

La sélection, une solution durable contre *Varroa*

Pour faire face à la menace que représente *Varroa* pour les colonies d'abeilles domestiques et les apiculteurs, les méthodes de lutte se sont concentrées jusqu'à présent sur la mise au point de traitements « anti-*Varroa* » : principalement des traitements chimiques à base d'acaricides, d'huiles essentielles ou encore d'acides organiques. Cependant, ces méthodes connaissent actuellement des limites significatives. En effet, l'acarien devient résistant à certains acaricides et ces molécules peuvent également contaminer les produits de la ruche (tels que le miel ou les cires) et l'environnement direct des abeilles. L'efficacité des traitements est, en outre, remise en question de plus en plus fréquemment.

Dans ce contexte, il y a un besoin urgent de développer de nouvelles solutions pour lutter contre le parasite *Varroa*. Sur le long terme, l'existence de colonies d'abeilles capables de développer naturellement des stratégies de défense contre le varroa, et donc de survivre à une infestation de l'acarien, représente la solution la plus prometteuse.

Pourquoi sélectionner VSH ?

Les caractères de résistance à *Varroa*

Les recherches menées depuis l'apparition du varroa sur *Apis mellifera* ont permis de mettre en évidence

plusieurs voies de résistance aboutissant à une diminution de la pression *Varroa* chez certaines colonies d'abeilles. Ces caractéristiques impliquent des défenses comportementales ou le contrôle de la reproduction des acariens :

- **interruption du cycle de reproduction des varroas** : ce caractère qui limite la croissance des populations de varroas dans une colonie est appelé SMR (*Suppressed Mite Reproduction*). Cette limitation du succès reproductif de *Varroa* peut s'expliquer à son tour par différentes adaptations, comme la réduction de l'attractivité des larves aux varroas, la taille des cellules de couvain, la diminution de la durée d'operculation, la diminution de la période de disponibilité du couvain et le contrôle de la fertilité des varroas.
- **comportement d'épouillage** : les abeilles peuvent se nettoyer elles-mêmes et nettoyer leurs congénères. Ces moyens de défense peuvent se traduire en endommageant des varroas phorétiques mais ce comportement est peu présent chez *Apis mellifera*.
- **comportement hygiénique spécifique au *Varroa*** : désoperculation des cellules et élimination du couvain parasité par *Varroa* (voir figure). Ce comportement a été nommé *Varroa Sensitive Hygiene* (VSH) (Harris 2005). Le nettoyage du couvain infesté par le biais de comportement VSH n'entraîne pas nécessairement la mort des acariens contenus dans les cellules, car très souvent ils s'échappent

(Boecking et Spivak 1999). Cependant, le comportement VSH interrompt la reproduction des acariens dans la cellule cible et diminue la probabilité que les varroas qui s'échappent réalisent des cycles de reproduction ultérieurs.

Certaines nourrices sont capables de détecter différenciellement le couvain infesté du couvain sain. Dans le cas où le couvain est infesté, la cellule est désoperculée et le contenu nettoyé. La nymphe d'abeille est ainsi tuée, mais la reproduction du varroa est stoppée. Sur le long terme, cela ralentit la croissance de la population varroa, sans pour autant impacter significativement celle de la colonie.

Comment choisir un critère de sélection anti-varroa ?

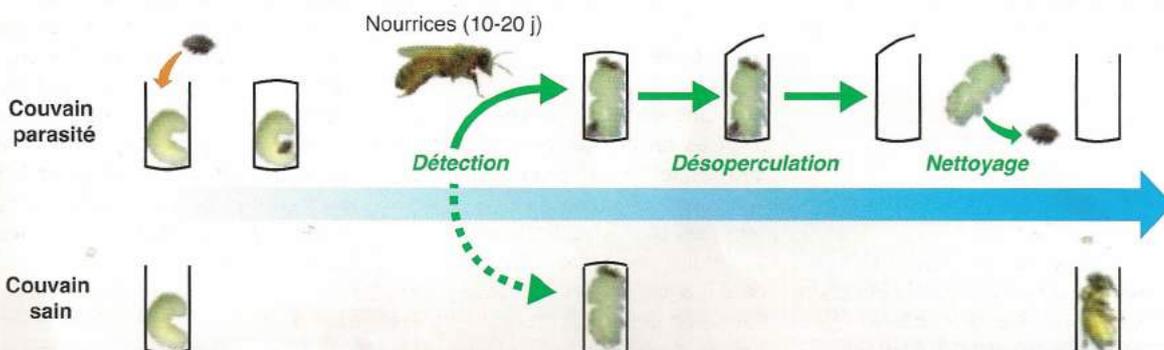
D'une manière générale, lorsqu'un sélectionneur souhaite augmenter la fréquence d'un caractère dans sa population, il va utiliser un critère de sélection à la fois pertinent vis-à-vis de l'objectif, mesurable de manière fiable et le moins coûteux possible.

