

L'ATTRACTION DE *VARROA DESTRUCTOR* VERS LES CELLULES DE COUVAIN, À BASE DES INDICES FOURNIS PAR LA NOURRITURE LARVAIRE

F. NAZZI, MILANI N., DELLA VEDOVA G.

Dipartimento di Biologia Applicata alla Difesa delle Piante Università di Udine

Toute correspondance peut être adressée à:

Francesco Nazzi, Dipartimento di Biologia Applicata alla Difesa delle Piante,

Università di Udine, via delle Scienze 208, 33 100 Udine, Italie

e-mail: francesco.nazzi@pldef.uniud.it

Résumé

Des études ont été consacrées à l'analyse des substances sémiachimiques qui induisent l'entrée de l'acarien dans les cellules de couvain pour se reproduire. Dès le début, la recherche s'est concentrée sur les signaux possibles émis par les abeilles. Récemment, on a constaté que la nourriture larvaire que les cellules de couvain contiennent à l'entrée de l'acarien peut jouer un rôle significatif dans le processus de l'invasion cellulaire.

Dans la présente étude on apporte des informations sur les éléments d'identification des composés de la nourriture larvaire qui sont responsables de l'attraction des acariens *Varroa* vers les cellules de couvain.

Mots clés : nourriture larvaire, *Varroa destructor*, invasion des cellules, substances sémiachimiques

Introduction

En vue de se reproduire, l'acarien *Varroa destructor* Oud. entre dans une cellule de couvain contenant une larve d'abeille, avant son désoperculation (Boot *et al.*, 1992). L'idée selon laquelle certains facteurs attirants probablement impliqués dans ce processus, tout comme les éléments attirants utilisés dans le combat des insectes nuisibles pourrait être employés pour combattre l'acarien a stimulé les recherches sur ce thème.

Certains auteurs ont examiné dès le début les stimuli qui déclenchent le phénomène d'invasion des cellules par l'acarien, leur recherche se concentrant sur les stimuli issus des larves d'abeilles. CONTE *et al.* (1989) a montré que les acariens *Varroa* sont attirés par certains esters des acides gras simples aliphatiques, qu'on a retrouvés chez les larves du cinquième stade. RICKLY *et al.* (1992) ont démontré que l'acide palmitique, détecté dans l'air entourant les larves d'abeilles, attire l'acarien *Varroa*. Lors d'une expérimentation, RICKLY *et al.* (1994) et AUMEIER et ROSENKRANZ (1995) ont montré que certaines hydrocarbures saturées, trouvées sur la cuticule des larves étaient actives sur l'acarien *Varroa*.

Tout au long de la période d'invasion des cellules, l'acarien quitte l'abeille-nourrice pour entrer dans la cellule de couvain contenant une larve d'abeille. La préférence dont l'acarien fait preuve pour les abeilles-nourrices plutôt que pour les larves (KRAUS, 1993, Ledoux *et al.*, 2000) suggère que les stimuli provenant d'une autre source que le couvain même sont impliqués dans le processus d'invasion de cellules. À part les larves, les cellules de couvain contiennent aussi quelques milligrammes de nourriture larvaire, fournie par les abeilles-nourrices aux larves dans leur période de développement ; en effet, l'acarien, après être entré dans la cellule, touche son fonds est resté piégé dans la gelée larvaire (Ifantidis, 1988).

L'attraction que la nourriture larvaire exerce sur les faux bourdons a été une hypothèse prise en considération dès 1985 (ISSA *et al.*, 1985); MILANI et CHIESA (1991) ont montré que la nourriture larvaire influence la reproduction de *V. destructor*.

Dans la présente étude, on fait connaître les résultats d'une recherche où nous avons examiné l'effet que la nourriture larvaire a sur le comportement de l'acarien, dans le but de vérifier le rôle qu'elle joue dans le processus d'invasion de la cellule. Quelques résultats de cette étude ont été communiqués aussi par NAZZI *et al.* (2001).

