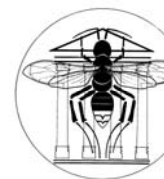




gembloux
faculté universitaire
des sciences agronomiques



Rapport relatif à la subvention intitulée :
« Evaluation des facteurs de risque liés au
dépérissement des abeilles en Wallonie et leur
implication sur les bonnes pratiques agricoles »
- Reconduction -
DGA/D31-1139/S1

12 septembre 2008

L'abeille domestique « *Apis mellifera* »



Qui est-elle?

Animal domestique

Animal vivant en société

Où vit-elle?

Environnement de plus en plus anthropisé

Que fait-elle?

Pollinisation

Apiculture



Plan de l'exposé

- Contexte général de l'étude
- Première convention
 - 2004-2005
 - 2005-2006
- Seconde convention
 - 2006-2007
 - 2007-2008
- Discussions
- Conclusions



Contexte général de l'étude





Contexte général de l'étude

- Dépérissement des abeilles en Europe
- Certains ruchers sont complètement décimés
- Forte médiatisation et focalisation sur les pesticides

Origines du dépérissement ?

- Etude financée par la Région wallonne et ayant pour objectif de déterminer les causes probables du dépérissement des abeilles



Genèse du phénomène de surmortalité

- **En France** - A partir de **1997**: affaiblissement et mortalité inhabituelle des colonies d'abeilles domestiques (Tardieu, 1998; Cougard, 1999; Bernard, 2000; Maus *et al.*, 2003)
- **En Belgique** – Depuis **1999**: les apiculteurs et leurs associations ont mis en avant un problème de dépérissement des colonies d'abeilles domestiques (Toussaint, 2003; Lamotte, 2004)

En France en 1997



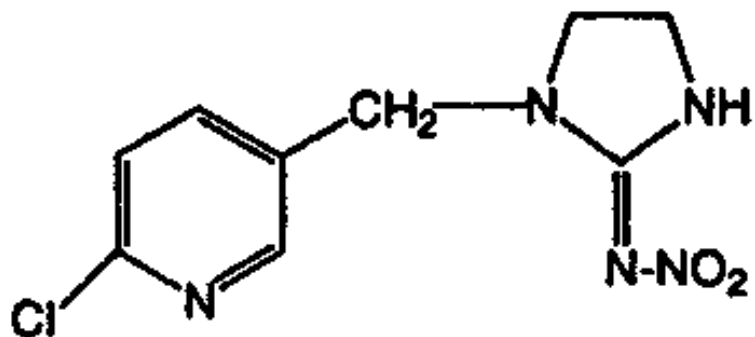
La mort des abeilles



Le Gaucho – Le Régent

Les insecticides... suspects numéro 1 !

IMIDACLOPRID (Gaucho[®], Provado[®])



**1-(6-chloro-3-pyridin-3-ylmethyl)-N-nitro=
imidazolidin-2-ylidenamine**

Imidacloprid

Insecticide systémique produit et commercialisé par la société BAYER ® dans 140 pays, pour la protection de 70 cultures différentes



SESSION 2003-2004

COMPTE RENDU ANALYTIQUE

Séance publique de Commission *

Commission de l'Environnement, des Ressources naturelles,
de l'Agriculture et de la Ruralité

Jeudi 18 mars 2004

En Wallonie ...

Les Membres de la Commission ont bûtiné les informations en la matière, demandé le concours de différents acteurs et procédé à une large consultation.

Nous avons tiré au moins quatre enseignements majeurs :

- il est manifeste qu'il existe, à l'échelle internationale, un problème de dépérissement des abeilles ;
- un ensemble de causes peuvent expliquer ce phénomène ;
- il faut mener des investigations précises et des études complémentaires afin d'apporter une solution globale ;
- les témoignages scientifiques ne permettent pas d'incriminer ou d'exempter l'un ou l'autre de ces produits.

Dès lors, en l'état des connaissances scientifiques actuelles, le rôle de la Commission était de mener un débat dépassionné, ouvert et objectif afin d'éviter le radicalisme ou le simplisme, sous peine de passer à côté des véritables causes ou de provoquer un préjudice plus important au secteur.



Résumé des résultats de la première convention

2004-2005

2005-2006





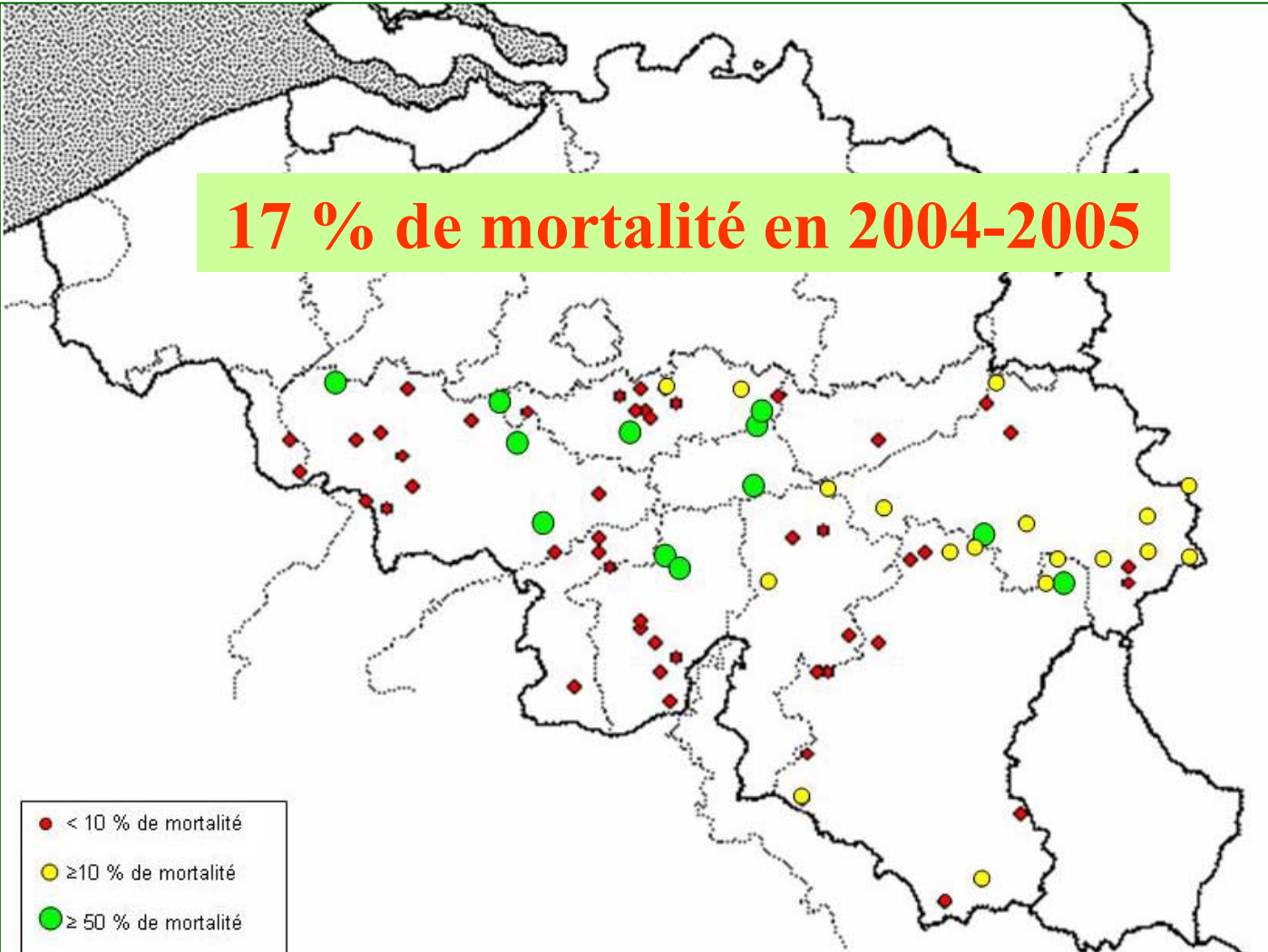
2004-2005

Approche exploratoire

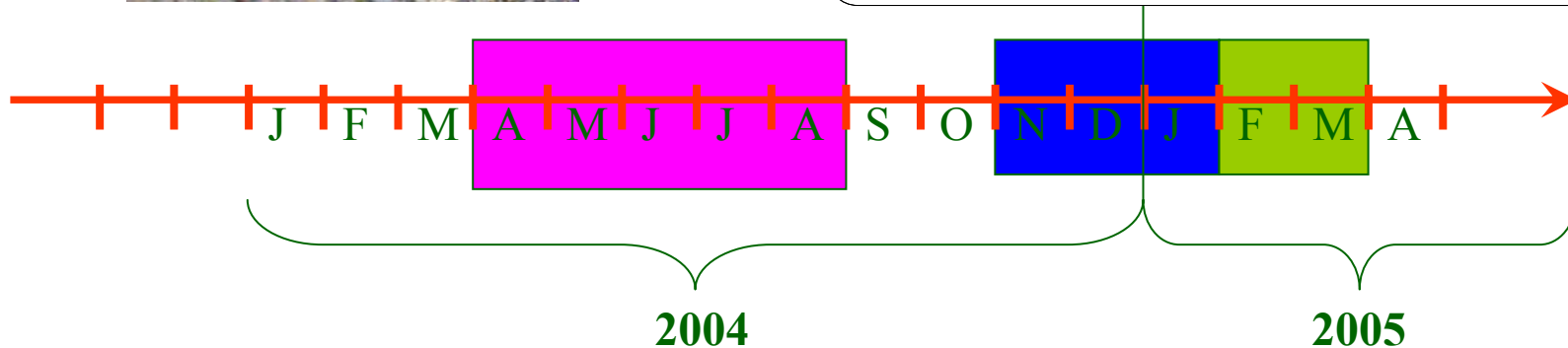
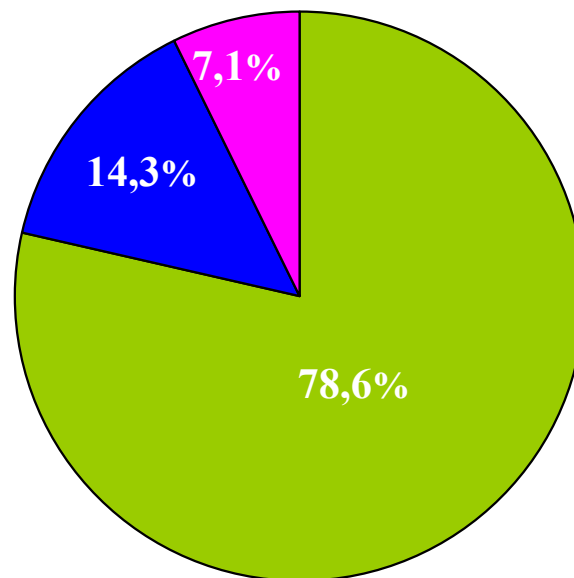
- Etude bibliographique:
 - Causes possibles de dépérissement
 - Situation au niveau mondial
- Evaluation du phénomène de surmortalité en Belgique
- Mise en place d'un suivi de 20 mois dans différents ruchers



17 % de mortalité en 2004-2005

- 
- < 10 % de mortalité
 - ≥ 10 % de mortalité
 - ≥ 50 % de mortalité

**La mortalité est
hivernale dans
93% des cas**





Pathologies observées

Tous les types de pathologies et de parasitoses

(bactéries, virus, protozoaires, acariens, champignons et insectes)

- La varroase (*Varroa destructor*)
- La loque américaine (*Paenibacillus larvae*)
- La nosémose (*Nosema apis*)
- Des virus (SBV, DWV, BQCV)
- La loque européenne (*Melissococcus pluton*)
- L'ascosphérose (*Ascosphaera apis*)
- L'aspergillose (*Aspergillus flavus*)
- La grande fausse-teigne (*Galleria mellonella*)
- La petite fausse-teigne (*Achroia grisella*)
- Le pou des abeilles (*Braulta coeca*)
- D'autres acariens (*Tyrophagus sp.*, *Trombidium sp.*)
- Des moisissures



Approche symptomatologique

- 19 ruchers comptant plus de 10% de mortalité ont été suivis
- 16 symptômes
- Un test χ^2 d'indépendance a été réalisé afin d'évaluer l'existence d'association préférentielle de symptômes (120 combinaisons analysées)

