurs.

À la différence de l'observatoire précédent, les données obtenues sont plus précises et plus détaillées. Elles permettent de définir l'évolution du couvain, de la taille des colonies et des réserves de miel, mais également de définir l'impact du contexte paysager sur la dynamique de ces colonies. Par exemple, il apparaît que le colza et les éléments boisés ont un effet combiné positif sur la quantité de couvain en début de saison. Les données collectées sont cependant nombreuses et très variées, ce qui implique un important travail d'analyse.

L'observatoire InterApi travaille sur l'influence de cultures intermédiaires pièges à nitrates (CIPAN) mellifères en zone de grandes cultures sur la dynamique de colonies d'abeilles domestiques hivernantes. La première saison d'observation étant encore en cours, les résultats ne sont pas disponibles. Le travail a été réalisé sur une surface importante de 55 kilomètres carrés. Pour information, il s'agit du dispositif expérimental à plus grande échelle jamais réalisé.

L'observatoire Lavandes – Drôme/Provence se focalise sur l'étude de la dynamique des colonies sur miellées de lavande, et notamment sur l'affaiblissement des colonies. Trois zones d'étude sont suivies à intervalle de deux jours. La variable observée dans ce système est le gain de poids des colonies qui sera ensuite modélisé et mis en relation avec les variables environnementales. Il existe un lien fort entre le gain de poids et la quantité de couvain à l'état zéro. La pluviométrie conditionne également la production de miel.

D'autres observatoires poursuivent des buts plus spécifiques, comme le maintien de l'apiculture traditionnelle dans les Cévennes.

Le rapport entre la durée des suivis annuels et le nombre de colonies utilisées par les différents observatoires n'est pas linéaire. La différence se fait davantage sur l'intervalle de suivi des données. Les considérations économiques doivent également être prises en considération.

En synthèse, les observatoires sont confrontés à plusieurs enjeux :

- poser des hypothèses ;
- utiliser des indicateurs validés ;
- anticiper les phases de centralisation, de structuration et d'analyses des données ;
- rechercher la pluridisciplinarité ;
- assurer un retour vers les acteurs locaux ;
- chercher le compromis entre le plan d'échantillonnage et le degré de précision des indicateurs ;
- concilier l'étude de systèmes complexes et la science participative ;
- pérenniser les financements dont bénéficient ces observatoires après la clôture des programmes pluriannuels.



## Échanges avec la salle

### Un intervenant

Il existe un paramètre fondamental : le développement biologique des colonies d'abeilles. Comment le prenez-vous en compte ?

### Michaël HENRY

La stratégie de l'observatoire ECOBEE a consisté à se placer dans une situation d'apiculture réelle. L'état des colonies au départ est donc connu avec précision mais il n'est pas standardisé. Des contrôles sanitaires avaient également été effectués. Dans le cadre d'InterApi, la standardisation des colonies avait peut-être été plus poussée. Quoi qu'il en soit, tout dépend de la question posée au début de l'étude : lorsque l'on décide de privilégier des cohortes définies *a priori*, les colonies sont probablement plus standardisées. En revanche, les programmes visant à travailler sur la variabilité naturelle ne nécessitent pas de standardisation initiale.

### Une intervenante

Quels types de résidus avez-vous recherché dans le cadre des observatoires RésApi et InterApi ?

### Michaël HENRY

Pour InterApi, nous étions confrontés au risque de voir les couverts intercultures implantés après une culture traitée présenter des résidus. Il nous semblait donc important de contrôler cet élément. J'ignore ce qu'il en est de RésApi, n'étant pas impliqué dans le projet.

### Julien VALLON

Dans le cadre du projet RésApi, les recherches de résidus se focalisent sur le pain d'abeille récolté à la fin de la saison, comme marqueur des réserves que préparent les colonies en vue de l'hivernage.

# Système européen de surveillance épidémiologique des mortalités à l'origine du plan d'épidémiosurveillance mis en place en France

Pascal HENDRIKX, M.-P. CHAUZAT, L. CAUQUIL, C. SAUGEON, M. RIBIERE-CHABERT

Direction scientifique des laboratoires, Unité de surveillance épidémiologique,  
Plateforme nationale de surveillance épidémiologique, 31 avenue Tony Garnier - 69364 Lyon Cedex 07, France

## Pascal HENDRIKX

Le plan de surveillance européen est né d'un projet de l'Autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA) lancé en 2009 visant à décrire les programmes de surveillance de mortalité des abeilles actifs en Europe et à compiler les données disponibles. L'EFSA souhaitait que les résultats de ce projet alimentent de futurs projets européens en matière de recherche et de surveillance sur la mortalité et les maladies des abeilles.

24 pays ont ainsi été ciblés et 27 analyses ont pu être réalisées. Ces dispositifs de surveillance ont été analysés à partir de dix critères permettant d'identifier leurs forces et faiblesses. Comme l'a rappelé Mickaël HENRY, les réseaux de recherche et les dispositifs de surveillance ne fonctionnent pas de la même manière. Les procédures de surveillance se distinguent en effet entre surveillance événementielle et surveillance programmée : les données sont remontées par le terrain dans le premier cas, tandis que dans le second, l'on sélectionne les unités dans lesquelles les données seront recherchées.

À l'échelon européen, les systèmes passifs souffrent d'un manque d'adhésion des apiculteurs tandis que les systèmes actifs, fondés essentiellement sur des questionnaires, présentent des taux d'adhésion et de réponse variables en fonction des pays.

En fonction des données collectées au cours de l'étude, nous avons pu identifier des périodes avec des plus ou moins forts taux de mortalité des abeilles. Par ailleurs, certains pays manquent de données pendant des périodes particulières.

Globalement, il est apparu que les dispositifs européens étaient très contrastés et d'autre part, qu'il manquait un indicateur de mortalité partagé. À cet égard, les réseaux de recherche sont en position d'apporter un certain nombre de solutions car il existe un véritable besoin à ce niveau. Des actions sont conduites au niveau européen, mais il existe de véritables problèmes d'homogénéisation.

D'autre part, ces indicateurs révèlent des périodes de surmortalité et de « sous-mortalité » dont l'interprétation peut s'avérer délicate. En outre, les systèmes de collecte ne permettent pas de réaliser des comparaisons rigoureuses entre les pays. Il a donc été décidé de mettre en place un programme de surveillance à l'échelon européen.

À la suite de l'étude, la Commission européenne a sélectionné et mandaté un Laboratoire de référence européen (LRUE) sur la santé de l'abeille, chargé de mettre en œuvre les recommandations du rapport EFSA. Le laboratoire a donc commencé début 2011 à rédiger des lignes directrices pour la surveillance et un appel à candidature a été lancé par la Commission européenne. Elle a retenu 17 pays, dont la France, pour participer au programme de surveillance.

En parallèle, la Direction générale de l'alimentation (DGAL) a constitué un groupe de travail chargé d'élaborer un protocole de surveillance. Elle a également souhaité lancer un projet pilote de surveillance, qui a été confié au département de la Drôme. Le protocole utilisé était compatible avec les préconisations européennes.

Les objectifs de la surveillance étaient les suivants :

- estimer les taux de mortalité des colonies ;
- évaluer le niveau d'infestation par *Varroa destructor* des ruchers et des colonies ;
- assurer une alerte précoce en cas de détection d'*Aethina tumida* et d'acariens *Tropilaelaps spp.* ;
- estimer la prévalence clinique des principales maladies de l'abeille.

Une surveillance active a donc été mise en place sur la base d'un calendrier de visites en trois temps, échelonnés entre l'automne 2012 et l'été 2013. L'unité épidémiologique utilisée est le rucher, l'objectif étant de collecter des données représentatives et fiables, tout en tenant compte d'un certain nombre de contraintes propres à chaque pays.

Le dispositif de surveillance a donc été installé dans la Drôme. Il a permis d'obtenir quelques résultats sur la mortalité hivernale, dont le taux s'établit entre 16 et 28 % pour l'ensemble des colonies du tirage au sort. Le calcul n'est toutefois pas entièrement satisfaisant et permet uniquement de disposer d'une fourchette approximative. L'étude a également permis d'obtenir des données sur certaines maladies : les taux d'infection des ruchers par *Nosema ceranae* se situaient entre 32 et 64 %. Pour l'année suivante, l'objectif serait d'obtenir un intervalle plus restreint.

Ce premier volet expérimental a toutefois permis d'obtenir des éléments concrets et d'étendre le dispositif à cinq nouveaux départements en 2012-2013. Une base de données en ligne protégée a également été ouverte afin de permettre de collecter rapidement les données. Pour susciter une plus grande adhésion, il convient en effet de faire un retour d'information rapide à destination des apiculteurs. Par ailleurs, il est prévu d'inclure des recherches de produits phytopharmaceutiques dans les ruchers, selon un protocole qui reste à déterminer.

Le rapport européen est accessible sur le site de l'EFSA ([www.efsa.europa.eu](http://www.efsa.europa.eu)) et les résultats de la surveillance dans la Drôme sont disponibles sur le site du centre de ressources de la Plateforme ESA ([www.plateforme-esa.fr](http://www.plateforme-esa.fr)).