Par exemple, si l'on souhaite augmenter la production de miel, le plus pertinent et facile à mesurer est la production d'une colonie, par pesées. Des critères plus fins comme la quantité de nectar par abeille, la rapidité du vol etc...sont liés à ce caractère mais ne vont pas être les seuls facteurs pour progresser et sont beaucoup plus complexes à mesurer.



© ADAPI

Figure. Schéma descriptif des différentes étapes constituant le comportement VSH.



Avec cette approche pragmatique, le caractère « taux de croissance de la population de varroas » semble être le critère de sélection le plus pertinent, car le plus proche du résultat final recherché (avoir une infestation assez faible pour ne pas affecter la colonie). Il peut être atteint, quel que soit le caractère sous-jacent à la résistance de la colonie (VSH, épouillement, résistance du couvain...). Une colonie présentant une croissance faible de la population de varroas sera plus intéressante à sélectionner pour produire la génération suivante. Ce critère peut apparaître d'autant plus intéressant qu'il est relativement simple à mesurer.

Malheureusement, le phénomène d'infestation d'une colonie est complexe et affecté par de nombreux facteurs qui ne sont pas suivis et / ou maîtrisés par les apiculteurs. Sélectionner des colonies sur ce seul critère semble assez peu efficace, car la valeur obtenue pour une colonie n'est pas nécessairement représentative de la valeur génétique de la reine, donc des qualités transmises à ses descendants.

C'est pourquoi actuellement, passer par des critères de comportement

ou d'adaptations physiologiques, plus complexes à mesurer mais plus fiables, permet de s'assurer de sélectionner des reproducteurs possédant naturellement la génétique recherchée. L'insémination de reines par un seul mâle permet aussi d'avoir une meilleure connaissance de la génétique évaluée.

Les sélections testées sur la résistance au varroa

Depuis le milieu des années 90, différents programmes de sélection ont été conduits par les instituts de recherche pour développer des populations d'abeilles résistantes spécifiquement au varroa. Voici une présentation des principales expériences :

- Les « abeilles russes » - *Russian HoneyBee* : mené par l'USDA de Bâton Rouge (États-Unis) sous la supervision de Tom Rinderer dès les années 1990, ce programme était la première tentative à long terme pour obtenir des colonies d'abeilles résistantes à *Varroa*. Les reines provenaient de l'Extrême-Orient russe, à la frontière entre les aires de répartition d'*Apis mellifera* et d'*Apis cerana*. Cette dernière espèce ayant une relation hôte-parasite équilibrée avec le varroa, une meilleure

résistance était attendue dans les colonies (Rinderer, de Guzman et al., 2001). Une augmentation plus lente de la population d'acariens en comparaison à d'autres colonies a été d'ailleurs montrée dans ce programme (De Guzman, Rinderer et al., 2007). Cependant, les tentatives plus récentes pour transférer ces colonies aux apiculteurs ont révélé une production en miel plus faible dans ces colonies (Rosenkranz, Aumeier et al., 2010).

- Le Bond test - *live and let die* : à la même période plusieurs initiatives européennes notamment en France et en Suède se sont concentrées sur une méthode de sélection naturelle consistant à conserver les colonies capables de survivre malgré l'absence de traitements. Des études ultérieures sur le potentiel de résistance de ces colonies ont montré des résultats prometteurs, mais jusqu'à présent, aucune de ces populations n'a été transférée massivement aux apiculteurs, principalement par manque de certitudes sur leur potentiel de production et sur leur capacité à résister à *Varroa* sans un suivi conséquent sur le long terme.
- Le Test hygiénique : à l'université du Minnesota (États-Unis), le programme mis en place par Marla Spivak dans les années 1990

La mesure du VSH (comportement hygiénique d'élimination du couvain parasité)

Concrètement, la mesure du critère VSH se réalise selon les étapes suivantes :

- récupérer un cadre de couvain operculé récemment dans une ruche fortement infestée en varroas ;
- évaluer précisément le niveau d'infestation de ce cadre en désoperculant 200 cellules et en comptant le nombre de varroas trouvés ;
- introduire ce cadre dans la ruche à tester ;
- récupérer le cadre 7 jours après ;
- ouvrir et compter de nouveau 200 cellules.

La différence du taux d'infestation des cellules operculées est attribuée au comportement dit VSH. Ce protocole nécessite d'avoir des colonies pourvoyeuses de varroas, ce qui est compliqué en début de saison et d'autant plus si le cheptel est sélectionné sur sa résistance à *Varroa*...