	Facteur1	Facteur2	Facteur3	Facteur4	Facteur5	Facteur6	Facteur7	Facteur8	Facteur9	Facteur10	Facteur11	Facteur12	Facteur13	Facteur14	Facteur15	Facteur16
Facteur1		0,1099845	0,03470315	0,03272708	-	0,12621419	0,82747201	-	0,04663987	0,12621419	0,59573184	0,32971931	-	0,01282497	0,44007821	0,32971931
Facteur2			0,56965274	0,90556517	-	0,75004203	0,82747201	-	0,04663987	0,12621419	0,59573184	0,32971931	-	0,9463753	0,44007821	0,32971931
Facteur3				0,07335745	-	0,94320871	0,56965274	-	0,01765936	0,94320871	0,65640773	0,41376069	-	0,0015868	0,51737765	0,41376069
Facteur4					-	0,40518736	0,21288966	-	0,32971931	0,03292423	0,27881876	0,07335745	-	0,15333765	0,15608372	0,07335745
Facteur5						-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Facteur6							0,12621419		0,48518818	0,94100844	0,48518818	0,15422033		0,63608228	0,55351607	0,15422033
Facteur7																0,32971931
Facteur8																-
Facteur9																0,65640773
Facteur10																0,19971931
Facteur11												0,65640773	-	0,53922172	0,72454123	0,65640773
Facteur12													-	0,25933182	0,16071093	1,3071093
Facteur13														-	-	-
Facteur14															0,37159634	0,16071093
Facteur15																0,16071093
Facteur16																

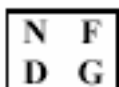
10 combinaisons présentent un lien significatif

	Facteur1	Facteur2	Facteur3	Facteur4	Facteur5	Facteur6	Facteur7	Facteur8	Facteur9	Facteur10	Facteur11	Facteur12	Facteur13	Facteur14	Facteur15	Facteur16
Facteur1		0,109984	0,03470315	0,03272708	-	0,12621419	0,82747201	-	0,04663987	0,12621419	0,59573184	0,32971931	-	0,01282497	0,44007821	0,32971931
Facteur2			0,56065374	0,90556517	-	0,75004203	0,82747201	-	0,04663987	0,12621419	0,59573184	0,32971931	-	0,9463753	0,44007821	0,32971931
Facteur3				0,07335745	-	0,94320871	0,56965274	-	0,01765936	0,04320871	0,65640773	0,41376069	-	0,0015868	0,51737765	0,41376069
Facteur4					-	0,40518736	0,21288966	-	0,32971931	0,03292423	0,27881876	0,07335745	-	0,15333765	0,15608372	0,07335745
Facteur5						-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Facteur6							0,12621419	-	0,48518818	0,91100844	0,48518818	0,15422933	-	0,63698228	0,55351607	0,15422933
Facteur7								-	0,04663987	0,37237416	0,59573184	0,32971931	-	0,9463753	0,44007821	0,32971931
Facteur8									-	-	-	-	-	-	-	-
Facteur9										0,48518818	0,80865537	0,65640773	-	0,0855829	0,72454123	0,65640773
Facteur10											0,13045881	0,19974606	-	0,63698228	0,30976601	0,19974606
Facteur11												0,65640773	-	0,53922172	0,72454123	0,65640773
Facteur12													-	0,25933182	0,1607093	1,30722172
Facteur13														-	-	-
Facteur14															0,37159634	0,1607093
Facteur15																0,1607093
Facteur16																

Abeilles tremblantes et Abeilles dépourvues de poils

Abeilles déformées et couvain en mosaïque

Absence de nourriture et abeilles dans les cellules



Notes fauniques de Gembloux 2006 **59** (1), 3-21

Le dépérissement de l'abeille domestique, *Apis mellifera* L., 1758 (Hymenoptera : Apidae) : faits et causes probables

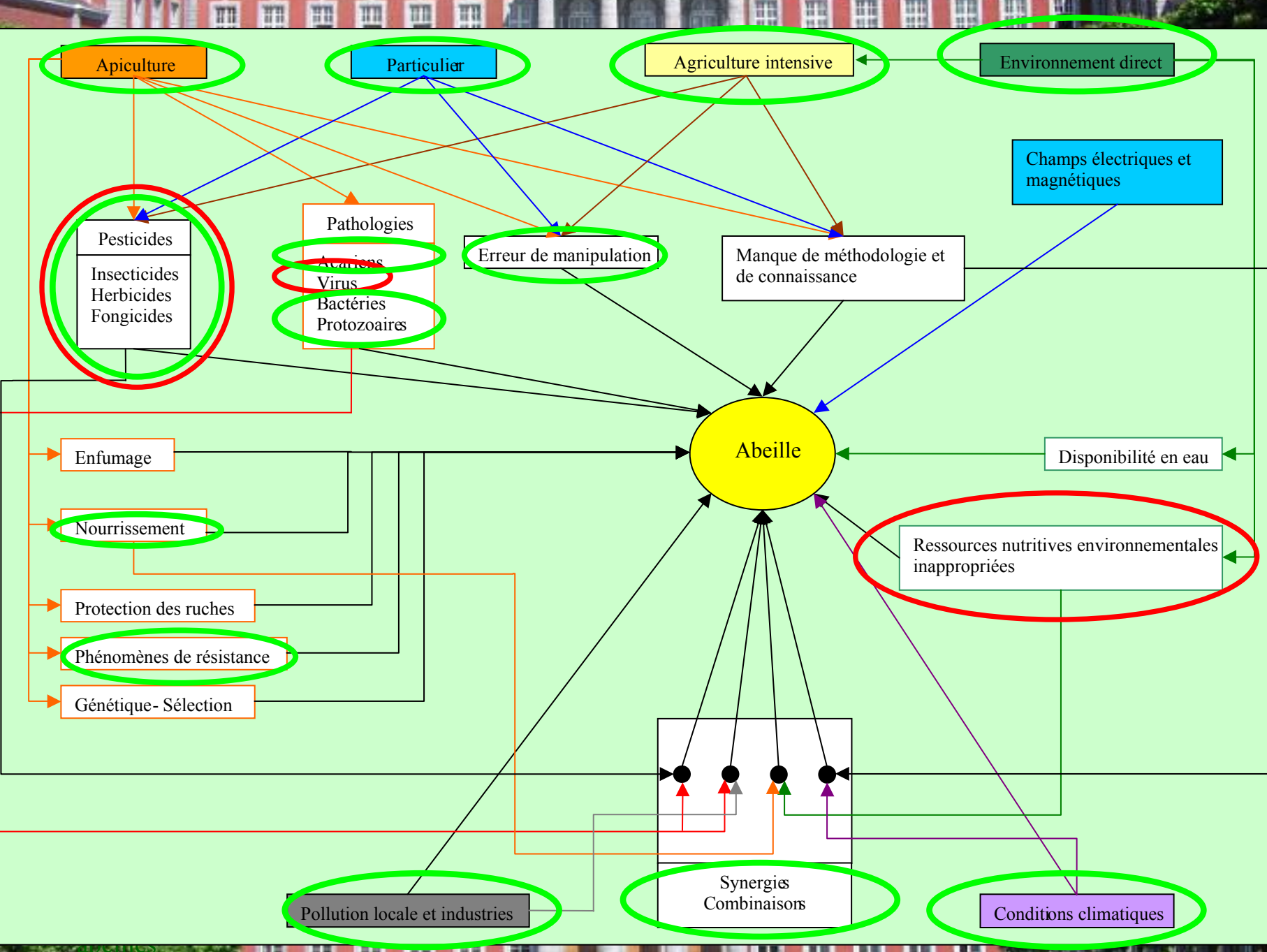
Eric Haubruge⁽¹⁾, Bach Kim Nguyen⁽¹⁾, Joëlle Widart⁽²⁾, Jean-Pierre Thomé⁽³⁾, Pascal Fickers⁽¹⁾ & Edwin Depauw⁽²⁾

⁽¹⁾ Faculté universitaire des Sciences agronomiques de Gembloux, Unité d'Entomologie fonctionnelle et évolutive. Passage des Déportés 2, B-5030 Gembloux (Belgique). E-mail : haubruge.e@fsagx.ac.be

⁽²⁾ Université de Liège, LSM – Laboratoire de spectrométrie de masse ; CART – Centre d'analyse de résidus en trace. Allée de la Chimie 3, B-4000 Liège (Belgique).

⁽³⁾ Université de Liège, LEAE – Laboratoire d'Ecologie animale et d'Ecotoxicologie ; CART – Centre d'analyse de résidus en trace. Allée de la chimie 3, B-4000 Liège (Belgique).

Reçu le 2 février 2006, accepté le 28 février 2006.





Résumé des résultats de la première convention

2004-2005

2005-2006



Etude monofactorielle

Environnement

- 16 sites
- Observations de terrain
- Relevé de données cartographiques

Pesticides

- 16 sites
- Collectes d'échantillons
- Analyses de laboratoire (HPLC-MS/MS, GC-MS/MS)

Maladies

- 84 sites
- Observations de terrain
- Analyses de laboratoire (analyses microscopiques, microbiologiques et moléculaires)

Les données sur l'environnement, les pesticides et les maladies sont traitées séparément



Analyse de la corrélation entre les taux de mortalité de colonies d'abeilles domestiques et l'environnement végétal de type agricole



Aucune corrélation entre le **nombre de parcelles agricoles cultivées** et le **taux de mortalité** des colonies d'abeilles domestiques.
(Fobs = 1,37 ; p = 0,26).

Aucune corrélation entre la **surface agricole totale** et le **taux de mortalité** des colonies d'abeilles domestiques.
(Fobs = 1,11 ; p = 0,31).

Aucune corrélation entre la surface de maïs, de colza ou de prairie et le taux de mortalité des colonies d'abeilles domestiques



Analyse de régression			
	Fobs	P-value	R ²
Maïs 2004	3,328	0,09	0,192
Colza 2004	0,609	0,448	0,042
Prairie 2004	0,197	0,664	0,014

Pesticides présents dans les ruches

	Technique	miel	abeilles	cire	TOTAL
Nombre total d'analyses	LC-MS/MS	109	99	98	306
d'échantillons réels	GC-MS/MS	89	105	95	289
		198	204	193	595

Méthodes d'analyse :

Séparation par chromatographie en phase gazeuse (GC) et liquide (HPLC) couplée à une séparation sur spectromètre de masse en tandem (MS – MS)

3 matrices: miel, abeilles, cire.

56 molécules peuvent être recherchées et détectées.

Pesticides dans la matrice MIEL

Pesticide	Technique de détection	Nombre total d'analyses	Nombre d'échantillons de MIEL positifs	%	Concentration	
					min	max
A70 Rotenone	LC-MSMS	109	22	20,2%	0,05ppb < x < 0,5ppb	> 2ppb
A52 Coumaphos	GC-MSMS	89	11	12,4%	124ppb	> 400ppb
A24 Flusilazole	LC-MSMS	109	8	7,3%	0,005ppb < x < 0,05ppb	0,005ppb < x < 0,05ppb
A35 Methiocarb sulfoxide	LC-MSMS	109	8	7,3%	0,5 < x < 5ppb	0,5 < x < 5ppb
A73 Trifloxystrobin	LC-MSMS	109	6	5,5%	0,05ppb < x < 0,5ppb	0,05ppb < x < 0,5ppb
A26 Imidacloprid	LC-MSMS	109	5	4,6%	0,05ppb < x < 0,5ppb	0,05ppb < x < 0,5ppb
A77 Bromopropylate	GC-MSMS	89	2	2,2%	5ppb < x < 50ppb	5ppb < x < 50ppb
A08 Bitertanol	LC-MSMS	109	1	0,9%	0,12 ppb	0,12ppb
A10 Carbofuran	LC-MSMS	109	1	0,9%	> 0,6ppb	> 0,6ppb
A37 Pirimicarb	LC-MSMS	109	1	0,9%	0,04ppb < x < 0,1ppb	0,04ppb < x < 0,1ppb
A46 Vinclozolin	GC-MSMS	89	1	1,1%	> 40ppb	> 40ppb

Pesticides dans les matrices ABEILLES et CIRE

		Abeilles			Cire		
Pesticides	Technique de détection	Nombre total d'analyses	Nombre d'échantillons positifs	%	Nombre total d'analyses	Nombre d'échantillons positifs	%
77 Bromopropylate	GC-MSMS	105	0	0,0%	95	28	29,5
52 Coumaphos	GC-MSMS	105	1	1,0%	95	27	28,4
24 Flusilazole	LC-MSMS	99	0	0,0%	98	26	26,5
70 Rotenone	LC-MSMS	99	0	0,0%	98	17	17,3
37 Pirimicarb	LC-MSMS	99	0	0,0%	98	10	10,2
73 Trifloxystrobin	LC-MSMS	99	0	0,0%	98	10	10,2
25 Tau-Fluvalinate	GC-MSMS	105	0	0,0%	95	9	9,5
08 Bitertanol	LC-MSMS	99	0	0,0%	98	4	4,1
18 Difenoconazole	LC-MSMS	99	0	0,0%	98	4	4,1
04 Atrazine	LC-MSMS	99	0	0,0%	98	3	3,1
36 Lindane	GC-MSMS	105	1	1,0%	95	2	2,1
46 Vinclozolin	GC-MSMS	105	0	0,0%	95	2	2,1
33 Terbutylazine	LC-MSMS	99	0	0,0%	98	1	1,0
72 Terbutylazine - hydroxy	LC-MSMS	99	0	0,0%	98	1	1,0
31 Chlorpyrifos	GC-MSMS	105	0	0,0%	95	1	1,1

Quelles sont les matières actives utilisées contre le varroa ?