## Échanges avec la salle

### Virginie BRITTEN

Aux niveaux français et européen, les non-valeurs en matière de mortalité hivernale ont-elles aussi été comptabilisées dans le protocole ?

### Pascal HENDRIKX

Il n'est pas simple en effet de définir les cas considérés dans l'indicateur. Nous avons décidé d'inclure dans le numérateur les individus morts et les non-valeurs, c'est-à-dire les non-viables. Il nous a semblé pertinent de comptabiliser les deux états.

### Frédéric DELBAC

S'agissant du protocole d'échantillonnage utilisé pour la recherche de *Nosema*, à quelle période de l'année les prélèvements ont-ils été effectués et quels types d'abeilles ont été prélevés ? Comment les protocoles ont-ils été établis ?

### Marie-Pierre CHAUZAT

Nous n'avons pas demandé de recherche de *Nosema* dans le protocole européen car l'échantillonnage constitue effectivement un problème : il convient de prélever soixante butineuses vivantes, mais au niveau européen, on ne peut pas demander à tous les pays de passer des heures devant les ruches pour ce prélèvement. En France, le prélèvement de butineuses a été maintenu et s'effectue au printemps.

### Une intervenante

Dans le département auquel j'appartiens, soixante abeilles de corps de ruche ont été prélevées systématiquement au printemps dans des ruches sélectionnées de manière aléatoire. En revanche, lorsque des lésions sont observables, des prélèvements sont faits sur les ruches dites « symptomatiques », à n'importe quelle période de l'année.

### Pascal HENDRIKX

Dans la Drôme, aucun prélèvement symptomatique n'a été réalisé hors période de printemps. Les taux relevés dans ce département semblaient toutefois légèrement inférieurs à ceux d'autres territoires. Si cet indicateur doit être mesuré à un autre moment, le questionnement devra être porté par le groupe de travail.

**Yves LE CONTE**

Vous obtenez 32 à 64 % de colonies infestées par *Nosema* selon les ruchers. Cela signifie-t-il que certaines ruches ne sont pas contaminées du tout ?

**Pascal HENDRIKX**

Oui. Certaines colonies n'étaient pas infestées. Cela étant, nous sommes vraisemblablement passés à côté de colonies faiblement infestées dans les ruchers les plus importants. Il était en effet impossible de mesurer toutes les colonies. En revanche, ce n'est pas le cas dans des ruchers plus petits.

**Yves LE CONTE**

Il est étonnant que certaines ruches ne soient pas infectées du tout. Si tel est bien le cas, il serait intéressant de chercher à analyser les souches de ces abeilles.

**Pascal HENDRIKX**

On a bien 95 % de chances de trouver l'infection si elle est présente sur 20 % des ruchers. La variation du taux d'infestation à l'intérieur du rucher est peut-être supérieure aux chiffres qui sont présentés ici.

**Frédéric DELBAC**

Le taux de *Nosema* varie aussi en fonction de la saisonnalité. On sous-estime donc la prévalence de la maladie en prenant un point unique dans l'année.

**Yves LE CONTE**

À l'INRA, les ruches sont infectées en permanence, avec toutefois des pics en fonction des saisons.

**Frédéric DELBAC**

Disposez-vous de données quantitatives ou avez-vous simplement mesuré la présence ou l'absence de l'agent pathogène ?

**Marie-Pierre CHAUZAT**

Pour rappel, *Nosema* ne se trouve pas dans les échantillons car ceux-ci se composent d'abeilles de corps et non de butineuses. Par ailleurs, nous avons effectué un diagnostic clinique pour la loque américaine et la loque européenne ; une recherche quantitative pour les virus et une analyse présence/absence du pathogène pour le SBV et *Nosema*.

**Pascal HENDRIKX**

Le débat sur *Nosema* met clairement en évidence les difficultés de l'échantillonnage lorsque de multiples objectifs sont visés. Le taux de prévalence de 20 % à l'intérieur du rucher n'est peut-être pas suffisant. Il est donc particulièrement important de préciser la composition des indicateurs afin d'éviter tout risque de surinterprétation.

**Marie-Pierre CHAUZAT**

Le programme comportait des objectifs principaux, comme le taux de mortalité. *Nosema* représentait en revanche un objectif secondaire de notre point de vue.

**Pascal HENDRIKX**

Le sujet soulève la question des indicateurs. Nous avons besoin des réseaux de recherche pour élaborer des indicateurs simples utilisables à grande échelle. Il est particulièrement important de faire le lien avec la surveillance sur cet aspect.

**Une intervenante**

Le ministère de l'Agriculture est responsable de la coordination du réseau français mais la personne en charge du dossier, qui a récemment quitté son poste, n'a pas encore été remplacée.

## Mise en place de tests moléculaires discriminants et d'essais d'infection concernant *Nosema apis* et *Nosema ceranae*

Marie-Pierre CHAUZAT, P. BLANCHARD, M. RIBIERE-CHABERT

Anses, Laboratoire de Sophia Antipolis, Unité de Pathologie de l'Abeille,  
105 route des Chappes - 06902 Sophia Antipolis Cedex, France

### Marie-Pierre CHAUZAT

*Nosema apis* appartient aujourd'hui en France aux maladies de catégorie 1. Elle est répertoriée par l'Office International d'Épizootie (OIE) et considérée en Australie comme la maladie la plus sérieuse en termes de pertes économiques. Cette maladie est connue depuis plusieurs siècles. En 1909, le pathogène est identifié par le Dr Zender. Il est aujourd'hui classé parmi les champignons.

*Apis mellifera*, originaire d'Europe et d'Afrique, diffère d'*Apis ceranae*, présente sur le continent asiatique. La répartition géographique de ces deux espèces, très distincte initialement, a toutefois évolué au cours du temps, *A. mellifera* ayant été importée par l'homme sur le continent américain et en Asie. Ces deux espèces sont donc entrées en contact entre elles et avec leurs agents pathogènes respectifs.

*A. cerana* est très similaire à *A. mellifera* du point de vue morphologique. Elles sont les seules espèces à être exploitées commercialement en Asie. Comme l'ont démontré les travaux menés en 1996 par I. Fries, *A. cerana* est parasitée par *Nosema ceranae*. En revanche, il n'a pas pu trouver de *N. ceranae* sur *A. mellifera*. Mais en 2006, l'équipe de M. Higes a identifié des individus *A. mellifera* contaminées par *N. ceranae* en Europe. De nombreux travaux ont été menés en Europe pour identifier la manière dont *N. ceranae* est parvenu à coloniser le monde entier : ils ont révélé qu'il était arrivé en Europe avant 2002.

Aujourd'hui, la littérature antérieure à 1996 relative à la nosérose doit être adaptée. *N. apis* était connu sous une forme chronique et sous une forme aiguë, provoquant des symptômes variés et identifiables. Pour rappel, le pathogène se développe dans le ventricule de l'abeille après ingestion de spores.

Le diagnostic de la nosérose due à *N. apis* est établi par l'identification de signes cliniques puis par la caractérisation de l'agent pathologique. Cette maladie fréquente et largement identifiée ne nécessitait pas d'analyses poussées. La répartition saisonnière de la nosérose due à *Nosema apis* est donc connue. En revanche, les signes cliniques (diarrhée, présence d'abeilles rampantes...) et la saisonnalité caractéristiques disparaissent dans le cas de la nosérose à *N. ceranae*.

L'équipe de M. Higes propose la séquence clinique suivante pour établir un diagnostic de nosérose due à *N. ceranae* :

- une période de ponte plus longue – y compris pendant l'hiver ;
- un rapport couvain/nourrices en faveur du couvain pendant la saison chaude ;
- une production de miel plus faible ;
- les colonies infectées et affaiblies, sans abeilles adultes ;
- un effondrement en 1,5 à 2 ans.

L'équipe distingue quatre phases : asymptomatique, de remplacement, fausse rémission et dépopulation. Elle souligne que lorsque des spores sont présentes dans les abeilles internes, la colonie peut être considérée comme très atteinte et destinée à mourir.

La biologie moléculaire permet de caractériser et de différencier les deux espèces de nosérose. Plusieurs tests étaient disponibles en 2007, le test proposé par l'équipe de M. Higes restant recommandé par l'OIE. Le laboratoire de Sophia-Antipolis a éprouvé ces différents tests et abouti à la conclusion que seul le procédé PCR permet d'identifier les deux agents pathogènes, qui peuvent en effet se masquer réciproquement lorsque l'un d'entre eux est présent en très grand nombre. Nos tests ont révélé une très large présence de *N. ceranae* et la subsistance de *N. apis*, mais exclusivement en co-infection.

La caractérisation de l'agent passe également par le comptage des spores. Il convient toutefois pour obtenir un résultat fiable de prélever des abeilles butineuses. En outre, M. Higes a démontré que la

proportion de butineuses infectées constituait le meilleur indicateur pour étudier finement quelques colonies et pour évaluer la progression de la maladie dans une colonie.

Pour rappel, aucun seuil n'a encore été établi permettant de déclarer la maladie présente. En effet, il est impossible de reproduire la nosérose à *N. ceranae* en laboratoire. Il est possible de suivre l'évolution du nombre de spores à l'intérieur des abeilles, mais celui-ci ne peut pas être mis en rapport avec des symptômes donnés.