Matériel et méthodes

Le matériel biologique

Les larves d'abeilles et les acariens qu'on a utilisés tout au long des expérimentations sont provenus de colonies non traitées d'*Apis mellifera*, élevées à Udine (dans le nord-est de l'Italie). Les acariens et les larves ont été pris dans des cellules de couvain operculés 15 heures avant la désoperculation proprement dite (0-15 PC). Les larves du cinquième stade avant la désoperculation (15 BC) ont été extraites manuellement des cellules de couvain pas encore désoperculées. La nourriture larvaire a été extraite à l'aide d'une spatule, des cellules de faux bourdons contenant des larves au quatrième ou au cinquième stade et maintenue à -20°C, dans des ampoules fermées, jusqu'à l'utilisation.

La bioexpérimentation

On a procédé à la réalisation d'une bioexpérimentation pour étudier dans des conditions de laboratoire les stimuli impliqués dans le processus d'invasion des cellules. Celle-ci a consistée dans l'observation d'une zone sur la lamelle en verre ressemblant à celle utilisée par ROSENKRANZ (1993), ayant quatre godets (à 7 mm en diamètre et 8 mm en profondeur), équidistants (1 cm) par rapport au centre (Figure 1). Le traitement a été appliqué pour deux godets opposés, les autres deux étant utilisés comme contrôle. Une larve a été mise dans chacun des godets. Au début de l'analyse, une femelle adulte d'acarien a été mise au centre de la zone, sa position étant observée toutes les 5 minutes, pendant une période de 30 minutes. Les lamelles ont été gardées dans une petite armoire à 35°C et 75% l'humidité relative, pendant toute la durée de la bioexpérimentation. On a utilisé vingt lamelles à la fois. Les tests ont été repris dans des journées différentes.

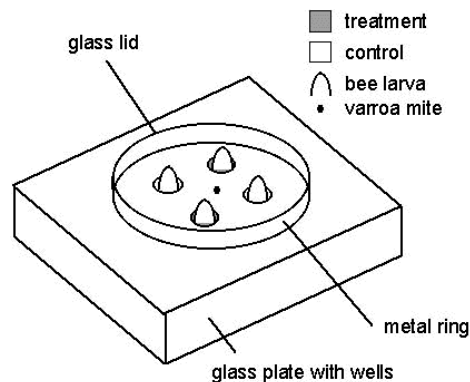


Fig. 1 – La plaque utilisée pour le bioexpériment

- (en haut, à gauche) couvercle en verre
 (en haut, à droite) traitement
 contrôle
 larves
 femelle d'acarien
 (en bas, à droite) anneau métallique
 (en bas, au centre) lamelle en verre à godets

Les expérimentations effectuées

(a) L'âge des larves

En vue de vérifier l'efficacité de la bioexpérimentation et de sélectionner le plus propice âge des larves employées pour la bioexpérimentation, on a déroulé une bioexpérimentation préliminaire, pendant la

quelle on a étudié l'attraction manifestée par l'acarien envers les larves d'abeilles ayant deux âges différents. On a réalisé cela en plaçant une larve 15 BC dans deux godets opposés et une larve 0-15 PC dans les deux autres qui sont restés.

(b) *La nourriture larvaire*

On a examiné aussi l'effet probable de la nourriture larvaire sur le comportement de l'acarien, en traitant deux godets opposés avec 10 mg de nourriture larvaire, pendant que les autres n'ont pas été traités, étant utilisés comme contrôle. Dans tous les godets on a mis des larves 0-15 PC.

(c) *Les extraits de nourriture larvaire*

Pour vérifier l'hypothèse selon laquelle l'activité biologique de la nourriture larvaire dépend de certaines substances chimiques qu'elle contient, la nourriture larvaire a été extraite avec deux solvants différents, les extraits étant examinés pendant toute la durée de la bioexpérimentation.

La nourriture larvaire a été extraite avec de l'acétone et du diethyl et analysée à une concentration de 10 mg équivalent de nourriture larvaire en 10 l de solvant, pour chaque godet traité; on a appliqué 10 l de solvant dans les godets de contrôle. On a mis des larves 0-15 PC dans tous les godets.