Matière active	Produit commercial	Famille	Type	Période de traitement	Présentation
Amitraze	Apivar	Triazapentadiène	Longue durée	6 – 8 semaines	Ruban
Coumaphos	Périzin	Organophosphorés	Ponctuel sans couvain	2 fois une semaine	Liquide ou ruban
Fluvalinate	Apistan	Pyréthrinoïdes synthétiques	Longue durée	42 jours	Ruban
Roténone	/	Extrait de plante tropicales	Ponctuel	/	Poudre
Thymol	Apiguard	Huile essentielle	Longue durée	2 fois 2 semaines	Gel
Thymol, menthol, eucalyptol, camphre	Api life var	Huiles essentielles	Longue durée	2 fois 3 à 4 semaines	Vermiculite
Acide oxalique	/	Acide organique	Ponctuel	/	Par égouttement, sublimation ou aspersion
Acide formique	/	Acide organique	Longue durée	1 à 4 semaines	Diffuseur

Pesticides dans les ruches

79% des colonies contenaient au moins un pesticide.

18 pesticides ont été détectés dans les 16 ruchers suivis



*L'imidacloprid a été détecté dans deux ruchers mais **aucune mortalité** de colonies d'abeilles domestiques n'a été observée sur ces sites.*

Relation entre la surmortalité des abeilles et la présence de pesticides dans les ruches?



	Analyse de régression		
	Fobs	P-value	R ²
Pesticides	0,252	0,623	0,018
Insecticides	0,000	0,996	0,000
Acaricides	5,940	0,029	0,298
Fongicides	0,274	0,609	0,019
Herbicides	0,737	0,405	0,050
Molluscicides	1,778	0,204	0,113

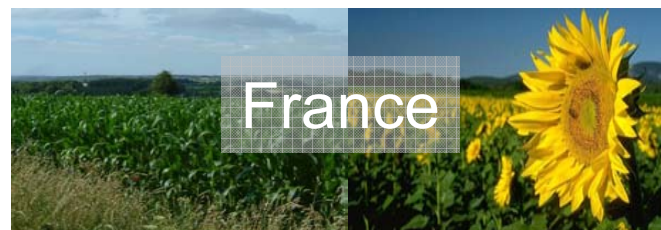
Le nombre d'acaricides détectés dans les ruchers est un des facteurs de risque à prendre en considération dans la surmortalité des colonies d'abeilles domestiques en Wallonie.



Traitements de semences et insecticides systémiques

- La situation française (maïs et tournesol)
- La situation en Belgique (maïs, betterave, escourgeon)

Cultures	Pays	
	Belgique	France
Tournesol	ND	644.000 ha
Maïs	54.454 ha	1.633.000 ha
Betterave	85.185 ha	379.000 ha
Escourgeon	39.982 ha	1.610.000 ha



Y a-t-il une relation entre la surmortalité des abeilles et la présence de plants de maïs traités à l'imidacloprid?



Surface totale de culture :
2327,31 ha (1112 parcelles)



Surface totale de maïs :
426,81 ha (219 parcelles)



Surface totale de maïs traité :
4,54 ha (4 parcelles)



Surface totale de culture :
2421,3 ha (818 parcelles)



Surface totale de maïs :
108,92 ha (54 parcelles)



Surface totale de maïs traité :
23,25 ha (13 parcelles)

0% de mortalité

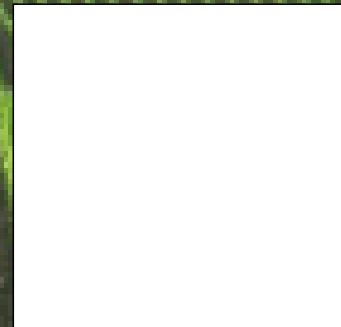
Y a-t-il une relation entre la surmortalité des abeilles et la présence de plants de maïs traités à l'imidacloprid?



Surface totale de culture :
2418,59 ha (839 parcelles)



Surface totale de maïs :
112,78 ha (47 parcelles),



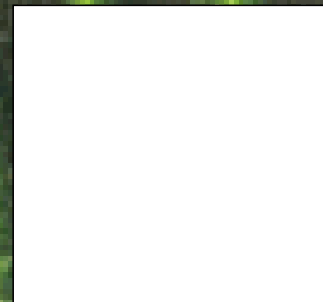
Surface totale de maïs traité :
0 ha (0 parcelles)



Surface totale de culture :
1463,42 ha (536 parcelles)



Surface totale de maïs :
151,52 ha (87 parcelles)



Surface totale de maïs traité :
0 ha (0 parcelles)

Déperdition des
abeilles

>49% de mortalité



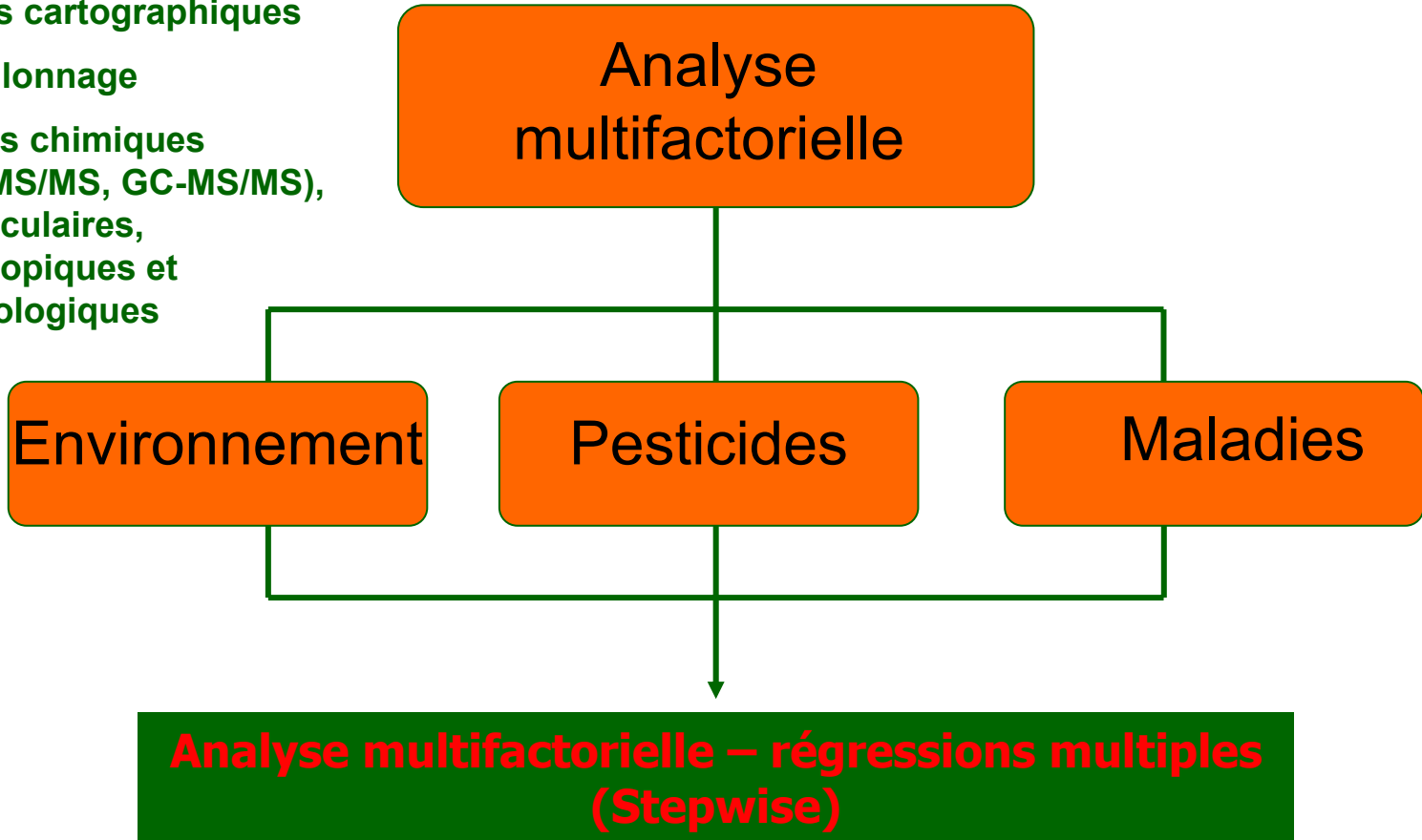
31 sites

Observations sur le terrain

Données cartographiques

Echantillonnage

Analyses chimiques
(HPLC-MS/MS, GC-MS/MS),
biomoléculaires,
microscopiques et
microbiologiques





Analyses multifactorielles

- Tous les facteurs étudiés de façon monofactorielle sont inclus dans une **analyse multifactorielle en régression multiple** de type « Stepwise » (Minitab 13.20).
- Ce type d'analyse, exploratoire, permet d'étudier et de modéliser la relation pouvant exister entre une variable de réponse et plusieurs prédicteurs.
- **Variables considérées:** année, mortalité des colonies, ascosphérose, AFB, EFB, nosémose, varroase, abeilles déformées, superficies cultivées (betterave, orge, maïs, colza, totales,...), imidacloprid, acaricides, insecticides, herbicides, fongicide, pesticides.



Analyses multifactorielles

(2004-2005 et 2005-2006)

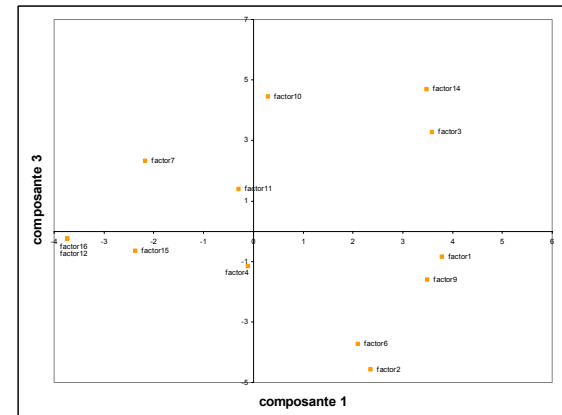
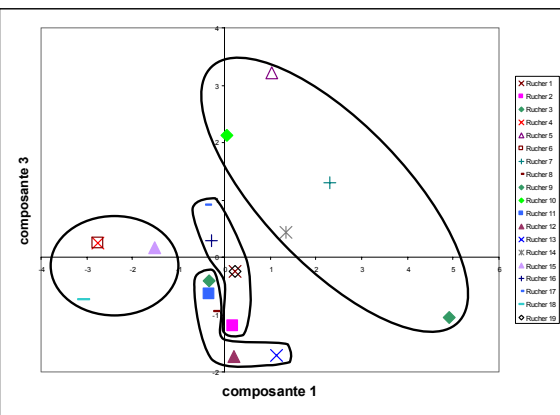
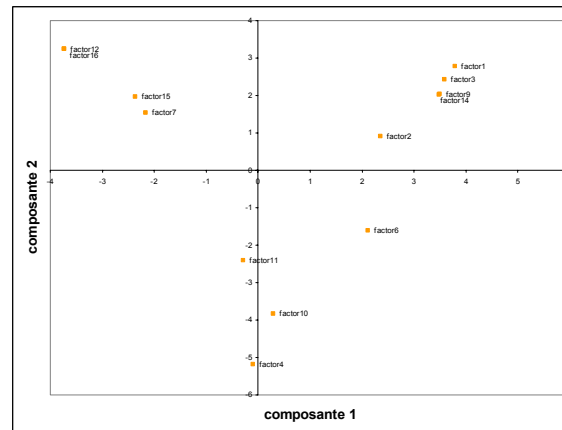
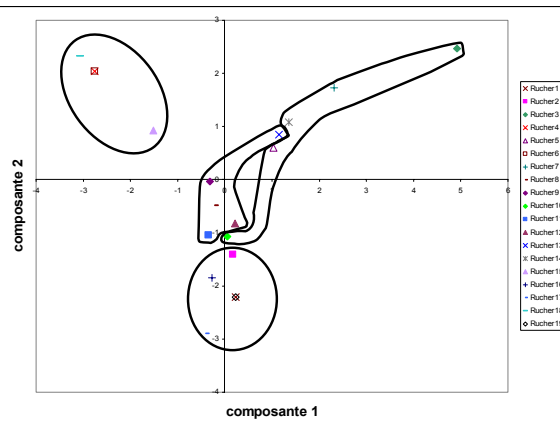
- Les analyses multifactorielles confirment l'implication de la **varroase** et souligne une possible relation avec la **loque américaine** au stade clinique.
- Elle permet au total d'identifier cinq facteurs de risques de dépérissement de l'abeille domestique:
 - les acaricides,
 - le varroa,
 - la loque américaine,
 - la disponibilité en nourriture,
 - les virus.