Le laboratoire s'est attaché à identifier des méthodes permettant d'effectuer des comptages fiables et répétables du nombre de spores. Nous en sommes ainsi arrivés à la conclusion qu'il était préférable de compter une fois trois lames différentes, plutôt que de procéder à trois lectures. En outre, il est apparu que l'information se perdait et que le taux d'infestation diminuait lorsque les abeilles étaient broyées simultanément.

Nous avons également créé des sérums afin de reproduire artificiellement l'opération. Nous avons ainsi constaté que le nombre de spores obtenues était inférieur au nombre de spores attendues et qu'en outre, plus le nombre de spores était élevé dans l'échantillon, plus celui-ci était variable. Ces travaux ont fait l'objet d'un poster présenté dans le cadre des travaux du réseau de COLOSS.

Certains traits de la maladie ont pu être montrés en laboratoire (lésions des cellules épithéliales du ventricule, effets comportementaux, réduction de la durée de vie des abeilles, augmentation de la sensibilité aux pesticides).

De bonnes pratiques apicoles peuvent permettre de limiter l'impact de la nosérose dans les colonies. Il convient essentiellement de conserver des colonies les plus fortes possibles pendant la période d'hivernage, notamment en assurant aux colonies des provisions suffisantes et de qualité, dépourvues de miel de miellat, en privilégiant un lieu d'hivernage sec et ensoleillé, en éliminant les colonies faibles et en favorisant de jeunes reines vigoureuses. Enfin, il conviendra d'éviter le matériel souillé et de désinfecter régulièrement le matériel.

## Échanges avec la salle

### Une intervenante

Subsiste-t-il une différence de répartition géographique entre *N. ceranae* et *N. apis* ?

### Marie-Pierre CHAUZAT

D'après les récents travaux d'une équipe suédoise, *N. ceranae* serait davantage présente dans les pays chauds du sud de l'Europe tandis que *N. apis* reste encore très présente dans les pays nordiques, seule et en co-infection.

### Gabriel CARRÉ

Pourquoi préconisez-vous le retrait du miellat comme mesure préventive contre la nosérose ? Par ailleurs s'agissant des butineuses, est-ce l'âge ou l'exposition à l'environnement qui constitue un facteur d'aggravation ? Existe-t-il des traitements de type fongicide pour contrecarrer le développement de la maladie ?

### Marie-Pierre CHAUZAT

De nombreux travaux sur *N. apis* et quelques travaux sur *N. ceranae* ont montré que l'infection avait un impact sur la quantité de protéines dans l'abeille et par conséquent, sur l'évolution naturelle des glandes hypopharyngiennes de l'abeille. Il n'y a donc pas de facteur aggravant mais des éléments tels que le développement de *Nosema*, l'atrophie des glandes hypopharyngiennes et le départ plus tôt vers le butinage, peuvent être reliés.

En matière de traitement de la nosérose, il existe aujourd'hui un antibiotique : le Fumidil-B, qui est toutefois interdit d'utilisation en Europe. Des travaux menés en Espagne ont produit des résultats contrastés sur l'efficacité de ce remède. Des recherches sont actuellement menées par des équipes espagnoles et italiennes sur l'utilisation du thymol contre *N. ceranae*.

Quant au miellat, il est recommandé de le retirer dans la mesure où l'on a constaté que sa présence favorisait le développement de *N. apis*.

**Jacques BOYER**

Vous n'avez pas évoqué les lésions liées à *N. ceranae* : la présence de spores associées à la présence de lésions ne pourrait-elle permettre de conclure que la maladie est déclarée ?

**Marie-Pierre CHAUZAT**

De nombreux travaux ont été menés sur les lésions provoquées par *N. ceranae* dans le tractus digestif de l'abeille. Toutefois, contrairement à *N. apis*, la maladie ne provoque pas de diarrhée, ce que nous ne parvenons pas à expliquer. Par ailleurs, il est beaucoup plus difficile de mettre en évidence des lésions sur les cellules épithéliales du ventricule que de broyer des abeilles et de compter les spores. Je n'ai pas de souvenir de travaux montrant la relation entre les lésions épithéliales et l'effondrement des colonies.

**Jacques BOYER**

Pour rappel, le varroa produit à peu près les mêmes effets que ceux que vous avez cités.

# ***Nosema ceranae*: synergies avec les insecticides et nouveaux moyens de lutte**

**Frédéric DELBAC**

Clermont Université, Université Blaise Pascal, Laboratoire Microorganismes :  
Génome et Environnement, BP 10448, F-63000 Clermont-Ferrand, France - CNRS, UMR 6023, LMGE,  
F-63177 Aubière, France

## **Frédéric DELBAC**

Tous les organismes vivants sont soumis des stress abiotiques et biotiques. Les interactions possibles entre ces différentes formes de stress, et notamment entre pesticides et pathogènes, ne doivent donc pas être négligées. En effet, il a été démontré, notamment chez des organismes aquatiques, que non seulement ces interactions existent mais qu'elles ont, en outre, un effet synergique. Certains programmes dits de « lutte intégrée » utilisent d'ailleurs cette combinaison entre pesticides et organismes pathogènes pour lutter contre des nuisibles.

L'abeille est également soumise à certains stress combinés. Nous avons donc entrepris des études en laboratoire pour montrer les interactions entre *Nosema ceranae* et certains insecticides. Nous avons choisi ce parasite parce qu'il est fortement prévalent chez l'abeille.

L'impact du parasite *Nosema* est aujourd'hui controversé. L'équipe de M. Higes affirme, par exemple, l'existence d'un impact considérable de ce parasite, contrairement à d'autres équipes. La nosérose peut en effet être considérée comme étant le résultat d'un déséquilibre dans la colonie et non la cause. Dans un tel cas de figure, *Nosema* serait un parasite opportuniste.

Pour identifier les facteurs favorisant l'effet du *Nosema*, nous avons lancé une étude en laboratoire sur l'effet d'une infection par *N. ceranae* sur la sensibilité des abeilles à des doses sublétales de fipronil et de thiaclopride. Nous avons constaté que le thiaclopride entraîne une mortalité similaire à celle du contrôle. En revanche, la mortalité est très élevée sous l'effet de *N. ceranae*. Enfin, la combinaison des deux stress génère une mortalité très élevée, révélant l'existence d'un effet synergique. La synergie est encore plus marquée avec le fipronil.

Nous avons également cherché à savoir si l'intoxication chimique avait un effet sur la production parasitaire. Il en résulte que le nombre de spores diminue dans le cas du fipronil tandis qu'il s'accroît lorsque *N. ceranae* est combinée à l'ingestion de thiaclopride. La mortalité des abeilles ne s'explique donc pas par l'effet des insecticides sur la production de spores.

Nous nous sommes aussi interrogés sur l'ordre des facteurs de stress auxquels sont exposées les abeilles. Nous avons montré que les abeilles infectées par *Nosema* sont plus sensibles aux insecticides mais qu'en est-il de l'inverse ? Nous avons suivi un protocole permettant d'exposer les abeilles aux deux facteurs de stress étudiés (*N. ceranae* et fipronil) dans des ordres différents et simultanément. Les résultats obtenus montrent que le taux de survie est similaire dans tous les cas et révèlent l'existence d'un effet synergique. Par ailleurs, nous n'avons constaté aucun impact du fipronil sur le développement de *N. ceranae* ni sur la consommation de sucrose.

Ces premiers travaux nous ont permis de démontrer l'existence d'un effet synergique entre l'exposition aux pesticides et l'infection de *N. ceranae*, et ce, quel que soit l'ordre d'exposition aux facteurs de stress. Ils ont donné lieu à deux publications dans des revues de rang A et à des communications dans la presse nationale et internationale.

Aujourd'hui, nous travaillons sur la manière dont l'abeille répond à ces facteurs de stress en examinant la perturbation des mécanismes de détoxification et de réponse immunitaire. Nous avons abordé cette problématique en nous appuyant sur une approche RNA-seq.

Ce programme de recherche ayant reçu un avis favorable de l'Agence nationale de la recherche (ANR), nous travaillerons de 2013 à 2017 sur ces mécanismes synergiques chez l'abeille et chez la drosophile. Nous emploierons différents outils qui nous permettront d'examiner en quoi le métabolisme général de l'abeille est perturbé à la suite de l'exposition aux facteurs de stress. Ils nous permettront aussi d'étudier l'évolution de la flore digestive de l'abeille à la suite de l'exposition à ces facteurs de stress.



Un autre projet de l'équipe concerne l'utilisation des polysaccharides dans la lutte contre *Nosema*. Pour l'heure, le seul traitement connu est le Fumidil-B® (fumagilline), interdit en Europe depuis 2002. Actuellement, il n'existe donc aucune alternative prophylactique ou thérapeutique permettant de limiter l'impact des *Nosema* ou de traiter les nosémoses.

Nous avons commencé à mesurer l'activité antiparasitaire de différents extraits naturels (micro-algues, macro-algues et plantes). Les polysaccharides, issus de micro-algues ou de macro-algues, possèdent en effet diverses propriétés bénéfiques dont des propriétés antivirales et antiparasitaires. Ils sont largement utilisés dans l'industrie alimentaire et pharmaceutique. Plusieurs études ont montré notamment qu'ils pouvaient avoir un effet d'inhibition sur des microsporidies présentes chez l'homme.