L'analyse statistique des données

Pour chacune des lamelles, on a calculé combien de fois l'acarien *Varroa* a été observé dans les godets traités et dans ceux de contrôle, ceci pendant une période de 30 minutes, le calcul étant ultérieurement utilisé comme base dans l'analyse statistique. Les résultats des traitements et des contrôles d'un set de données préétablies ont été comparés par l'intermédiaire du test avec des spécimens arbitraires (MANLY, 1991; SOKAL și ROHLF, 1995). Dans ce cas, la distribution arbitraire a été de nouveau soumise pour 10^6 fois au prélèvement de spécimens à l'aide d'un programme sur l'ordinateur, spécialement conçu dans ce but.

Résultats

(a) *L'âge des larves*

On a trouvé plus d'acariens dans les godets qui contenaient des larves des cellules désoperculées (15 BC) que dans les godets contenant des larves des cellules operculées (0-15 PC) ($P=0,016$) (cf. Tableau 1).

Tableau 1

Réaction de *V. destructor* chez les larves ayant des âges différents. La somme des résultats provenant de 20 acariens des godets contenant une larve au cinquième stade (15), ou une larve provenant d'une cellule operculée (0-15 PC). *P* représente la signification statistique de la différence observée.

Réplication	15	0-15	<i>P</i>
1	33	8	0,027
2	36	36	0,521
3	37	32	0,418
4	40	16	0,066
5	33	12	0,067
6	32	24	0,333
Total	211	128	0,016

(b) *La nourriture larvaire*

Le nombre des acariens trouvés dans les godets traités avec de la nourriture larvaire a été de façon significative plus grand ($P < 0,001$) que celui observé dans les godets de contrôle (cf. Tableau II).

Tableau II

Réaction de *V. destructor* à la nourriture larvaire et les extraits de celle-ci. On présente aussi la somme des résultats des godets traités et de ceux de contrôle.

***P* représente la signification statistique de la différence observée.**

Traitement	Réplifications	Traités	Contrôle	<i>P</i>
Nourriture larvaire	5	249	54	$<0,001$
Nourriture larvaire - extrait en éther	8	152	56	$<0,001$
Nourriture larvaire - extrait en acétone	4	110	22	$<0,001$

(c) Les extraits de nourriture larvaire

Aussi bien l'extrait de nourriture larvaire en éther que celui en acétone ont eu comme effet une réaction significative de la part de *V. destructor*, manifestée par le fait que le nombre des acariens qui ont choisi les godets traités a été nettement différent ($P < 0,001$, dans les deux cas) par rapport au nombre enregistré dans les godets de contrôle (cf. Tableau II).

Discussions

Les acariens *Varroa* utilisés dans notre bioexpériment ont eu des réactions plus intenses chez les larves du cinquième stade avant la désoperculation que chez les larves des cellules operculées. Cela pourrait être dû à la présence de certains composés actifs sur la cuticule des larves du cinquième stade, mais pourrait aussi bien être lié aux composés actifs présents dans la cuticule larvaire, à cause de sa contamination avec des substances comprises dans la cellule, à savoir la nourriture larvaire. De toute façon, le résultat de l'expériment a confirmé l'efficacité du bioexpériment et a influencé le choix des larves moins actives 0-15 PC, pour les expériment suivants, consacrés à tester l'activité biologique des stimuli non larvaires

Lors du test de la nourriture larvaire pendant le bioexpériment, on a observé une réaction claire de la part de *V. destructor*; l'activité biologique des extraits démontrant que l'effet observé est dû aux substances sémiologiques contenues dans la nourriture larvaire même et non à d'autres indices non spécifiques (comme l'humidité, par exemple).