Approche symptomatologique

ACP

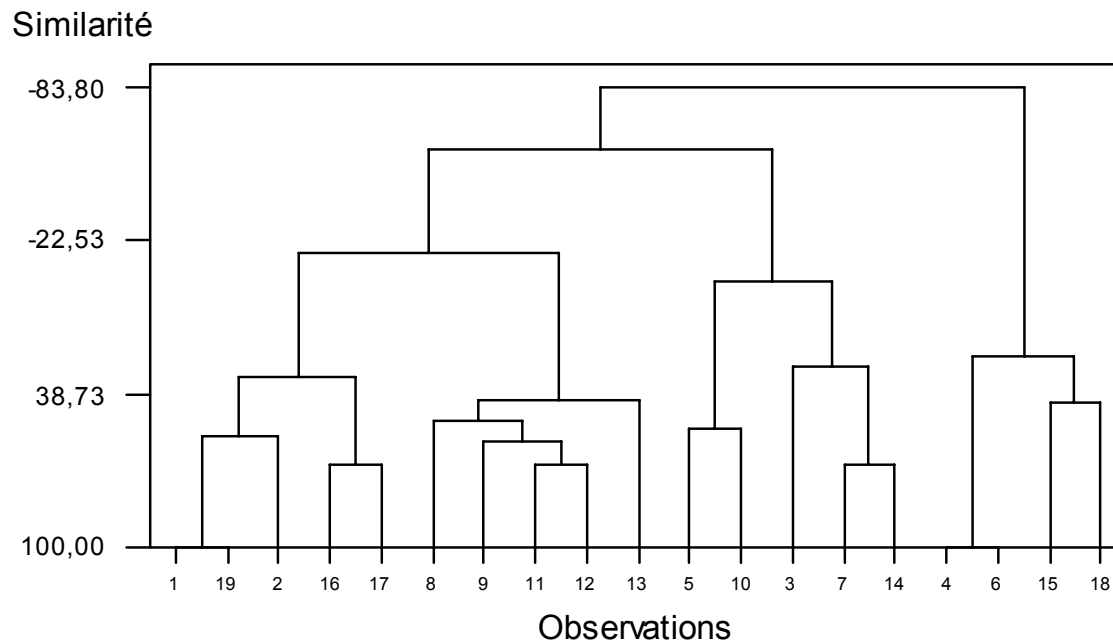
4 groupes distincts

Les 3 premières
composantes
expliquent 61 % de
la variabilité



Approche symptomatologique

ACP



L'analyse symptomatologique a confirmé le **caractère multifactoriel** de la mortalité touchant les abeilles en Wallonie.

Confirmation de nos résultats

Rapports publiés
en 2005 et 2006

Maladies, Varroa

Maladies, Varroa

Maladies, Varroa

Maladies, Varroa

Nosema cerana



Orientations suivies en seconde convention

2006-2007

2007-2008





Orientations

- Poursuite du suivi des colonies
- Approche épidémio-toxicologique (Imidacloprid)
 - Exploitation des résultats de 2005-2006
 - Six scénarios de butinages
- Impact des pesticides sur l'abeille domestique
 - Nourrissement
 - Analyses comportementales
 - Analyses électrophysiologiques
 - Approche olfactométrique

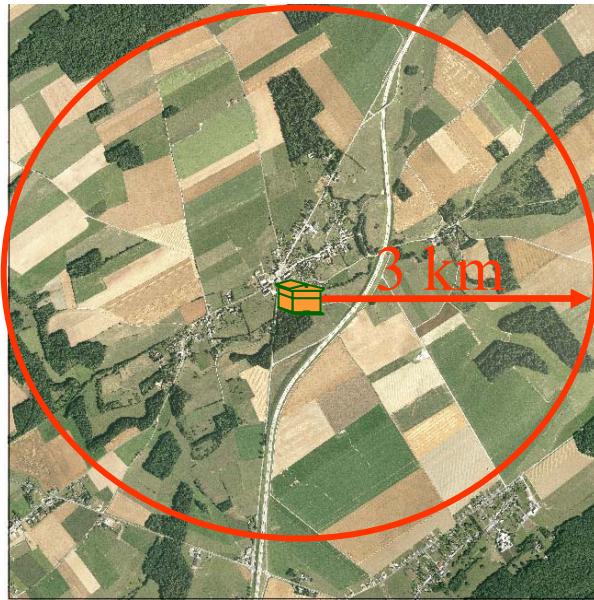


Poursuite du suivi des colonies

- Prélèvement d'échantillons en automne
 - Enquêtes: Questionnaires
 - Mortalité post-hivernale
-
- Faible mortalité très faible.
 - Taux moyen de perte par rucher : 7,3%
 - Confirmation de la relation entre la mortalité et le nombre de varroas par échantillon

Approche épidémio-toxicologique (influence du maïs traité à l'Imidacloprid)

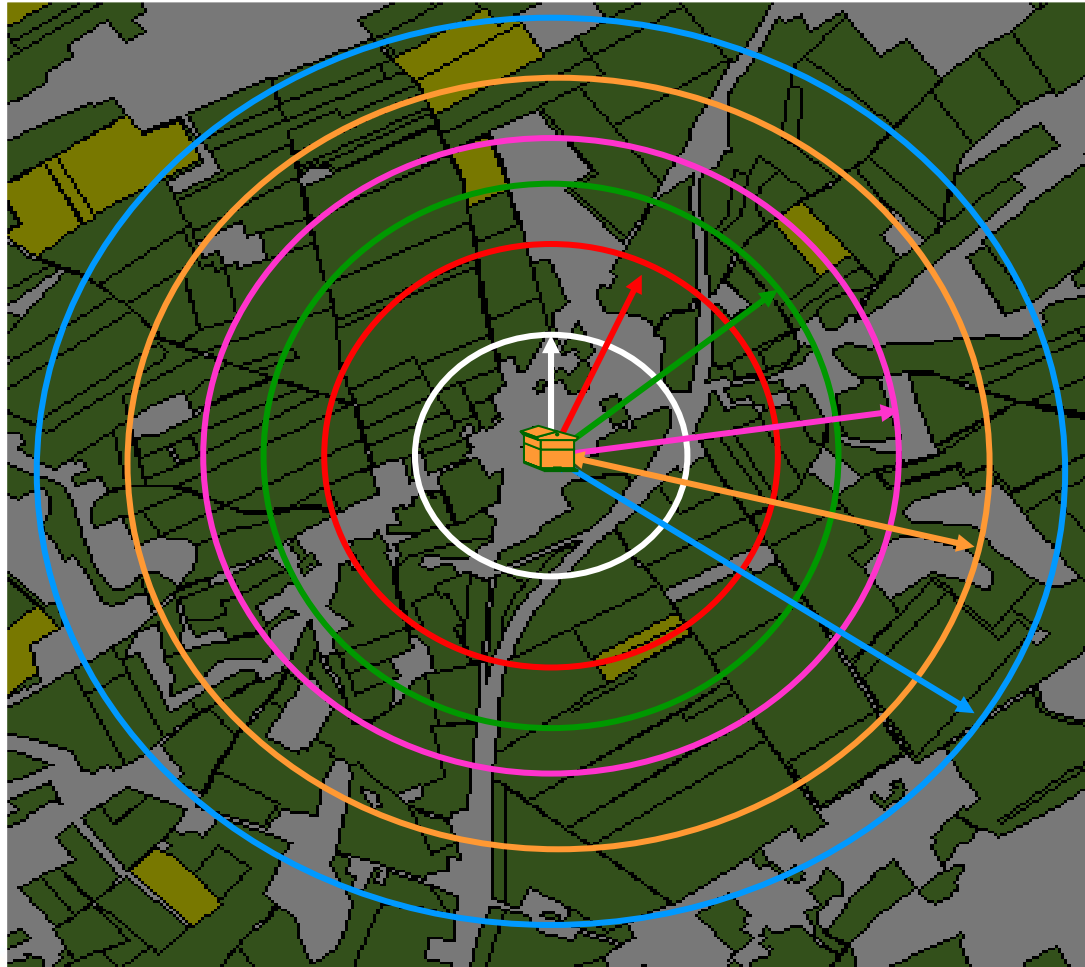
- Cadre d'étude: recherches de 2005-2006



- Approche épidémiologique: **différents scénarios**

Existe-t-il une relation entre les fortes mortalités d'abeilles observées et la présence de maïs traités avec de l'imidacloprid ?

ix scénarios de butinage ont été pris en compte



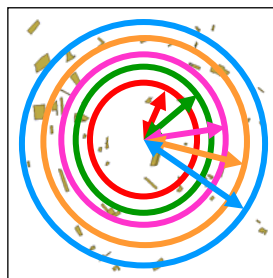
Max 1000 m
Max 1500 m
Max 1750 m
Max 2000 m
Max 2500 m
Max 3000 m

Existe-t-il une relation entre la surmortalité des abeilles et la présence de plants de maïs traités à l'imidacloprid?

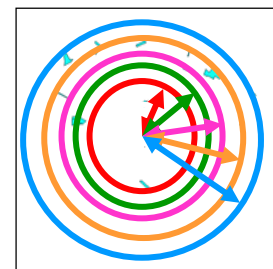
Approche épidémiologique



Surface agricole totale:
2421,3 ha (818 parcelles)



Surface de cultures de maïs :
108,92 ha (54 parcelles)



Surface de cultures de maïs avec
imidacloprid : **23,25 ha (13 parcelle)**

Table 2.

Scenario	Distance of pollen-collecting (expressed in meter)	Number of plots (ha)		Option	Test #	P
		Treated	Total			
1	< 1,000	40 (58)	188 (412)	Surface of plots treated around apiaries (ha)	Spearman's rank correlation = -0.76 (-0.92 to -0.41)	0.0009 *
				Total surface of plots around apiaries (ha)	Spearman's rank correlation = -0.47 (-0.79 to 0.05)	0.08
2	< 1,500	61 (98)	344 (732)	Surface of plots treated around apiaries (ha)	Spearman's rank correlation = -0.73 (-0.93 to -0.47)	0.0013 *
				Total surface of plots around apiaries (ha)	Spearman's rank correlation = -0.50 (-0.81 to 0.01)	0.0466 *
3	< 1,750	70 (122)	441 (936)	Surface of plots treated around apiaries (ha)	Spearman's rank correlation = -0.75 (-0.91 to -0.38)	0.0009 *
				Total surface of plots around apiaries (ha)	Spearman's rank correlation = -0.49 (-0.80 to 0.02)	0.05 *
4	< 2,000	82 (129)	555 (1134)	Surface of plots treated around apiaries (ha)	Spearman's rank correlation = -0.75 (-0.91 to -0.38)	0.0009 *
				Total surface of plots around apiaries (ha)	Spearman's rank correlation = -0.55 (-0.83 to -0.06)	0.03 *
5	< 2,500	109 (193)	791 (1699)	Surface of plots treated around apiaries (ha)	Spearman's rank correlation = -0.61 (-0.86 to -0.14)	0.0121 *
				Total surface of plots around apiaries (ha)	Spearman's rank correlation = -0.53 (-0.82 to -0.02)	0.036 *
6	< 3,000	122 (226)	1027 (2235)	Surface of plots treated around apiaries (ha)	Spearman's rank correlation = -0.57 (-0.84 to -0.08)	0.02 *
				Total surface of plots around apiaries (ha)	Spearman's rank correlation = -	0.046 *

Dépérissement
abeilles

Existe-t-il une relation entre la surmortalité des abeilles et la présence de plants de maïs traités à l'imidacloprid?