Nous ne sommes pas encore en mesure de réaliser des tests *in vitro* sur *N. ceranae* mais les essais menés sur un micro-parasite présent chez l'homme nous ont permis de sélectionner plusieurs molécules de polysaccharides. Les résultats sont relativement probants avec des taux d'inhibition élevés.

Par la suite, nous avons évalué les effets de certaines de ces molécules *in vivo* sur des abeilles élevées en laboratoire afin d'identifier des molécules utiles dans une perspective prophylactique. Les résultats sont intéressants et permettent d'obtenir des taux de mortalité similaires à ceux qui sont obtenus avec l'usage de la fumagilline.

Le projet suit son cours mais nous avons récemment pu déposer un brevet afin de protéger ces molécules. Dès 2013, nous testerons certains de ces extraits dans des conditions réelles sur des colonies d'abeilles entières. L'ANR a financé le projet que nous avons présenté sur ce sujet, intitulé SUPOBEE.

Les travaux sur les synergies continueront donc d'être menés par notre équipe en collaboration avec l'INRA d'Avignon et avec l'unité Immunité des insectes de Strasbourg. Le projet consacré à la recherche de molécules est réalisé par M. Roussel au sein de notre équipe, en collaboration avec l'Institut Pascal de Clermont-Ferrand.

## Échanges avec la salle

### **Bernard LAMIDEL**

L'étude sur les synergies démarre à JO mais l'abeille peut-elle être exposée à des agents xénobiotiques ou à des spores de *Nosema* pendant son temps larvaire ?

### **Frédéric DELBAC**

Oui, l'abeille peut être exposée à des xénobiotiques pendant son temps larvaire. En revanche, il n'a pas encore été démontré que *Nosema* se développait dans les larves. Les abeilles naissantes ne sont jamais infectées. Tous les travaux de recherche sont confrontés à des facteurs de stress qui peuvent entraîner une variation des résultats. Il en va de même pour l'effet *Varroa*.

### **Bernard LAMIDEL**

Vous avez également mentionné des colonies composées de porteurs sains. Cette caractéristique se transmet-elle à la filiation de ladite colonie ?

### **Frédéric DELBAC**

Non, aucune transmission verticale n'a jamais été démontrée.

### **Gabriel CARRÉ**

Vous avez mentionné d'autres facteurs de stress susceptibles de favoriser le *Nosema* : ont-ils fait l'objet de travaux spécifiques ? Deuxièmement, les travaux sur les polysaccharides sont-ils susceptibles de déboucher à terme sur des solutions pour l'apiculture, et à quel horizon ?

### **Frédéric DELBAC**

Notre objectif est bien de mettre à disposition des apiculteurs des moyens de prévenir la maladie et de limiter la charge parasitaire dans les colonies. Je ne suis cependant pas en mesure de me prononcer sur les délais. Nous avons déposé un brevet et nous devons encore étudier l'effet des molécules sur des abeilles en tunnel, puis en milieu naturel et évaluer d'éventuels effets toxiques sur les colonies. Ils devraient être inexistantes mais leurs effets doivent être mesurés.

En ce qui concerne d'éventuels travaux menés sur d'autres synergies, un projet avait été mis en place par l'équipe de Marie-Pierre CHAUZAT sur la synergie *Nosema*-virus. Par ailleurs, il est difficile en laboratoire de mener des analyses multi-facteurs.

**Claire BAUVET**

Comment obtenez-vous des mortalités en laboratoire avec l'inoculation de *N. ceranae* ?

**Frédéric DELBAC**

La mortalité existe. En revanche, les signes de la maladie sont difficilement perceptibles. Nous avons observé certains symptômes sur des abeilles en cagettes, mais le fait est que la lecture reste moins évidente pour *N. ceranae* que pour *N. apis*.

**Claire BAUVET**

Avez-vous pu déterminer un seuil de quantité de spores à inoculer pour obtenir un niveau de mortalité donné ?

**Frédéric DELBAC**

La mortalité reste réelle, quel que soit le nombre de spores injectées. Elle sera simplement décalée dans le temps si les doses inoculées sont moins élevées. En revanche, il n'existe pas de lien direct entre la charge parasitaire et la mortalité. Certaines colonies sont parfois infectées par des quantités de parasites extrêmement élevées tout en restant très fortes.

**Michaël ROUSSEL**

Une ou deux études montrent que des colonies très infectées par *N. ceranae* répondraient de manière plus limitée aux traitements acaricides. Cependant, les raisons de cette situation ne sont pas encore établies.

S'agissant des recherches menées sur les polysaccharides, notre objectif est effectivement de mettre à disposition de l'apiculture des moyens de lutte contre *N. ceranae*. Nous ignorons quand nos recherches aboutiront mais nous devons nous assurer que le moyen naturel que nous proposerons sera le plus favorable possible pour les abeilles.

**Philippe LECOMPTE**

L'usage de l'antibiotique Fumidil-B est beaucoup plus répandu qu'on ne le croit, notamment dans les pays de l'Est. Par ailleurs, les moyens manquent dans la lutte contre cette pathologie mais la réglementation européenne sur l'apiculture biologique interdit désormais aux apiculteurs de cette filière d'utiliser certains produits, comme l'eau de javel ou l'acide acétique, pour nettoyer les ruches. Il s'agit-là d'incohérences graves et j'espère que l'administration française s'emploiera à limiter ces dérives.

Les profils de végétation sont tels aujourd'hui que les abeilles se nourrissent fréquemment de pollen de mauvaise qualité, voire toxique. Je comprends donc mal que la qualité du bol alimentaire et l'éventuelle influence de toxiques naturels sur le développement des *Nosema* ne soient pas davantage étudiées. Des études suisses avaient mis l'accent sur ce sujet entre les deux guerres. Par ailleurs, des mesures préventives sont prises dans certains pays, comme en Roumanie, visant à éviter la proximité des renouclacées. Avez-vous eu l'occasion d'étudier cette problématique ?

**Frédéric DELBAC**

Je comprends votre interrogation mais les équipes de recherche ne sont pas en mesure de répondre à toutes les questions. Nous nous efforçons pour notre part de comprendre les mécanismes afin d'être en mesure de proposer des moyens permettant de contrer ces effets.

# Risques d'invasion en Europe de *Vespa velutina*, le frelon asiatique prédateur d'abeilles

Franck MULLER<sup>1</sup>, Q. ROME<sup>1</sup>, M. BARBET-MASSIN<sup>2</sup>, F. JIGUE<sup>2</sup>, C. VILLEMANT<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Muséum National d'Histoire Naturelle, UMR7205, CP50, 45 rue Buffon, 75005 Paris, France

<sup>2</sup> Muséum National d'Histoire Naturelle, UMR7204 MNHN-CNRS-UPMC, CP 51, 55 rue Buffon, 75005 Paris, France

## Franck MULLER

Le frelon asiatique est une espèce originaire d'Asie présente du nord de l'Inde aux régions côtières de l'est de la Chine. La variété *Vespa velutina nigrithorax* a été introduite en Europe à partir de 2004 dans le cadre du commerce international de poteries.

*V. velutina* est un prédateur d'abeilles connu en Asie, continent sur lequel il est habitué à entrer en compétition avec une vingtaine d'autres espèces. *Apis cerana* a développé des méthodes de défense contre ce prédateur, comme le heat-balling, ce qui n'est pas le cas de *Apis mellifera*. La prédation du frelon en Europe entraîne donc à la fois une réduction du nombre d'abeilles mais surtout une réduction de l'activité de butinage.

Pour rappel, les prélèvements des proies chez les vespides sont opérés par les adultes dans le seul but de nourrir les larves. Les adultes se nourrissent uniquement de liquide sucré et les ouvrières des protéines régurgitées par les larves.

Depuis sa première découverte en 2006, l'espèce est très suivie par les équipes du Muséum d'Histoire Naturelle, notamment par le biais de la base de données de l'Inventaire national du patrimoine naturel (INPN). Le site web <http://inpn.mnhn.fr/espece/signalement/vespa> a ainsi été consacré au frelon asiatique afin d'obtenir un maximum de signalements, par le grand public et les autorités compétentes. On dénombre toutefois 30 % d'erreurs de signalement environ : tous les signalements doivent donc être vérifiés. Nous sommes néanmoins capables de suivre l'évolution du front d'invasion de cette espèce, présente aujourd'hui sur plus la moitié du territoire. Elle progresse dans le nord de l'Espagne et du Portugal.

Nous disposons d'un échantillonnage exhaustif des niches écologiques dans lesquelles le frelon asiatique peut survivre, et sommes en mesure d'établir un modèle des potentialités d'expansion ou de survie. Tout le continent européen est aujourd'hui concerné, certaines zones étant à ce jour plus touchées que d'autres, mais tous les pays européens seront vraisemblablement concernés à terme.

L'espèce n'a toutefois jamais posé de problème particulier à l'apiculture en Asie et n'a donc jamais donné lieu à des travaux spécifiques. Nous avons ainsi dû engager des travaux d'histoire naturelle complets, en étudiant la biologie de l'espèce, la dynamique des colonies et son régime alimentaire.