Les résultats montrent que les indices de nature chimique, provenant d'une autre source que l'hôte, sont impliqués dans le processus d'invasion des cellules par l'acarien *Varroa*, fait qui pourrait paraître un peu inattendu. Pour que les indices chimiques aient cette fonction, ils doivent être fiables, indiquant clairement à l'observateur la présence et la disponibilité de l'hôte; en effet, les stimuli identifiés jusqu'à présent dans la cuticule larvaire manquent cette demande spécifique, étant largement répandus à l'intérieur de la ruche. De l'autre côté, la nourriture larvaire a une composition distinctive, et inclut aussi quelques hydroxy-acides (LERCKER *et al.*, 1994).

L'isolement des substances sémiologiques responsables de l'activité biologique de la nourriture larvaire a ouvert la voie vers leur identification. Cela pourrait contribuer à une plus profonde compréhension de la biologie de l'acarien et suggère de nouvelles méthodes pour combattre le parasite.

RÉFÉRENCES

- Aumeier P., Rosenkranz P. (1995) Welche Faktoren der Bienenlarvenkutikula beeinflussen die Wirtsfindung der *Varroa*-Weibchen, *Apidologie* 26, 327-329

- Boot W.J., Calis J.N.M., Beetsma J. (1992) Differential period of *Varroa* mite invasion into worker and drone cells of honey bees, *Exp. Appl. Acarol.* 16, 295-301
- Ifantidis M.D. (1988) Some aspects of the process of *Varroa jacobsoni* mite entrance into honey bee (*Apis mellifera*) brood cells, *Apidologie* 19, 387-396
- Issa M.R.C., De Jong D., Gonçalves L.S. (1985) Étude sur la preference de l'acarien *Varroa jacobsoni* pour les faux bourdons d'*Apis mellifera*, Proc. XXXth Congr. Apicult., Nagoya, 1985, Apimondia Publishing House, Bucharest, 168-170
- Kraus B. (1993) Preferences of *Varroa jacobsoni* for honey bees (*Apis mellifera* L.) of different ages, *J. Apic. Res.* 32, 57-64
- Le Conte Y., Arnold G., Trouiller J., Masson C., Chappe B., Ourisson G. (1989) Attraction of the parasitic mite *Varroa jacobsoni* to the drone larvae of honeybees by simple aliphatic esters, *Science* 245, 638-639
- LeDoux M.N., Pernal S.F., Higo H.A., Winston M.L. (2000) Development of a bioassay to test the orientation behaviour of the honey bee ectoparasite *Varroa jacobsoni*, *J. Apic. Res.* 39, 47-54
- Lercker G., Vecchi M.A., Piana L., Nanetti A., Sabatini A.G. (1994) Composition de la fraction lipidique de la gelée de larves d'abeilles reines et ouvrières (*Apis mellifera ligustica* Spinola) en fonction de l'âge des larves, *Apidologie* 15, 303-314
- Manly B.F.J. (1997) Randomization, bootstrap and Monte Carlo methods in biology, Chapman & Hall, London
- Milani N., Chiesa F. (1991) Some stimuli inducing oviposition in *Varroa jacobsoni* Oud, Proc. Intern. Symp. Recent research on bee pathology, Gent 1990, Ritter W. ed., Apimondia, Bucharest, 27-33.
- Nazzi F., Milani N., Della Vedova G., Nimis M. (2001) Semiochemicals from larval food affect the locomotory behaviour of the varroa mite, *Apidologie*, 32, 149-155
- Rickli M., Guerin P.M., Diehl P.A. (1992) Palmitic acid released from honeybee worker larvae attracts the parasitic mite *Varroa jacobsoni* on a servosphere, *Naturwissenschaften* 79, 320-322
- Rickli M., Diehl P.A., Guerin P.M. (1994) Cuticle alkanes of honeybee larvae mediate arrestment of bee parasite *Varroa jacobsoni*, *J. Chem. Ecol.* 20, 2437-2453
- Rosenkranz P. (1993) Biotest zur Untersuchungen des Wirtsfindenverhaltens von *Varroa jacobsoni*, *Apidologie* 24, 486-488
- Sokal R.R., Rohlf F.J. (1995) Biometry: The Principles and Practice of Statistics in Biological Research, Freeman and Co., New York, 3rd ed.