Approche épidémiologique

Scenario	Distance of pollen-collecting (expressed in meter)	Number of plots (ha)		Option	Test #		P
		Treated	Total				
1	< 1,000	40 (58)	188 (412)	Surface of plots treated around apiaries (ha)	Spearman's rank correlation = -0.76 (-0.92 to -0.41)		0.0009
				Total surface of plots around apiaries (ha)	Spearman's rank correlation = -0.47 (-0.79 to 0.05)		0.08
2	< 1,500	61 (98)	344 (732)	Surface of plots treated around apiaries (ha)	Spearman's rank correlation = -0.73 (-0.93 to -0.47)		0.0013
				Total surface of plots around apiaries (ha)	Spearman's rank correlation = -0.50 (-0.81 to 0.01)		0.0466
3	< 1,750	70 (122)	441 (936)	Surface of plots treated around apiaries (ha)	Spearman's rank correlation = -0.75 (-0.91 to -0.38)		0.0009
				Total surface of plots around apiaries (ha)	Spearman's rank correlation = -0.49 (-0.80 to 0.02)		0.05
4	< 2,000	82 (129)	555 (1134)	Surface of plots treated around apiaries (ha)	Spearman's rank correlation = -0.75 (-0.91 to -0.38)		0.0009
				Total surface of plots around apiaries (ha)	Spearman's rank correlation = -0.55 (-0.83 to -0.06)		0.03
5	< 2,500	109 (193)	791 (1699)	Surface of plots treated around apiaries (ha)	Spearman's rank correlation = -0.61 (-0.86 to -0.14)		0.0121
				Total surface of plots around apiaries (ha)	Spearman's rank correlation = -0.53 (-0.82 to -0.02)		0.036
6	< 3,000	122 (226)	1027 (2235)	Surface of plots treated around apiaries (ha)	Spearman's rank correlation = -0.57 (-0.84 to -0.08)		0.02
				Total surface of plots around apiaries (ha)	Spearman's rank correlation = -0.50 (-0.81 to -0.01)		0.046

Existe-t-il une relation entre la surmortalité des abeilles et la présence de plants de maïs traités à l'imidacloprid?

Approche épidémiologique

Nous avons observé une forte corrélation entre les taux de mortalité et les surfaces de maïs traité à l'imidaclopride mais cette relation est négative.

Plus il y a de maïs traité à l'imidacloprid, moins il y a de mortalité !



Nous avons observé une corrélation entre les taux de mortalité et les surfaces totales de maïs mais cette relation est négative !

Hypothèse: Au mois d'août, en région agricole, le maïs constitue une des rares ressources en pollen pour l'abeille

Impact des pesticides sur l'abeille domestique

Incidence de l'ingestion chronique de trois pesticides (imidacloprid, bifenthrine et flusilazole) sur la perception olfactive et le comportement de l'abeille domestique



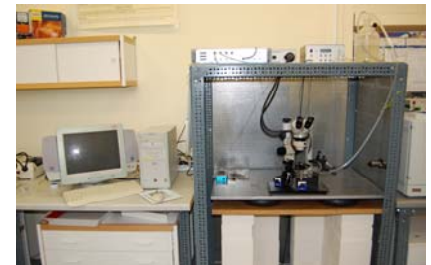
Elevage



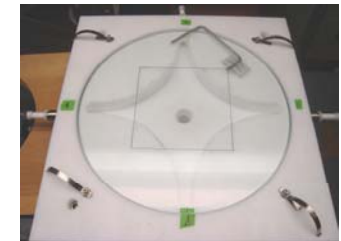
Nourrissement



Analyses comportementales



Analyses électrophysiologiques



Approche olfactométrique

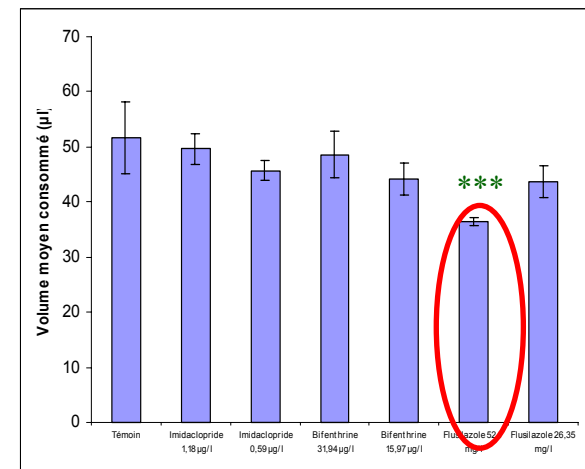


Nourrissement

Substances actives	Toxicité aiguë	Concentration maximale	Concentration minimale
Imidaclopride Dr Ehrenstorfer GmbH Pureté : 99,5%	DL50 orale : 0,0037 µg/abeille	1,18 µg/l	0,59 µg/l
Bifenthrine Dr Ehrenstorfer GmbH Pureté : 99,5%	DL50 orale : 0,1 µg/abeille	31,94 µg/l	15,97 µg/l
Flusilazole Dr Ehrenstorfer GmbH Pureté : 99,5%	DL50 contact : 165 µg/abeille	52,7 mg/l	26,35 mg/l

Analyses comportementales

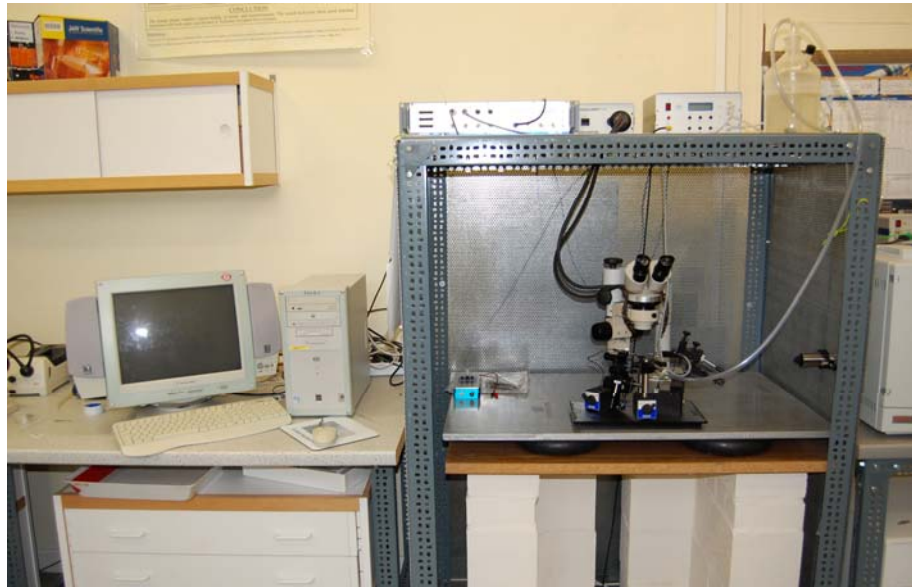
- Pas de différence significative de mortalité entre les abeilles alimentées avec la solution témoin et celles alimentées avec les solutions sucrées contaminées (Test de Dunnett, $\alpha=0,05$)
- Différence très hautement significative de consommation entre le témoin et le flusilazole à la concentration maximale (52,7 mg/l) (Test de Dunnett, $\alpha= 0,05$) → **Effet répulsif ?**
- Pas de troubles comportementaux spécifiques à l'ingestion de différentes substances actives. Comportements très variables d'un jour à l'autre → **Comparaisons et extrapolations à l'échelle de la colonie difficiles.**



Volume moyen (µl) (+/- SD) consommé par abeille par jour en fonction des solutions de nourrissage.

Analyses électrophysiologiques

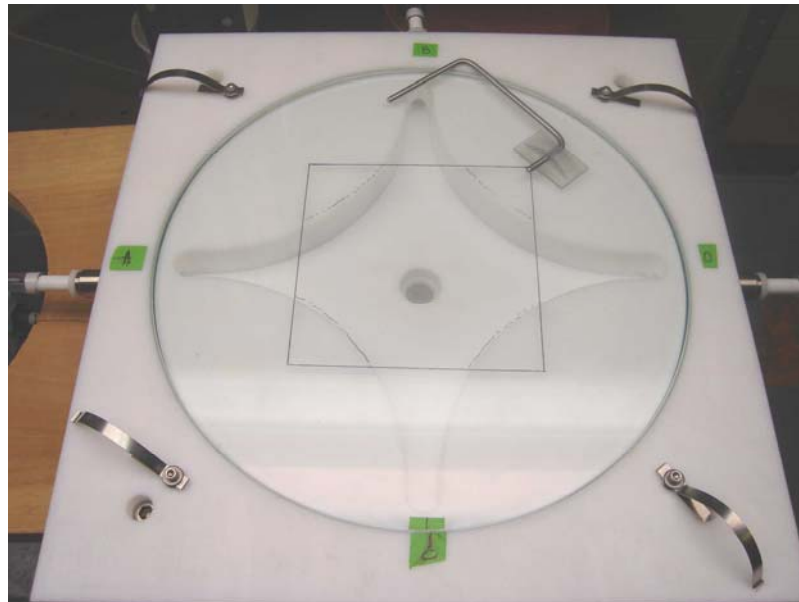
Mise en évidence d'éventuelles modifications de perception (réponse EAG d'un composé volatil odorant suite à l'ingestion de substances actives).



→ Réponses EAG les plus élevées pour les individus alimentés avec la solution de flusilazole (52,7 mg/l)

Approche olfactométrique

Mise en évidence d'éventuelles modifications d'orientation d'une abeille suite à l'ingestion de substances actives.



- Les analyses olfactométriques n'ont pas été concluantes
- Elles ne sont pas adaptées à l'orientation des abeilles en vol.



Orientations suivies en seconde convention

2006-2007

2007-2008





Orientations

- Approche biomoléculaire (Virus)
 - Abeilles prélevées dans 36 ruchers (2006-2007)
 - Recherche de 6 virus particulièrement dommageables
 - Relations avec la charge en varroa / la mortalité
- Qualité nutritive de pollen stocké
 - Taux de protéines
 - Taux d'acides aminés essentiels
 - Relations avec la mortalité
- Présence de pesticides dans le pollen
 - Détection et quantification des pesticides dans le pollen
 - Détection et quantification des métabolites de l'imidaclopride