Un échantillonnage a été réalisé sur le terrain à partir de la dissection de 77 nids matures. Les plus grands nids peuvent atteindre un mètre de haut, voire plus dans de rares cas. En moyenne, les nids mesurent 60 cm de diamètre et 60 à 80 cm de haut pour 8 galettes et 10 000 cellules. Ils sont donc beaucoup plus peuplés que ceux du frelon européen *Vespa crabro*. La production d'ouvrières est continue sur la saison, tandis que les mâles et les fondatrices apparaissent et se développent à l'automne. Les fondatrices et les ouvrières se distinguent essentiellement par leur poids. Les nids sont annuels, seules les femelles fondatrices étant susceptibles de produire de nouvelles colonies descendantes.

*V. velutina* ne consomme pas uniquement des abeilles. Les travaux menés sur le sujet pendant trois ans menés par identification morphologique et à l'aide de code-barres moléculaires ont en effet permis d'établir que le régime alimentaire de *V. velutina* pouvait contenir jusqu'à 80 % d'abeilles domestiques en ville. En milieu périurbain, l'abeille domestique représente plutôt 66 % du spectre alimentaire de *V. velutina*. Celui-ci consomme également des guêpes et des diptères. Plus l'habitat est diversifié, plus le spectre alimentaire de *V. velutina* s'élargit, faisant baisser d'autant la part de l'abeille domestique. L'impact de la présence de ce frelon sur l'abeille est réel mais il l'est également sur toute la diversité entomologique.

Nous avons aussi travaillé de façon plus marginale sur les méthodes de lutte en examinant si le jus de cirier constituait un remède efficace. Nous en déduisons que le piégeage a un impact beaucoup plus fort sur *Vespa crabro* et sur toute l'entomofaune locale que sur *V. velutina* (un piège contient 1 à 10 frelons asiatiques, pour 100 diptères). Nous estimons par conséquent que le piégeage doit être envisagé de manière réfléchie et limitée, l'impact sur la biodiversité pouvant être aussi important que celui du frelon asiatique sur l'abeille domestique.

Nous avons formulé plusieurs recommandations à cet égard, visant notamment à éviter le piégeage préventif et le piégeage printanier. Le piégeage doit en outre être limité au rucher, sur une période de juillet à novembre. Des études devront être réalisées pour élaborer de nouvelles méthodes de lutte.

Par ailleurs, il est à noter que d'après les statistiques du centre antipoison, le frelon asiatique n'est pas responsable d'une augmentation du nombre de morts par piqûres d'hyménoptères.

Le travail réalisé pour caractériser la lignée invasive a été réalisé par Mariangela ARCA. D'autres recherches ont été consacrées à l'impact de *V. velutina* sur les colonies d'abeilles par le laboratoire de Gérard ARNOLD. Enfin, les tests préliminaires de méthodes de piégeage et de lutte ont été menés par le laboratoire de Denis THIERRY, à l'INRA de Bordeaux.

## Échanges avec la salle

### **Bernard LAMIDEL**

Avez-vous pu déterminer le nombre de thorax d'abeilles nécessaire pour nourrir une larve de *V. velutina* ? Par ailleurs, le mouvement optique produit par les abeilles en Asie en guise de défense a-t-il pu être reproduit ?

### **Franck MULLER**

Nous n'avons pas comptabilisé le nombre de thorax nécessaires, l'élevage de frelons n'ayant pu être réalisé en laboratoire. Nous avons cependant pu déplacer les nids dans des endroits où nous pouvions assurer un suivi sur moyen terme, ce qui nous permettra d'obtenir des indications chiffrées sur le nombre de proies nécessaires au développement d'une colonie au cours de la saison. S'agissant du mouvement des abeilles, je ne crois pas que des équipes aient déjà travaillé sur le sujet.

### **Un intervenant**

Plusieurs cas ont été identifiés en région parisienne et en Côte-d'Or, mais il semble que ces colonies ne se soient pas développées. Comment expliquez-vous cette absence de développement en dehors du front d'invasion ?

### **Franck MULLER**

La population s'est maintenue en Côte-d'Or et semble se développer. L'explosion de la population dans le sud-ouest a été visible autour de 2005-2006 mais nous ignorons la durée de la période d'établissement antérieure à ce développement. Les zones isolées sont donc peut-être représentatives de ce qui s'est produit dans le sud-ouest au cours des premières années précédant l'invasion.

### **Un intervenant**

En Pays de la Loire, un seul nid avait été observé mais le nombre de signalements a augmenté de façon considérable l'année suivante. Quelle attitude préconisez-vous dans les zones isolées, sachant que la position du Museum n'est pas nécessairement celle des apiculteurs locaux ?

### **Franck MULLER**

Les grandes variations dans le nombre de signalements d'une année sur l'autre s'expliquent surtout par l'amélioration de la sensibilisation du grand public.

En ce qui concerne l'Île-de-France, vous savez qu'un réseau de surveillance a été institué au niveau de la région. La bibliographie existante nous indique par ailleurs que le piégeage des reines n'a pas d'impact. Le Museum s'en tient donc pour l'heure à ces éléments, n'ayant pas encore eu l'occasion de réaliser de nouveaux travaux sur le sujet. Par ailleurs, l'équipe de l'INRA de Bordeaux a publié une communication dont les conclusions sont identiques aux nôtres. Le sujet doit être étudié mais pour l'heure, le piégeage ne m'apparaît pas comme un moyen de lutte efficace.

**Axel DECOURTYE**

Les changements globaux (climat, occupation des sols) ont-ils été intégrés dans le modèle d'expansion de *V. velutina* ? D'autre part, vous considérez le piégeage comme peu sélectif et peu efficace mais d'un autre côté, vous avez indiqué que lorsque le piège était installé sur les ruchers, le piégeage devenait sélectif.

**Franck MULLER**

Nous avons récemment publié un article dans *Biological Invasions* sur l'impact du changement global à cent ans sur ce modèle. Les modèles que j'ai présentés précédemment sont des modèles bioclimatiques, établis sur des données Worldclim. Ils montrent simplement que l'aire de répartition sera étendue.

Je n'ai pas approfondi la question du piégeage car le sujet n'est pas au cœur de nos travaux. Notre projet portait uniquement sur la limitation de la pression de prédation sur les ruchers. Le piégeage sur les ruchers est efficace et il doit être distingué du piégeage des fondatrices. En effet, 150 reines sont produites en moyenne au sein d'un nid et l'on estime à 90 % la mortalité naturelle au cours de l'hiver et du printemps. L'espèce est adaptée pour résister à une forte mortalité à cette période. Il n'est donc pas utile de s'en prendre à cette catégorie pendant cette période.

# Vers la mise en évidence *in silico* de nouveaux composés anti-*Varroa* et de moindre toxicité vis-à-vis des abeilles : les inhibiteurs d'acétylcholinestérase

Marie-Pierre HALM, F. DULIN

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

## Marie-Pierre HALM

Pour rappel, « *in silico* » signifie par méthode informatique. En France, seules trois molécules anti-*Varroa* ont été homologuées mais depuis plusieurs années, on observe des phénomènes de résistance aux acaricides couramment utilisés, d'accumulation de résidus dans les produits dérivés de la ruche et de synergie mortelle avec les pesticides. Les apiculteurs sont donc relativement démunis à l'égard de *Varroa*, notamment en l'absence de perspectives positives. Il nous a donc semblé intéressant d'étudier l'activité acaricide des molécules existantes.

Il existe aujourd'hui un certain nombre de pesticides présentant des propriétés acaricides qui semblent peu toxiques pour l'abeille, répertoriés dans la base de données ToxDataBees. Les acaricides ont plusieurs modes d'action ; nous nous sommes intéressés principalement à ceux qui agissent sur le système nerveux des acariens, notamment par inhibition de la protéine d'acétylcholinestérase.

Pour comprendre leur action, nous avons besoin d'obtenir une structure 3D de l'acétylcholinestérase chez le *Varroa* et chez l'abeille, afin de déterminer si les interactions étaient différentes. Grâce à la technique d'homologie de séquences, nous avons construit le premier modèle 3D d'acétylcholinestérase de l'abeille, à partir du modèle de la drosophile. Nous avons ensuite étudié à l'aide d'une méthode de docking (assemblage) la manière dont les inhibiteurs d'acétylcholinestérase se placent sur la chaîne d'acides aminés AChE, entraînant ainsi une inhibition et par conséquent une forte toxicité.

Nos analyses ont également porté sur l'identification d'éléments structuraux importants favorisant une forte interaction. Le test réalisé sur trois pesticides montre que leur toxicité vis-à-vis de l'abeille est pratiquement identique. Pour obtenir des composants de moindre toxicité sur l'abeille, nous devons sélectionner des inhibiteurs d'acétylcholinestérase dotés d'une chaîne polaire longue en position méta.