La mesure du SMR (suppression de la reproduction des varroas)

La mesure de ce critère SMR se déroule ainsi :

- récupérer un cadre de couvain fermé avec des nymphes âgées dans la colonie à tester,
- ouvrir des cellules infestées et, en fonction du stade de la nymphe, du stade et du nombre des varroas trouvés dans la cellule, déterminer si la femelle varroa fondatrice est en capacité de réaliser un cycle de reproduction complet ou non (par exemple une nymphe operculée depuis 8 jours et infestée par une femelle varroa devra avoir au moins un descendant mâle et un descendant femelle au stade deutonymphe pour être considéré comme reproductrice).

Le nombre de cellules à ouvrir dépend du taux d'infestation en varroas de la colonie (dans le cas où la colonie est très faiblement infestée, il pourra être nécessaire d'infester artificiellement la colonie avant de faire les observations). Il faut analyser, au minimum, 30 cellules infestées ce qui, selon le taux d'infestation et le nombre total de cellules à ouvrir peut prendre plusieurs heures.

était basé sur le test hygiénique « classique » de nettoyage du couvain mort (Spivak 1996; Boecking et Spivak 1999). Les colonies fortement hygiéniques (ayant un taux de nettoyage élevé et rapide) présentaient un bon niveau de résistance contre les maladies du couvain comme la loque américaine et le couvain plâtré. Cependant, leur capacité de résistance vis-à-vis de *Varroa* est discutée, car elle semble plus faible que celle des colonies spécifiquement élevés pour le comportement VSH (Ibrahim et Spivak 2006 ; Danka, Harris et al., 2013). Les recherches ont montré que les mécanismes contribuant à un comportement hygiénique général et le comportement VSH pourraient se chevaucher partiellement, mais ont probablement certaines composantes distinctes. Le test du « couvain tué » ne semble donc pas un outil adapté pour la sélection des colonies résistantes au varroa (Danka, Harris et al., 2013).

Le programme de sélection SMR/VSH de l'USDA

En parallèle des études mentionnées ci-dessus, John Harbo et Jeffrey Harris de l'USDA de Bâton Rouge (États-Unis) ont démarré un programme avec l'identification de colonies capables de limiter la croissance de la population de varroas (Harbo et Hoopingarner, 1997). Les reines testées ont été introduites en paquets d'abeilles, puis les colonies ont été infestées artificiellement en varroas de manière homogène et suivies sur la croissance de la population de varroas. Plusieurs caractéristiques ont été testées (durée d'operculation, test du couvain congelé, toilettage et taux de varroas non reproducteurs) dans toutes les colonies. La non-reproduction des varroas est ressortie comme le principal caractère, corrélé avec la croissance de la population de varroas. Ce caractère a été nommé SMR (*Suppressed Mite Reproduction*) (Harris, Harbo et al., 2003). Jusqu'au début des années 2000, les lignées ont donc été sélectionnées pour augmenter ce pourcentage de varroas non reproducteurs dans le couvain.



© ITSAP-Institut de l'abeille

En 2005, une étude a permis d'attribuer cette baisse de fertilité chez les varroas à l'élimination des varroas reproducteurs des cellules infestées par le comportement VSH (Harbo et Harris 2005). C'est pour cette raison que le terme VSH a remplacé celui de SMR pour ce programme de sélection (Harris 2007).

Transfert en Europe

La mise en œuvre d'une sélection sur le caractère VSH est très lourde et complexe, à la fois en termes de compétence et de matériel, mais surtout en raison du temps de testage nécessaire pour chaque colonie et la nécessité de disposer de colonies fortement infestées, pourvoyeuses de varroas. De plus,

comme pour toute sélection, il faut un nombre important de colonies testées pour que la sélection soit efficace : elle ne peut donc pas être prise en charge directement par un apiculteur sélectionneur, étant donné la très faible rentabilité de ce travail à court terme. Ce travail pourrait être pris en charge de par des équipes de recherche, mais les différents instituts de recherche européens ont suivi d'autres pistes jusqu'à présent.

La possibilité de transfert direct de la sélection faite aux États-Unis par envoi de reproducteurs est légalement impossible car, pour des raisons sanitaires, il est interdit d'importer du matériel biologique apicole, sperme compris, des États-Unis vers les pays européens.

Le laboratoire de recherche de l'USDA de Bâton rouge

Basé à Bâton Rouge (Louisiane), le laboratoire de recherche sur l'élevage, la génétique et la physiologie des abeilles est le plus ancien sur cette espèce de l'USDA (l'institut de recherche publique en agriculture des États-Unis).

Actuellement, une vingtaine de personnes y travaillent dont 6 scientifiques. Ils ont notamment la responsabilité de deux projets de sélection d'envergure sur *Varroa* : celui sur les abeilles VSH mais également celui basé sur les abeilles d'origine russe.