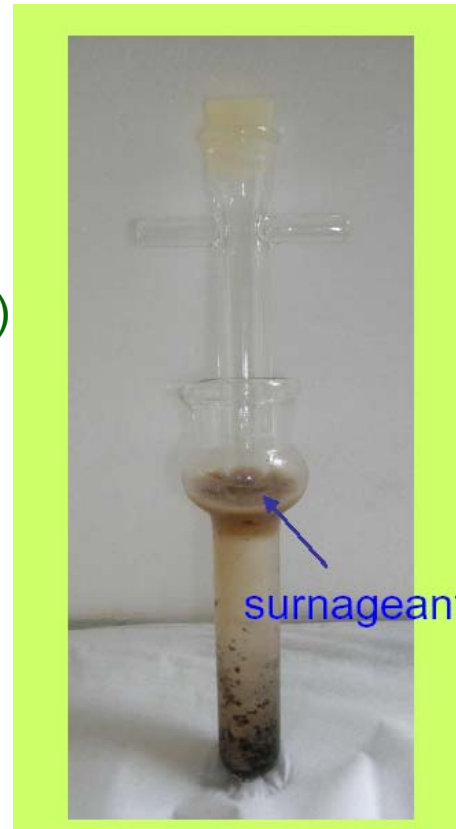


Evaluation de la présence de 6 virus

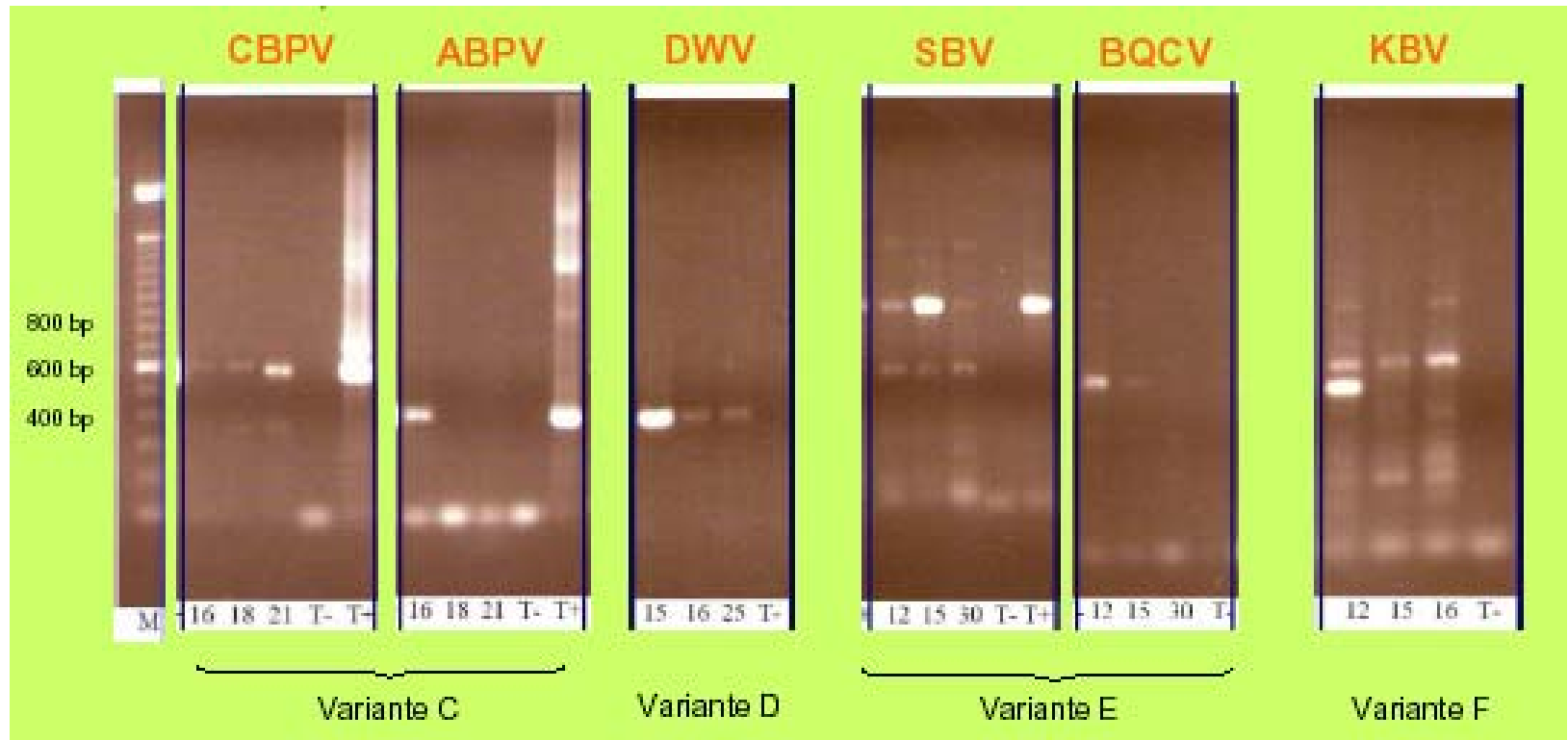
- 36 ruchers en Wallonie et à Bruxelles
- RT-PCR pour 6 virus :
 - Chronic Bee Paralysis Virus (CBPV)
 - Acute Bee Paralysis Virus (ABPV)
 - Deformed Wing Virus (DWV)
 - Sacbrood Virus (SBV)
 - Black Queen-cell Virus (BQCV)
 - Kashmir Bee Virus (KBV)
- Nombre de varroas sur 50 abeilles
- Mortalité au printemps 2007

Mise au point de la méthode de détection

- Sur base du protocole de l'Unité de Pathologie de l'abeille AFSSA Sophia Antipolis
- Broyage (Tenbroeck 7ml)
- Centrifugation (2)
- Extaction ARN viral (High Pure Viral RNA kit, Roche)
- Transcription inverse (RT)
- PCR (Amorces spécifiques pour chaque virus)
- Electrophorèse et visualisation
- Séquençage



Au total, 6 variantes testées et 4 retenues



Virus détectés

	CBPV	ABPV	DWV	SBV	BQCV	KBV
Colonies	56 %	6 %	49 %	53 %	61 %	33 %
Ruchers	69 %	8 %	64 %	69 %	75 %	47 %

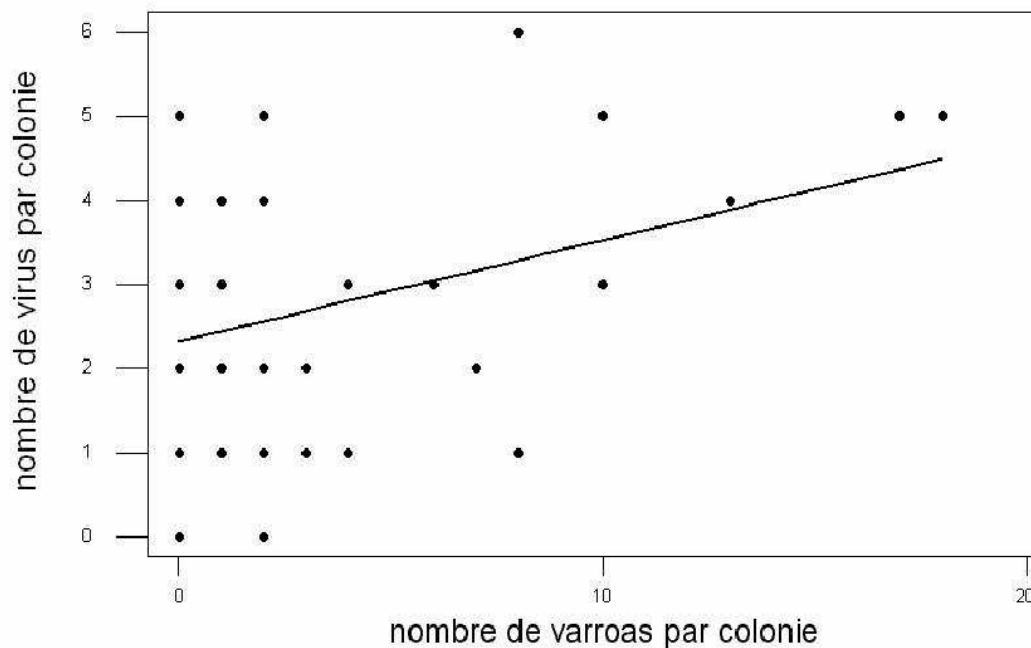


Corrélation entre le nombre de virus et le nombre de varroas

Au niveau de la colonie: $r=0,329$; $p=0,005$

Au niveau du rucher: $r=0,392$; $p=0,018$

$R^2 = 15$ et 20%



Relation entre un virus et la présence de varroas

Test d'égalité de 2 moyennes (valeur F et p)

	F_{obs}	Valeur p
CBPV	0,24	0,631
ABPV	n.d.	n.d.
DWV	4,44	0,042 *
SBV	1,27	0,267
BQCV	0,13	0,723
KBV	11,70	0,002 **

Présence du **DWV** et du **KBV** associée à un nombre moyen de varroas significativement supérieur



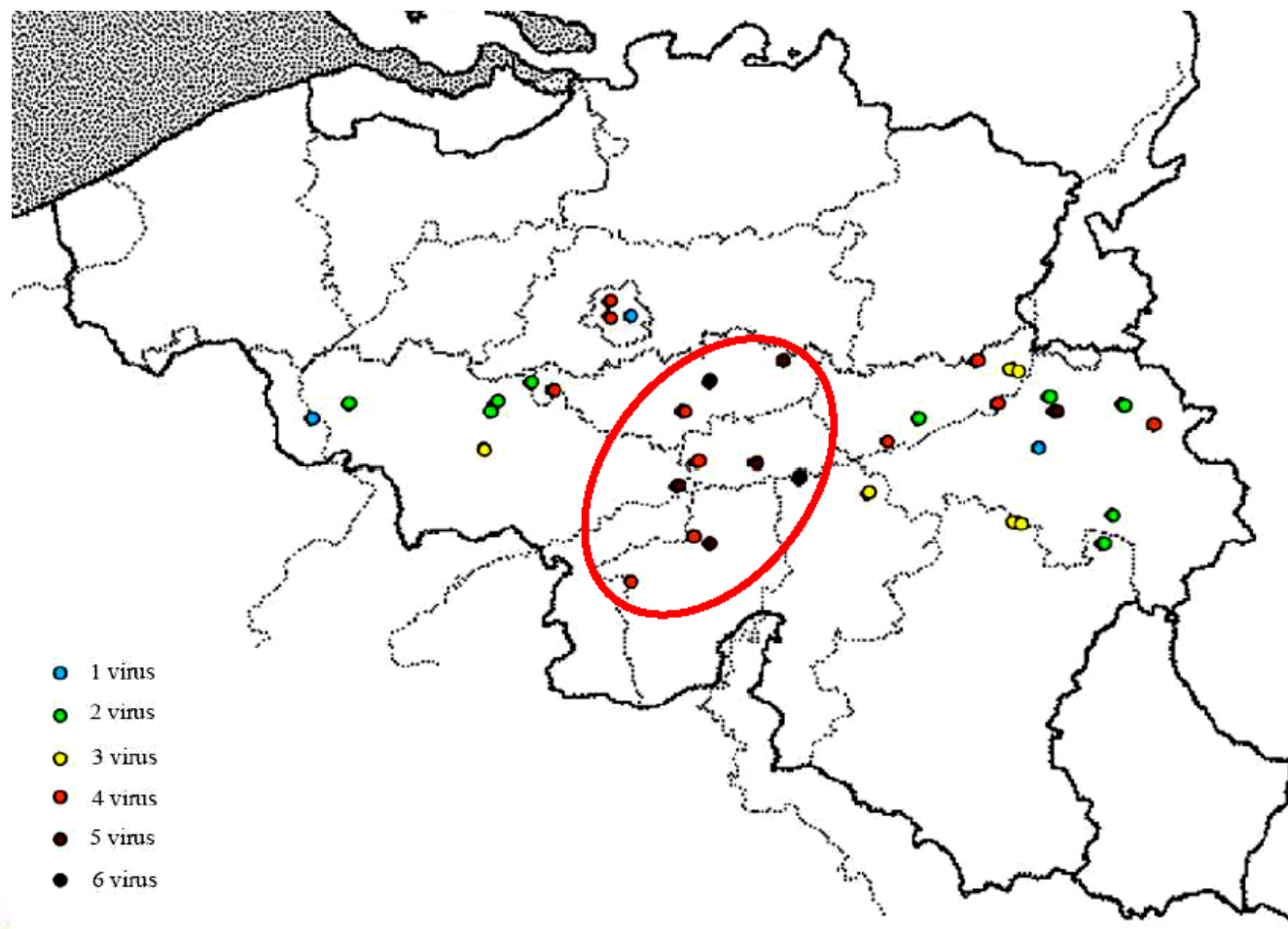
Corrélation entre le nombre de virus et la mortalité

Au niveau de la colonie: $r=0,392$; $p=0,001$

Au niveau du rucher: $r=0,438$; $p=0,008$

$R^2 = 15$ et 20%

Zones où les ruchers sont atteints par au moins 4 virus



Ruchers	Code des 2 échantillons	CBPV	ABPV	DWV	SBV	BQCV	KBV
---------	-------------------------	------	------	-----	-----	------	-----

1 virus :

Tournai	B5	B6	0	0	1	0	0	0
Woluwé-Saint-Lambert	B8	B9	0	0	0	0	1	0
Louveigné	B56	B55	0	0	0	0	0	1

total : 3

2 virus :

% des ruchers : 8,3

Petit Enghien	B1	B2	1	0	1	0	0	0
Stavelot	B31	B54	1	0	1	0	0	0
Grand-Halleux	B52	B53	1	0	0	1	0	0
Melen	B38	B30	1	0	0	1	0	0
Verlaine	B21	B22	1	0	0	0	1	0
Baelen	B57	B34	1	0	0	0	0	1
Thimougies	B3	B7	0	0	1	0	1	0
Thoricourt	B72	B73	0	0	0	1	1	0
Saint-Marcoult	B59	B61	0	0	0	1	0	1

total : 9

3 virus :