Trois molécules identifiées comme acaricides et faiblement toxiques pour l'abeille ont ainsi pu être sélectionnées : phosalone, pyrimicarbe, formétanate. Ces produits présenteraient en outre l'avantage d'une moindre rémanence dans les produits de la ruche. Ces résultats ont été renforcés par une étude menée sur le puceron vert, qui révèle une résistance de l'espèce au pyrimicarbe, grâce à la présence d'une phénylalanine en position 386 de son acétylcholinestérase, que l'on retrouve également chez l'abeille. Cette région semble jouer un rôle fondamental dans l'activité catalytique de l'enzyme.

Ces travaux *in silico* ne nous ont toutefois pas permis d'obtenir d'indication sur l'efficacité réelle des produits sélectionnés sur *Varroa*. Nous avons donc mis en place une procédure expérimentale *in vivo* dont les résultats s'avèrent encourageants pour le formétanate et le pyrimicarbe. Une seconde approche par modélisation moléculaire a également été développée en collaboration avec l'université de Caen afin de procéder au séquençage d'acétylcholinestérase de *Varroa*. Les résultats de ce volet seront connus dans quelques semaines. Ils permettront de réaliser un screening *in silico* de la chimiothèque du CERMN (soit 14 000 molécules).

Ces travaux ont été menés en grande partie à l'aide de financements FEAGA. Ils ont donné lieu à une publication et ont permis de faire émerger le formétanate et le pyrimicarbe comme molécules efficaces dans la lutte contre *Varroa*, à toxicité moindre sur l'abeille. Toutefois, aucune donnée n'est encore disponible concernant les effets sublétaux sur l'abeille. La prochaine étape de nos travaux consistera donc à les analyser.

Les financements reçus nous ont en effet permis de jeter les bases d'une dynamique de recherche « apicole » au niveau de la région Basse-Normandie par la mise en place de collaborations avec d'autres chercheurs, mais également par l'intermédiaire d'une collaboration avec des apiculteurs. Nous souhaitons également appliquer la méthodologie que nous avons élaborée à d'autres cibles moléculaires et notamment aux récepteurs à l'octopamine et aux récepteurs nicotiniques.

## Échanges avec la salle

### **Bernard SAUBOT**

Vous avez mentionné une accumulation de résidus de fluvalinate et d'amitrazé dans les produits de la ruche : d'où tirez-vous une telle conclusion ? Nous étudions chaque année des milliers d'échantillons et nous n'avons jamais relevé le moindre problème de résidu.

### **Marie-Pierre HALM**

Mon propos portait sur les produits acaricides en général. Cela étant, nous avons recensé des données dans la littérature scientifique qui montrent l'apparition de résidus dans certains produits de la ruche, mais pas nécessairement en France.

### **Michaël ROUSSEL**

Quel pourrait être l'effet de la présence d'inhibiteurs d'acétylcholinestérase dans le miel sur la santé du consommateur et de l'apiculteur qui appliquera le traitement ?

### **Marie-Pierre HALM**

Nous n'avons pas encore ressorti réellement de molécules utilisées chez l'homme. Les molécules présentes dans la chimiothèque ne sont pas encore utilisées dans des médicaments. Nous avons isolé une quarantaine de molécules similaires au pyrimicarbe et au formétanate afin de les étudier de manière plus approfondie, mais nous n'avons même pas encore réalisé les essais sur l'abeille. Pour rappel toutefois, les acétylcholinestérases de *Varroa* et de l'abeille ne sont pas identiques à celles de l'homme. Les effets sur l'homme ne seront donc pas nécessairement importants.

### **Pierrick PETREQUIN**

Pensez-vous que les phénomènes de résistance apparaîtront rapidement avec les molécules que vous développez ? Ne serait-il pas intéressant d'associer plusieurs inhibiteurs afin de l'éviter ?

### **Marie-Pierre HALM**

Notre objectif est aussi de fournir un nombre de composés suffisants pour permettre d'appliquer des traitements par roulement, afin de limiter les phénomènes de résistance. C'est pour cette raison que nous travaillons sur d'autres récepteurs. En revanche, je ne suis pas certaine que nous soyons en mesure d'étudier les mutations au niveau du *Varroa*.

### **Christine VERNIER**

Je connais mal l'évaluation des effets non intentionnels des médicaments vétérinaires : il me semble qu'elle est peu développée. En termes d'évaluation des risques et des effets non intentionnels, appliquerez-vous pour votre médicament les mêmes critères d'évaluation que ceux utilisés pour l'évaluation des produits phytosanitaires ?

### **Marie-Pierre HALM**

Notre démarche consiste à fournir des premières pistes. Nous examinerons tout d'abord d'éventuels effets sublétaux sur l'abeille en laboratoire et au rucher. Dans un second temps, il conviendra de se rapprocher des industriels pour approfondir la démarche d'autorisation de mise sur le marché des molécules concernées dans ce cadre.

### **Un intervenant**

Le génome du *Varroa* est connu. Comment se fait-il que l'on ignore quel est le gène qui code cette protéine ?

### **Marie-Pierre HALM**

Une publication a bien commencé à séquencer le génome d'un *varroa* issu du Japon mais elle ne donne pas réellement les séquences correspondant à différents types de protéines. Il reste tout un travail important de bio-informatique à mener.

### **Un intervenant**

Avez-vous évalué les DL 50 (doses létales médianes) sur ces molécules dites « non toxiques » pour l'abeille ?

**Marie-Pierre HALM**

Nous sommes partis des DL50 sur abeilles qui existaient dans la littérature. Les tests ont ensuite été réalisés au laboratoire de Montpellier. Les résultats montrent que même lorsque cette DL abeille est divisée par 100, l'efficacité des molécules testées reste importante.

**Une intervenante**

D'après ce que vous indiquez, un changement d'acide aminé entraînerait de la résistance. L'apparition de *Varroa* résistant peut donc advenir rapidement.

**Marie-Pierre HALM**

Nos données mettent effectivement en lumière l'importance de la région que j'évoquais précédemment. Cela étant, nous n'avons pas trouvé d'autres données bibliographiques mais les mutations pourraient aussi intervenir en d'autres endroits.



# **La pollinisation des cultures à l'échelle nationale : comparaison besoins, disponibilités et valeur monétaire du service de pollinisation des cultures entomophiles pour l'agriculture française métropolitaine**

Fabrice ALLIER<sup>1</sup>, M. HARRUIS<sup>1,2</sup>, Bernard VAISSIERE<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ITSAP-Institut de l'abeille, UMT PrADE, Avignon

<sup>2</sup> INRA, Pollinisation et écologie des abeilles, UR406 Abeilles et Environnement & UMT PrADE, Avignon

## **Fabrice ALLIER**

La pollinisation reste un préambule indispensable à la reproduction sexuée des plantes à fleurs. Les insectes pollinisateurs jouent également un rôle essentiel dans la reproduction de nombreuses espèces cultivées et sauvages ainsi que dans l'amélioration des cultures en termes de rendements et de qualité.

Le déclin des abeilles sauvages et domestiques soulève la double question de l'évaluation des besoins de l'agriculture en insectes pollinisateurs et des colonies potentiellement disponibles pour répondre à ces besoins, ainsi que de l'évaluation de l'importance économique des pollinisateurs.

Notre travail a d'abord consisté à collecter des données sur les cultures entomophiles en France, au niveau national et régional entre 2000 et 2009 (surfaces, productions, prix producteurs, ratio de dépendance des cultures à la pollinisation et charge conseillée en colonie d'abeilles domestiques).

Pour estimer les surfaces et la composition des jardins potagers et vergers des particuliers, nous nous sommes appuyés sur six enquêtes différentes. Ce travail nous a permis de constituer une base de données qui nous a fourni toutes les informations requises et nous a permis d'évaluer les besoins de ces jardins en pollinisateurs pour chaque culture.

En France métropolitaine, on estime pour 2008 que la pollinisation de ces cultures nécessite au minimum la présence de 2 millions de colonies d'abeilles et en moyenne, de 5,2 millions de colonies d'abeilles. Par catégorie de culture, il ressort de l'étude que les oléoprotéagineux représentent 83 % des besoins, les 17 % restant rassemblant toutes les autres catégories de cultures. La pollinisation contractualisée concerne toutefois en majorité les fruits (50 % des besoins) et les semences fourragères.

L'évolution des surfaces de cultures entomophiles entre 2000 et 2009 montre une certaine stabilité des surfaces de légumes, tandis que la courbe des oléoprotéagineux apparaît beaucoup plus irrégulière. Le décrochage de la courbe des jardins potagers et de celle des jardins familiaux, constaté autour de 2004, s'explique essentiellement par le changement de la nomenclature européenne. Enfin, les courbes des semences potagères et des fruits à coque restent stables.

Il existe en revanche une forte demande au niveau des semences oléagineuses. Entre 2000 et 2009, on enregistre une perte de 25 000 hectares de cultures arboricoles, tandis que la courbe des oléagineux révèle une forte augmentation. Entre 2000 et 2009, les surfaces de cultures entomophiles s'accroissent de 14 %.

Nous nous sommes efforcés d'évaluer le nombre d'insectes pollinisateurs entre 2000 et 2009 en considérant que toutes les colonies recensées étaient potentiellement disponibles pour assurer la pollinisation des cultures. Nous arrivons à la conclusion que le nombre de colonies potentiellement disponibles (égal au cheptel apicole national) est égal à 1,34 million de colonies, tandis que les besoins en pollinisateurs domestiqués s'établissent en moyenne à 5,2 millions.