Le souhait clairement exprimé de l'USDA est de transférer complètement cette sélection aux apiculteurs, bien que la diffusion de la génétique VSH se fasse déjà au travers de plusieurs éleveurs. Cependant, l'intégration partielle de génétique VSH issue de Bâton rouge dans leur cheptel ne dissuade pas à l'heure actuelle les apiculteurs américains de traiter les colonies contre *Varroa*.

Du point de vue du jeune institut qu'est ITSAP-Institut de l'abeille, ce qui nous est apparu remarquable, est le temps laissé à autant moyens humains pour mener à bien ces projets de longue haleine.



En 2012, grâce à une autorisation d'importation du Luxembourg, un groupe d'apiculteurs luxembourgeois, belges et français, a pu intégrer de la semence VSH en provenance des États-Unis (USDA) dans son cheptel. Ce groupe, en réseau depuis longtemps autour de la sélection de Buckfast, est récemment appuyé sur ce projet par la fondation hollandaise Arista Bee Research. Les reines inséminées par la semence VSH ont été testées via un protocole simplifié de SMR (avec ouverture d'un petit nombre de cellules infestées) et les descendants présentant les meilleurs résultats ont été conservés. Cette démarche est extrêmement intéressante dans la perspective de fournir des reines de cette origine résistantes à *Varroa* aux apiculteurs. Pour autant, en sélection, il est primordial de garder une vision à long terme et de veiller à conserver une diversité génétique importante. Pour cela, il est important de considérer deux points :

- Intégrer la résistance à *varroa* sur toutes les populations en sélection

qui le souhaitent afin de ne pas restreindre très rapidement les reines diffusées à quelques origines. En France, cela ira de concert avec la volonté des apiculteurs de disposer d'une diversité importante dans les types d'abeilles utilisées.

- Ne pas se focaliser uniquement sur un caractère de résistance mais considérer tous les caractères d'intérêt pour les apiculteurs.

Perspectives pour la France

Le frein majeur au développement de la sélection VSH à grande échelle vient de la difficulté d'évaluer la capacité VSH d'un large groupe de colonies. Pour impacter d'avantage la filière apicole et développer la sélection du potentiel de résistance à grande échelle (sur un nombre suffisant de colonies et en maintenant une diversité génétique forte), il apparaît stratégique d'orienter les efforts vers le développement de nouvelles techniques et outils de mesure du caractère, fiables et moins lourds à mettre en œuvre.

C'est l'objet des projets en cours de construction, issus d'une collaboration entre l'INRA et l'ITSAP-Institut de l'abeille. Ceux-ci font suite à deux actions lancées en 2014 :

- le recrutement par l'INRA de Fanny Mondet, qui venait de soutenir sa thèse sur les interactions hôte-parasite entre l'abeille et *Varroa destructor* notamment au niveau des virus et du comportement VSH, pour développer des recherches sur *Varroa* ;

- le démarrage de la station expérimentale de l'ITSAP-Institut de l'abeille à Avignon, offrant un support idéal aux expérimentations sur le sujet VSH. En effet, le premier objectif de cette station était de tester des nouvelles méthodes et critères de sélection, particulièrement pour la résistance à *Varroa*.

De nombreuses collaborations ont également été mises en place avec les équipes de recherche spécialisées sur le sujet :

- les équipes de l'UMT PrADE ont rencontré l'équipe de Bob Danka au laboratoire de l'USDA de Bâton rouge afin de mieux prendre en main le protocole de mesure et les méthodes de sélection associées ;
- à l'heure actuelle, plusieurs laboratoires européens (dont l'UMT PrADE) réunis dans le cadre de CoLoss définissent un protocole commun de mesure du comportement VSH afin de l'appliquer de manière homogène sur différentes populations européennes pour en connaître la variabilité sur ce critère. Fanny Mondet (INRA) participe à l'animation de ce projet. Bien que nommé « VSH », ce protocole se rapproche d'avantage du SMR, car les partenaires devront contrôler le taux de *varroas* reproducteurs dans un cadre des colonies testées.

L'objectif final des projets de l'UMT est de proposer des outils et méthodes de sélection. Pour cela les premières pistes suivies portent sur la mise au point de marqueurs génétiques de la résistance et sur la simplification du test VSH. Ces travaux nécessitent de disposer de colonies présentant un niveau élevé de VSH pour tester différentes hypothèses en comparaison de colonies non résistantes. Pour anticiper ce besoin, avec la collaboration de l'USDA et avec l'appui du ministère de l'agriculture, l'UMT PrADE a obtenu une autorisation exceptionnelle d'importation de semence VSH et les premières expérimentations à Avignon vont donc démarrer au printemps 2016.

Contacts : Benjamin Basso,
benjamin.basso(a)itsap.asso:fr et
Fanny Mondet, fanny.mondet(a)
paca.inra.fr