% des ruchers : 25

Hermée (Radelet)	B51	B29	1	0	1	0	1	0
Jurbise	B14	B19	1	0	1	0	1	0
Hermée	B35	B48	1	0	0	1	1	0
Saint-Antoine	B62	B65	1	0	0	1	1	0
Matagne	B70	B71	0	0	1	0	1	1
Grand Bru	B68	B69	0	0	0	1	1	1

total : 6

% des ruchers : 16,7

Ruchers	Code des 2 échantillons	CBPV	ABPV	DWV	SBV	BQCV	KBV
---------	-------------------------	------	------	-----	-----	------	-----

4 virus :

			% des ruchers :					
Bruxelles	B10	B13	1	0	1	1	1	0
Court-Saint-Étienne	B17	B28	1	0	1	1	1	0
Liège	B46	B49	1	0	1	1	1	0
Silenrieux	B63	B64	1	0	1	1	1	0
Wihogne	B42	B43	1	0	1	1	1	0
Quenast	B40	B41	1	0	1	1	0	1
Antheit	B32	B50	1	0	0	1	1	1
Membach	B47	B33	1	0	0	1	1	1
Biesme	B66	B67	0	0	1	1	1	1
Boignée	B58	B60	0	0	1	1	1	1
Jette	B11	B12	0	0	1	1	1	1

total :

16,7

11

5 virus :

			% des ruchers :					
Jodoigne	B36	B27	1	1	1	1	1	0
Lambusart	B37	B25	1	0	1	1	1	1
Mettet	B18	B20	1	0	1	1	1	1
Rhisnes	B23	B24	1	0	1	1	1	1
Soumagne	B44	B45	1	0	1	1	1	1

total :

30,6

5

6 virus :

			% des ruchers :					
Loyers	B15	B16	1	1	1	1	1	1
Vieusart	B26	B39	1	1	1	1	1	1

total :

13,9

2

% des ruchers :

5,6



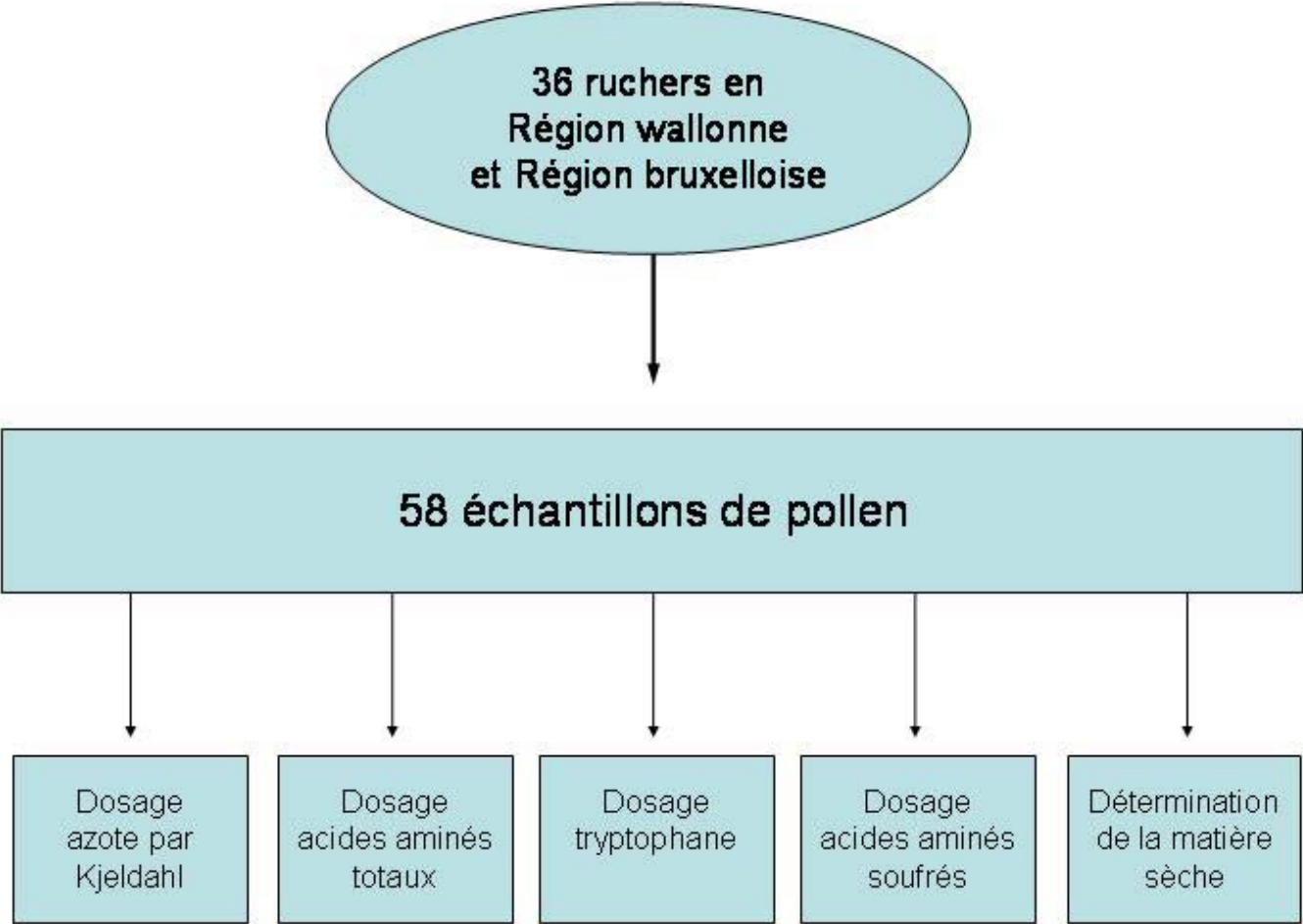
Qualité nutritive du pollen stocké

- Evaluation de la qualité nutritive des pollens
- Origine des pollens récoltés en fin d'été
- Quantité de pollen stocké en préhivernage



L'importance du pollen

- Permet de subvenir aux besoins de la colonie en :
 - Matières azotées
 - Acides aminés essentiels
 - Protéines
 - Lipides
 - Vitamines et minéraux



```
graph TD; A([36 ruchers en Région wallonne et Région bruxelloise]) --> B[58 échantillons de pollen]; B --> C[Dosage azote par Kjeldahl]; B --> D[Dosage acides aminés totaux]; B --> E[Dosage tryptophane]; B --> F[Dosage acides aminés soufrés]; B --> G[Détermination de la matière sèche];
```

**36 ruchers en
Région wallonne
et Région bruxelloise**

58 échantillons de pollen

Dosage
azote par
Kjeldahl

Dosage
acides aminés
totaux

Dosage
tryptophane

Dosage
acides aminés
soufrés

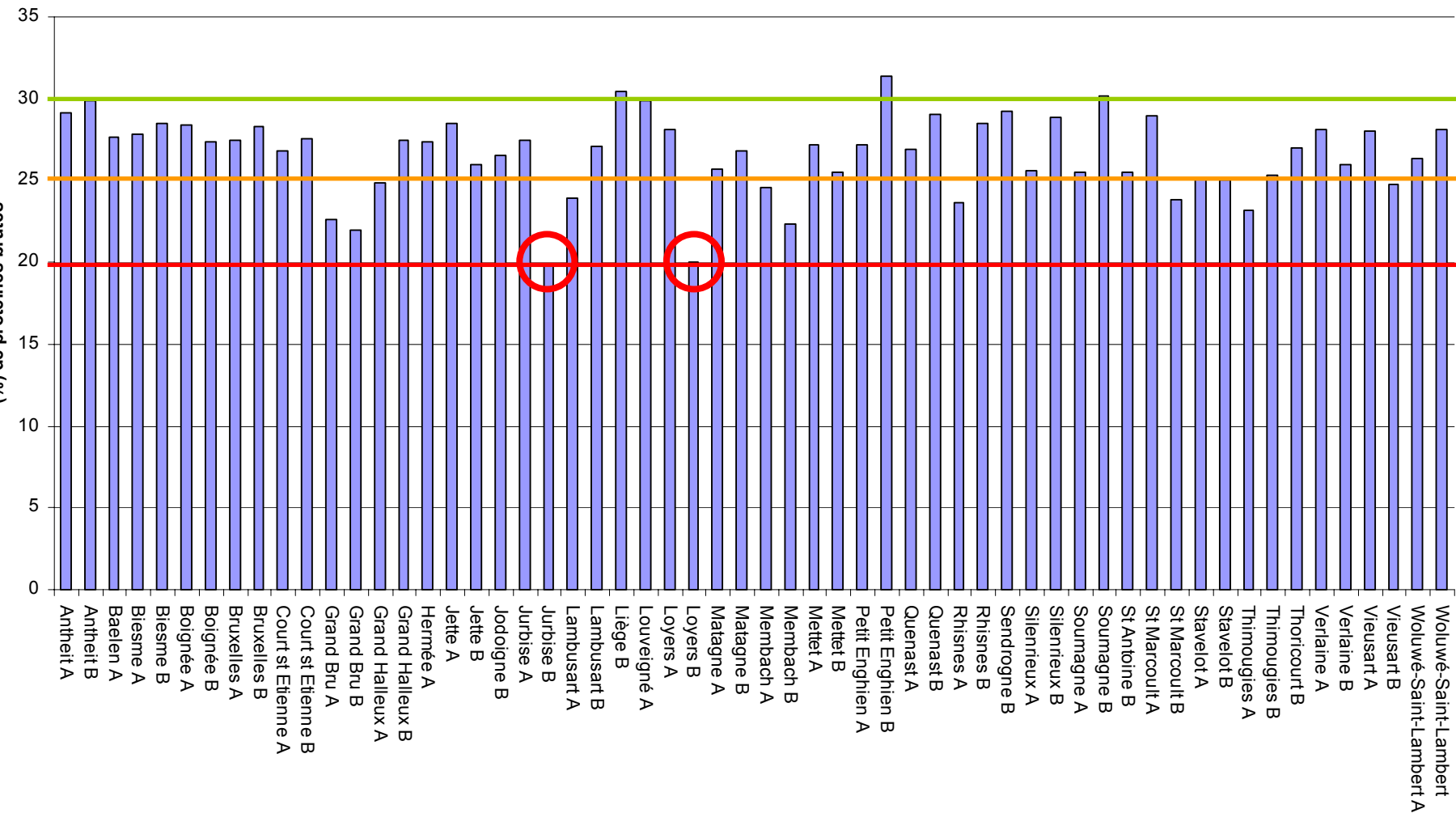
Détermination
de la matière
sèche

Dosage azote total par Kjeldahl

- Minéralisation
- Distillation
- Titration



Protines brutes



10 acides aminés essentiels

Acides aminés totaux:
hydrolyse acide des protéines

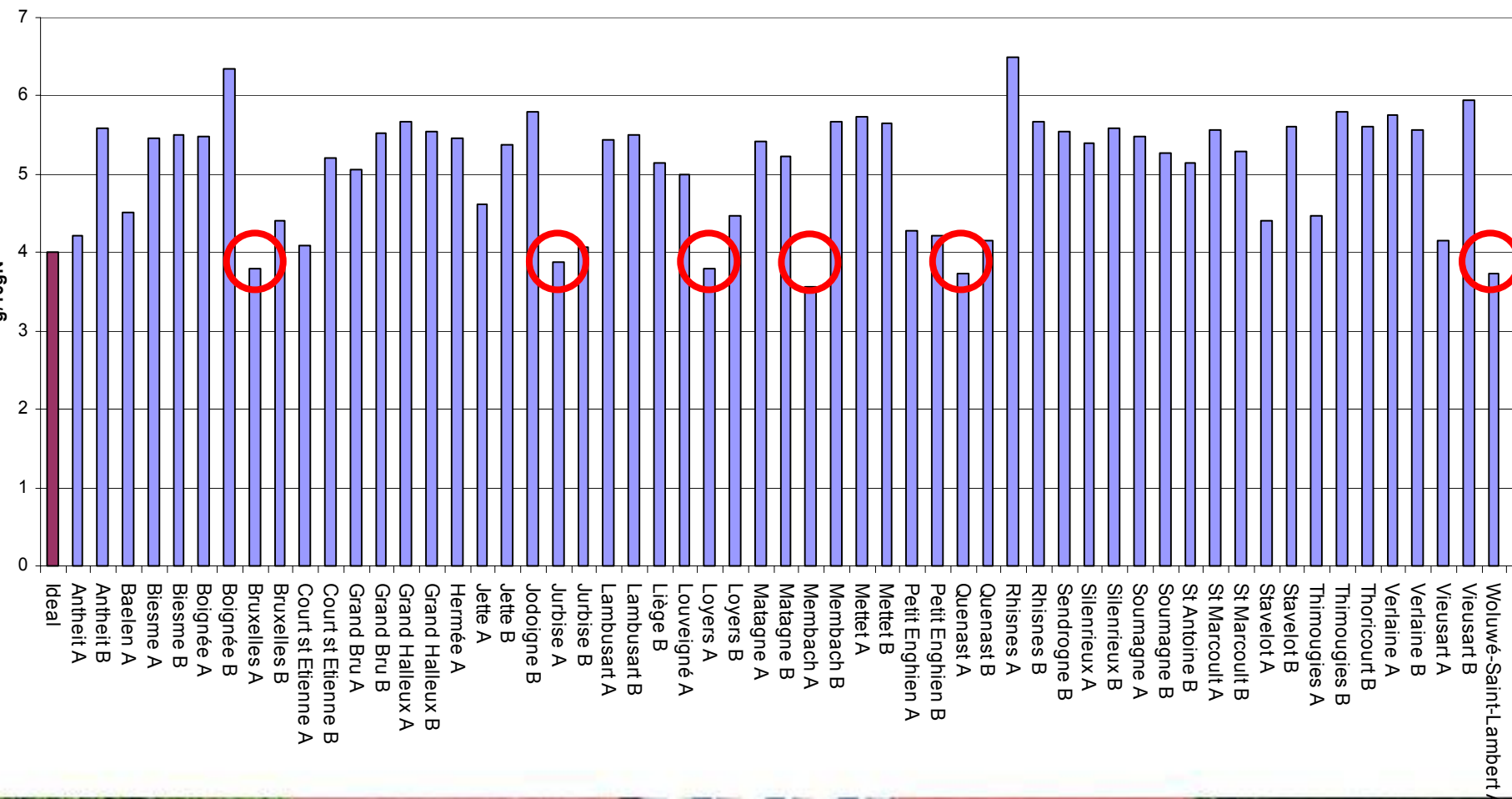
Acides aminés soufrés:
oxydation performique et
hydrolyse acide