Il a donc semblé nécessaire de mieux préciser la demande et l'offre réelles, sachant que toutes les surfaces de cultures entomophiles n'accueillent pas de colonies d'abeilles domestiques, que la charge en colonies est à adapter en fonction de plusieurs facteurs, et qu'une colonie peut être utilisée pour différentes prestations dans l'année. En outre, toutes les colonies ne sont pas contractualisées en prestation de pollinisation.

La demande en pollinisateurs domestiqués s'élève donc à plusieurs milliers de colonies mais le chiffre exact n'est pas connu, tandis que l'offre contractualisée, dont le chiffre n'est pas connu non plus, diffère du cheptel apicole national. Pour préciser la demande et l'offre réelle, nous avons donc réalisé trois enquêtes multisites. Il en résulte notamment que pour certaines cultures, les agriculteurs ont tendance à faire appel à des bourdons, sans que l'intérêt économique de la démarche ne soit réellement démontré.

Pour mieux connaître les pratiques et mieux répondre aux besoins des multiplicateurs de semences, nous avons créé un outil informatique visant à mettre en relation agriculteurs et apiculteurs : [www.beewapi.com](http://www.beewapi.com).

## **Bernard VAISSIERE**

Le travail présenté précédemment sur les besoins et les disponibilités en insectes pollinisateurs domestiqués s'appuie sur l'évaluation charge en colonies par hectare. Un ouvrage publié en 2000 (*Crop Pollination by Bees*, K. Delaplane et D. Mayer) fournissait des préconisations en termes de charge en colonies par hectare pour le colza, mais il confondait deux espèces de colza, dont une est largement autofertile.

D'autres études réalisées sur la bonne espèce (*Brassica napus*) ont néanmoins permis de montrer l'effet positif de la présence d'insectes pollinisateurs, avec 2,15 colonies par hectare. Il s'agit de chiffres considérables.

La valeur monétaire du service de pollinisation des cultures entomophiles pour l'agriculture française représente 153 milliards d'euros à l'échelle mondiale, soit 1,8 milliard d'euros en 2005, d'après les données FAO, ou 2,8 milliards d'euros d'après les statistiques nationales. Mais ces chiffres recouvrent des situations très différentes : un même légume peut en effet être cultivé sous serre ou en plein champ et en fonction de cela, avoir besoin ou non des insectes pollinisateurs.

Si l'on tient compte de tous ces éléments, la valeur monétaire du service de pollinisation des cultures oléagineuses (semences) s'élève à 4,7 millions d'euros, à 13,3 millions d'euros pour les cultures légumières (semences) et à 500 millions d'euros pour les cultures des jardins.

L'évaluation monétaire a toutefois ses limites, liées notamment à la disponibilité et à la fiabilité variables des données de production ou de prix. En outre, le coefficient de dépendance reste largement inconnu pour la plupart des cultures, d'autant qu'il est très variable d'une variété à l'autre. Nous savons en outre que certains protocoles utilisés par le passé pour mesurer le coefficient de dépendance étaient déficients (utilisation de cages, d'un échantillon de fleurs plutôt qu'une plante entière, études sur une seule année en cultures pérennes). Enfin, nous avons utilisé un coefficient de dépendance agronomique et non économique. Il ne nous permet donc pas de mesurer la valeur économique de la production obtenue.

D'autres approches sont envisageables : par enquête sur les tarifs de location ou de vente des colonies de bourdons, sur les coûts de remplacement du service de pollinisation pour certaines cultures ou sur l'évaluation contingente (environnement).

Nous travaillons actuellement sur un projet d'évaluation au niveau européen de l'évolution des besoins et des disponibilités en insectes pollinisateurs entre 2005 et 2010. Il en ressort que la demande est considérable étant donné l'accroissement des surfaces de cultures oléagineuses. À l'inverse, le nombre de colonies disponibles par hectare de culture entomophile est très réduit et accuse en outre une baisse marquée. En France, 50 à 75 % des besoins étaient couverts en 2005, contre 25 à 49 % en 2010.

Il importe donc d'optimiser l'utilisation des colonies d'abeilles domestiques pour la pollinisation. Les agriculteurs devront ainsi introduire des colonies domestiques, en plus de la faune sauvage, d'autant que l'interaction entre abeilles domestiques et abeilles sauvages peut entraîner une multiplication par cinq de l'efficacité pollinisatrice des abeilles domestiques. Il importe de fonder la pollinisation des cultures entomophiles sur des pratiques culturales (colonies complémentaires) mais également sur le service écologique fourni par la faune sauvage.

## Échanges avec la salle

### **Gabriel CARRÉ**

Y a-t-il des corrections par rapport à la considération d'une colonie entre les pays ?

### **Bernard VAISSIERE**

À l'avenir, le travail d'analyse s'appuiera certainement sur un nombre de cadres d'abeilles par hectare mais pour l'heure, il est déjà difficile d'obtenir des données sur le nombre de colonies par pays. Les données ne sont donc pas corrigées par rapport à une taille de colonie éventuelle. Cet élément peut pourtant avoir un impact sur la pollinisation.

### **Thierry DUROSSELLE**

Avez-vous estimé l'activité de pollinisation des abeilles sauvages ?

### **Bernard VAISSIERE**

Non. Je n'essaie d'ailleurs plus de répondre à cette question : dès lors que l'on démontre l'existence d'interactions importantes entre abeilles domestiques et abeilles sauvages, il ne paraît plus utile de caractériser l'activité des unes ou des autres. Le fait est que les deux interviennent en plein champ et que l'interaction des deux permet de maximiser la pollinisation, par des mécanismes qui, du reste, ne sont pas encore bien identifiés.

L'abeille domestique présente un comportement de butinage optimal tandis que les abeilles sauvages viennent les distraire dans leur butinage, ce qui les conduit à aller davantage vers des fleurs distantes ou des variétés différentes et accroît l'efficacité de la pollinisation. Nous n'avons donc pas d'élément mais plusieurs publications ont démontré que la présence d'abeilles sauvages entraîne une amélioration de la pollinisation, qu'il y ait ou non des abeilles domestiques. On ignore les causes de cet état de fait.

### **Monique GAUTHIER**

Le nombre d'abeilles étant insuffisant, un apiculteur peut-il louer ses ruches plusieurs fois dans l'année ? Avez-vous des recommandations à formuler à cet égard ?

### **Fabrice ALLIER**

Les apiculteurs peuvent effectivement enchaîner deux, trois voire cinq pollinisations de mars à juillet. Cela étant, les apiculteurs sont plus à même d'évaluer l'impact de cette pratique sur la santé des abeilles. Les enquêtes réalisées auprès des apiculteurs révèlent qu'un tiers d'entre eux constate un affaiblissement de leurs colonies en pollinisation de colza ou de tournesol, à cause de pratiques agricoles (traitements phytosanitaires), de la ressource autour de la parcelle ciblée par la pollinisation ou pour des raisons inconnues. Pour un tiers de ces derniers, cet affaiblissement serait lié à la pollinisation.

### **Bernard VAISSIERE**

Sous abri, l'impact est réel. Il se traduit par une perte de population et de poids moyen. La colonie ne sort pas indemne d'une pollinisation sous abri. La plupart des apiculteurs prennent plusieurs chantiers dans l'année. La plupart des publications que j'ai mentionnées considèrent que les colonies peuvent être utilisées deux fois dans l'année.

### **Alban MAISSONNASSE**

Vous affirmez que 5 millions de colonies sont nécessaires pour assurer un service de pollinisation correct. Peut-on considérer que le rendement en France est plus faible dans toute l'agriculture ?

### **Bernard VAISSIERE**

Je n'ai pas dit cela. Le fait est que nous n'avons pas les moyens d'évaluer aujourd'hui le nombre de colonies nécessaires par hectare, en France comme à l'étranger. Or il s'agit d'une variable clé, notamment pour les contrats entre agriculteurs et apiculteurs. À cet égard, les recommandations de l'ouvrage que je citais en début d'intervention ne sont pas fiables car elles se fondent uniquement sur des déclarations relatives au nombre de colonies utilisées pour polliniser un espace donné.

Par ailleurs, plusieurs études ont établi que la relation entre la densité d'insectes pollinisateurs et le niveau de pollinisation n'est pas linéaire. Elles montrent que le déclin du nombre de pollinisateurs n'a pas entraîné de réduction du niveau de pollinisation.

**Jean-Albert FOUGEREUX**

Quel rôle des insectes autres que les abeilles sauvages ou domestiques sont-ils susceptibles de jouer dans la pollinisation ?

**Bernard VAISSIERE**

Les alliacés et les ombellifères sont largement utilisés sous abri avec succès. En revanche, je ne connais pas de cas pour la pollinisation en plein champ. Cela étant, les diptères restent des insectes pollinisateurs efficaces. Les équipes du centre sur les ressources génétiques en Allemagne ont découvert que les syrphes et les osmies étaient les espèces qui assuraient la meilleure diffusion du pollen et de gènes pour le maintien de la biodiversité de leurs lignées. Le problème porte toutefois sur le maintien de leur population.