Tryptophane:
hydrolyse alcaline

Importance	Acides Aminés	Ratio g/16g N
Important	Isoleucine	4.0
	Leucine	4.5
	Valine	4.0
Modérément important	Arginine	3.0
	Lysine	3.0
	Phenylalanine	1.5
	Threonine	3.0
Peu important	Histidine	1.5
	Methionine	1.5
	Tryptophane	1.0

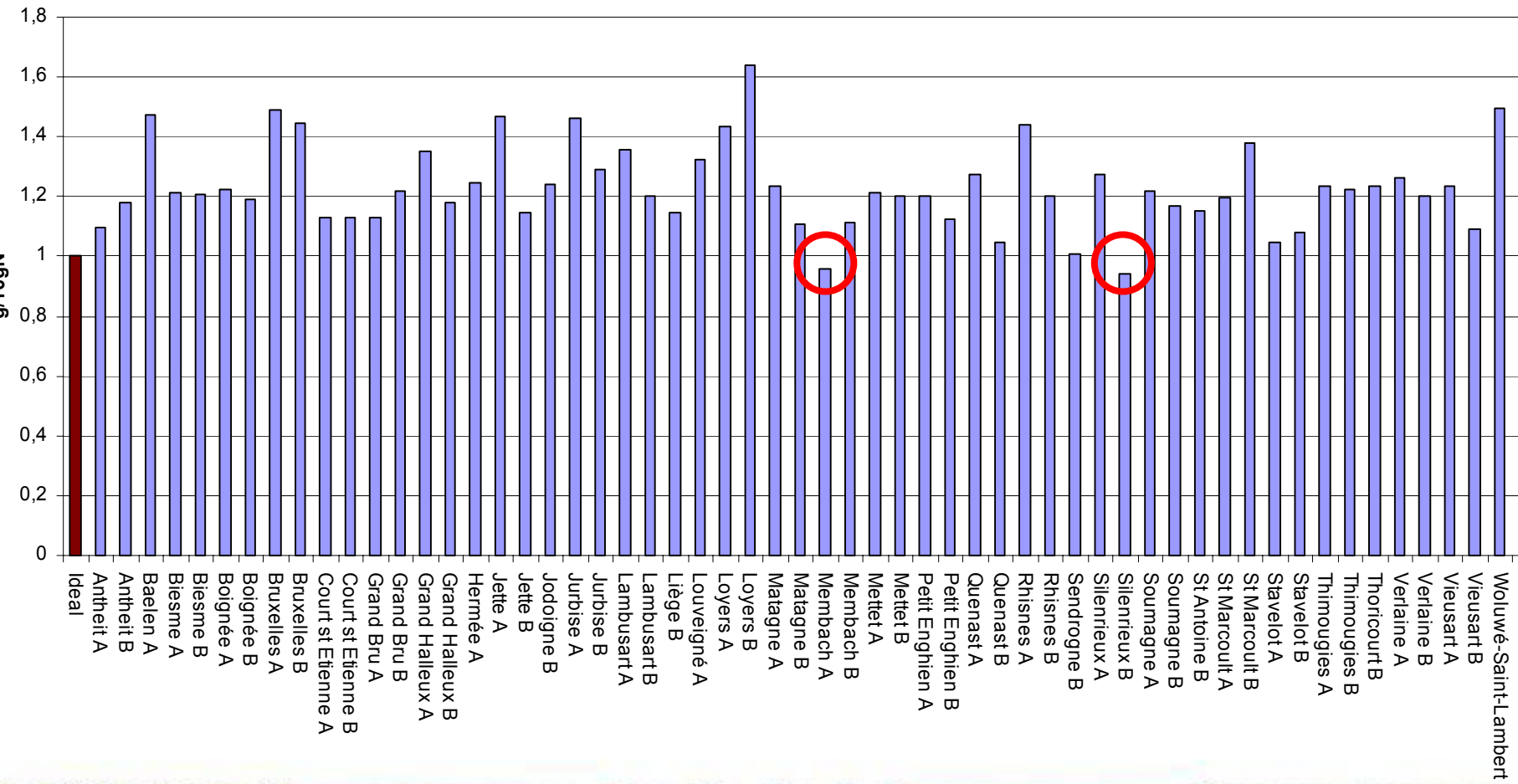
Isoleucine

Isoleucine



Tryptophane

Tryptophane





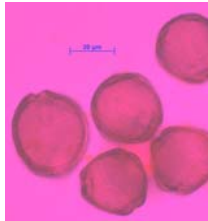


Qualité nutritive du pollen stocké

- La qualité alimentaire des pollens est « satisfaisante »
- Aucun des ruchers avec des signes de surmortalité ne présente des carences (excepté à Loyers)
- ➔ La surmortalité et la « qualité nutritive » du pollen ne sont pas directement liées
- ➔ La quantité de pollen disponible est également un facteur très important

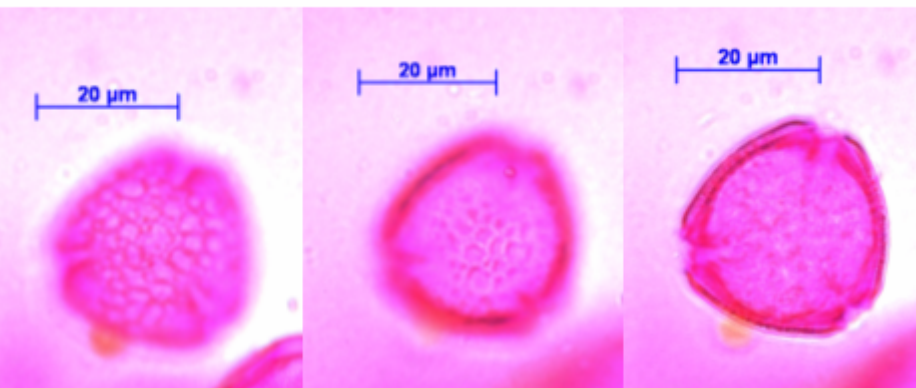


Etudes palynologiques

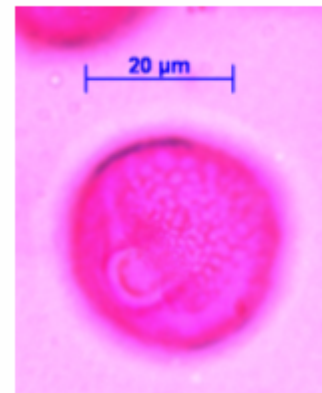


- Récolte du pollen stocké dans les cellules de cire
- Extraction des carottes de pollen
- Quantification des différents types de pollen (couleur)
- Coloration, fixation et mise entre lame et lamelle

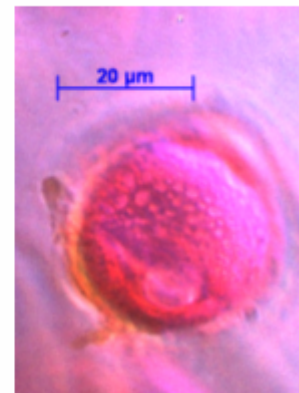
Pollen 1



Pollen 2



Pollen 3





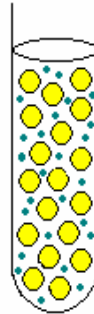
Visites de printemps dans 16 ruchers à forte mortalité

- Les visites au printemps 2008 dans les ruchers à forte mortalité ont permis de détecter une absence totale du double traitement recommandé: Thymovar / Ac. Oxalique.
- Des varroas phorétiques ont été observés dans toutes les ruches ainsi que de nombreuses abeilles déformées.
- Les analyses de pesticides et les essais de détection de virus sur abeilles mortes sont en cours.

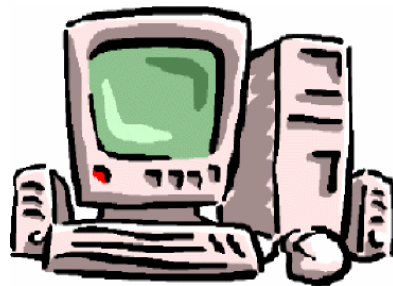
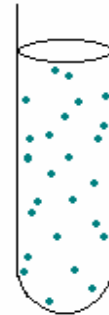
Détection et quantification des pesticides dans le pollen



Extraction



Purification



**Détection &
quantification**



Pesticides dans le pollen (2006 et 2007)

Pesticide	Nombre total d'analyses	Nombre d'échantillons positifs	%
Coumaphos	81	3	3,7
Diflufenican	81	2	2,5
Difenoconazole	81	2	2,5
Methiocarb sulfoxide	81	1	1,2
Roténone	81	1	1,2
Imidacloprid	81	1	1,2
Diethofencarb	81	1	1,2
Simazine	81	1	1,2
Vinclozolin	81	1	1,2
Fluazifop-p-butyl	81	1	1,2
Chlorpyrifos	81	1	1,2



Conclusions



Conclusions



- L'imidacloprid (Gaucho ®) n'est pas responsable des mortalités observées en Belgique.
- 79% des colonies suivies contenaient au moins un pesticide. Au total, 18 pesticides différents ont été détectés.
- Le nombre d'acaricides détectés dans les ruchers présente un lien avec la surmortalité des colonies d'abeilles domestiques en Wallonie.
- La qualité nutritive du pollen est satisfaisante.
- Des ressources alimentaires insuffisantes (nectar et pollen) sont observées → périodes creuses !

Conclusions



- La varroa est le premier agent responsable de la mortalité.
- La varroa est particulièrement dommageable lorsqu'il est présent en même temps que d'autres facteurs de stress: manque de nourriture, pesticides à doses chroniques, virus et autres pathologies, incidents climatiques, ...
- Manque crucial de méthode de lutte contre la varroa
- Proposition d'une stratégie de lutte
 - Un traitement longue durée après la récolte du miel d'été
 - Un traitement ponctuel (hors couvain) fin de l'automne

Conclusions



- Six virus, particulièrement dommageables à l'abeille, ont été détectés massivement dans les ruchers.
- Leur abondance est corrélée à la mortalité des abeilles et à la charge en varroa.
- L'impact de ces virus sur des abeilles affaiblies par la présence de varroas constitue une cause probable de mortalité massive d'abeilles.



Conclusions

- Ces deux dernières années, très peu de ruches sont mortes dans les ruchers suivis.
- Les visites d'automne ont permis d'observer de nombreux manques de nourriture pour passer l'hiver.
- Le suivi effectué et les conseils prodigués biaiseraient l'expérimentation.
- La mortalité serait davantage liée à un problème de gestion des ruchers: nourrissage et traitements anti-varroas.



Merci de votre attention