**Un intervenant**

Le besoin en colonies dépend aussi probablement de la présence naturelle de pollinisateurs sauvages, quels qu'ils soient.

**Bernard VAISSIERE**

Certes. La situation est claire du point de vue écologique. On sait qu'il existe vraisemblablement un nombre optimum de colonies pour une surface et une culture données. Mais nous ne le connaissons dans aucun cas, ce qui pose un véritable problème. Il est généralement admis que la pollinisation des cultures entomophiles constitue bien un facteur de production mais personne n'est capable d'indiquer avec certitude le nombre de colonies nécessaires.

# **FlorApis : la science participative pour mieux connaître les relations entre abeilles domestiques et flore sauvage**

**Clémentine COIFFAIT-GOMBAULT, N. MORISON, Bernard VAISSIERE**

INRA, Pollinisation et écologie des abeilles, UR406 Abeilles et Environnement, Avignon

## **Bernard VAISSIERE**

En 2006, le CNDA m'avait demandé de développer un argumentaire scientifique en faveur d'une mesure agro-environnementale agricole. J'ai réalisé ce travail sur la base des données disponibles à l'époque. Il est devenu par la suite l'élément de référence pour la MAE 214H « *Amélioration du potentiel pollinisateur des abeilles domestiques pour la préservation de la biodiversité* ».

Cette mesure agro-environnementale assurait une subvention de 17 euros par colonie. Dès 2007, 106 dossiers avaient été déposés pour un total de 24 000 colonies ; en 2008, 21 dossiers supplémentaires ont été déposés. Au total, toutes les régions ont participé à ce projet qui a permis aux apiculteurs de percevoir un montant total de 15 millions d'euros avec un montant moyen par bénéficiaire de 20 000 euros.

Nous sommes toutefois les seuls en Europe à mettre en œuvre une telle mesure agro-environnementale, les pays du Nord interdisant par exemple la présence d'abeilles domestiques dans les zones protégées.

Quel argumentaire nous permet de démontrer l'importance de l'activité pollinisatrice des abeilles domestiques pour la flore, c'est-à-dire quelle est l'importance écologique des abeilles domestiques ? Dans aucun pays, nous n'avons de données sur ce sujet. En revanche, plusieurs publications scientifiques affirment que les abeilles domestiques n'ont aucune importance écologique.

En 2007, j'ai donc soumis un projet de recherche au programme FEAGA intitulé « Abeilles domestiques, pollinisation et biodiversité végétale ». Dans le cadre de ce programme, nous avons travaillé sur une espèce de cucurbitacée afin de vérifier si l'abeille domestique interférait effectivement avec la pollinisation d'une espèce sauvage.

Il en résultait qu'aucun des groupes d'abeilles domestiques et d'abeilles sauvages étudiés ne présentait de différence significative. En outre, l'efficacité pollinisatrice des abeilles sauvages restait similaire, en présence d'abeilles domestiques ou non. Nous avons également montré que l'efficacité de fécondation du pollen déposé sur les stigmates était semblable pour les différents groupes de pollinisateurs.

Ces résultats sont-ils généralisables ? Un certain nombre d'ouvrages existent sur la flore mellifère mais nous n'avons aucune donnée sur le niveau d'interaction entre une colonie d'abeilles domestiques et la flore sauvage. Nous avons donc créé une base de données interactive sur Internet, [www.florapis.org](http://www.florapis.org), afin de recueillir des données de botanistes apiculteurs et de donner des indications précises sur la flore butinée par les abeilles domestiques.

## **Clémentine COIFFAIT-GOMBAULT**

Florapis vise à documenter les interactions de l'abeille domestique avec la flore sauvage française métropolitaine et dans un second temps, à mesurer l'importance de cette activité pollinisatrice, notamment pour les espèces patrimoniales protégées ou rares.

Florapis est une base de données bibliographique et photographique. Les données bibliographiques sont issues de publications scientifiques et fournissent les informations suivantes :

- noms de l'espèce végétale ;
- pays de l'étude ;
- description de la plante visitée : taille, couleur de la fleur, type biologique, statut de protection, indigénat ;
- description de l'observation : nombre d'unités florales, nombre d'abeilles, type d'habitat, type de butin récolté.

Les données photographiques ont nécessité la mise en place d'un protocole standardisé permettant d'identifier le couple plante/abeille domestique ainsi que l'habitat de la plante et une série de caractéristiques. Les informations fournies seront les suivantes :

Nom de l'espèce végétale (si connue, confirmée par expert)

- Observation :
  - date, localisation, habitat
  - nombre d'unités florales,
  - nombre d'abeilles domestiques
  - type de butin récolté
- Description de la plante visitée
  - taille
  - couleur de la fleur
  - type biologique
  - statut de protection
  - indigénat

Le site a été lancé le 1<sup>er</sup> juin 2012. Une communication importante a été développée autour de ce projet de recherche participative. Nous avons également établi un partenariat avec le réseau Tela Botanica.

À ce jour, le nombre de données bibliographiques est encore limité mais celles-ci répertorient toutefois déjà 126 espèces visitées par *Apis mellifera*. Ces données bibliographiques revêtent une grande importance car elles permettront de justifier l'activité pollinisatrice de l'abeille. Les données photographiques comptent 427 séries publiées. Elles représentent 303 espèces différentes, dont 15 espèces protégées.

Les résultats préliminaires que nous avons obtenus grâce à ces données nous permettront de mesurer l'activité pollinisatrice des abeilles vis-à-vis de la biodiversité végétale française. Nous serons ainsi en mesure de démontrer l'importance de la place de l'abeille domestique dans les écosystèmes naturels. Nous devons toutefois acquérir de nombreuses données sur tout le territoire pour pouvoir généraliser ces observations et dresser des statistiques rigoureuses. Nous espérons atteindre le chiffre de mille espèces végétales visitées par *Apis mellifera* d'ici la fin du projet en août 2013. Nous sommes aujourd'hui à la recherche de nouveaux financements pour pouvoir pérenniser le projet au-delà de cette date et nous entendons ensuite l'élargir aux territoires d'outre-mer.

## Échanges avec la salle

### Pierrick AUPINEL

Dans notre propre base de données INRA, nous avons recensé 420 espèces végétales et pour chacune d'entre elles, nous avons noté, par observation directe ou à partir d'une source bibliographique, la réputation des plantes en termes de fréquentation d'abeilles. Vous pouvez ainsi alimenter automatiquement votre propre base de données.

### Bernard VAISSIERE

Nous l'avons examinée mais les espèces botaniques ne peuvent pas être validées sur la base des photographies disponibles. Nous rejetons en effet de nombreuses séries photographiques qui nous sont soumises car elles ne permettent pas de descendre jusqu'à l'espèce.

### Pierrick AUPINEL

Cela me paraît étonnant car nous avons généralement validé les espèces végétales mentionnées.

### Clémentine COIFFAIT-GOMBAULT

Chaque série présentée par les amateurs qui alimentent la base est validée par un expert de manière à ce qu'aucune espèce ne puisse être confondue avec une autre. L'expert demandera par exemple des clichés spécifiques des traits de caractère distinctifs de chaque espèce. Nous avons inséré dans la base de données une page de commentaires échangés entre experts et photographes permettant de valider les espèces de manière incontestable.

### Bernard LAMIDEL

Votre étude porte-t-elle uniquement sur les nectaires floraux ou est-elle également étendue aux nectaires extra-floraux ?

**Clémentine COIFFAIT-GOMBAULT**

Dans une série photographique, la plante doit être visitée, c'est-à-dire que l'abeille doit être posée dessus mais elle peut être posée n'importe où sur la plante. En effet, nous comptabilisons l'interaction même lorsque l'abeille récolte du miellat.

**Bernard LAMIDEL**

L'interaction ne va pas de soi. Certaines espèces sont visitées en tant que graine et non en tant que fleur.

**Clémentine COIFFAIT-GOMBAULT**

Notre étude est essentiellement prospective. Les données recueillies nous permettront par la suite d'engager des recherches plus approfondies. Nous chercherons ainsi à savoir pourquoi l'abeille a visité une plante donnée et à identifier les bénéfices que toutes deux en retirent.

## **Conclusion**

### **Éric THYBAUD, Président du Conseil scientifique de l'ITSAP-Institut de l'abeille, INERIS**

Je remercie le personnel de l'ITSAP-Institut de l'abeille qui a organisé ces deux journées ainsi que les participants. Cette formule permettant un temps d'échange entre les chercheurs et les apiculteurs présente un intérêt certain. J'espère que nous aurons la possibilité d'organiser une nouvelle édition l'année prochaine, dans un format similaire.

Comme je l'indiquais, il est important en effet que la richesse du programme FEAGA puisse être passée dans la communauté. Par ailleurs, des programmes en cours ont besoin d'être discutés et de faire l'objet d'échanges.

Une synthèse sera réalisée par l'institut et diffusée la prochainement. Je vous remercie pour votre participation et vous souhaite à tous une bonne continuation dans vos activités.





**149 rue de Bercy – 75595 PARIS CEDEX 12**

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

**[www.itsap.asso.fr](http://www.itsap.asso.fr)**

