

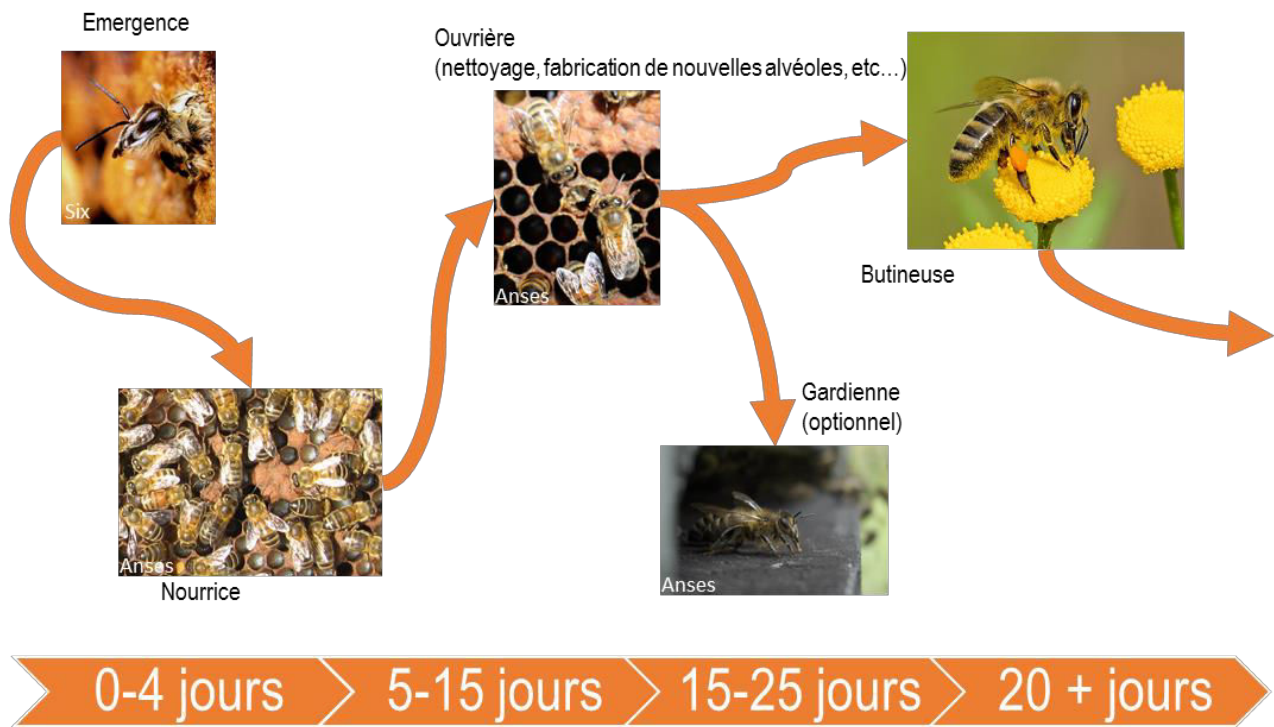
---

## L'abeille, insecte soci

L'abeille domestique, *Apis mellifera* L., est un insecte eusocial de l'ordre des Hyménoptères, vivant en groupes structurés en castes. L'espèce est organisée en colonies de plusieurs milliers d'individus (entre 10 000 et 50 000) (Winston, 1987) autour d'une seule reine (seule femelle fécondée de la colonie, capable d'une reproduction sexuée). La reine, lorsqu'elle pond des œufs fécondés, produit des femelles qui se différencieront en ouvrières ou en d'autres reines selon le régime alimentaire qui sera apporté aux larves. La reine peut également pondre des œufs non fécondés, qui par parthénogénèse donneront des mâles, ou faux-bourdons (figure 1). Toutefois et en cas de perte de la reine, les ouvrières sont également capables de produire des faux-bourdons par parthénogénèse, mais cette issue est sans avenir pour la colonie (alors dite bourdonneuse) qui périra (Winston, 1987). Pendant le stade larvaire, la future reine est élevée par les ouvrières qui la nourrissent uniquement de gelée royale jusqu'à operculation de l'alvéole, à l'inverse les futures ouvrières ne sont supplémentées en gelée royale que les 3 premiers jours puis reçoivent ensuite du pollen et du nectar ou du miel.

Au sein de la colonie, les ouvrières sont organisées selon un polyéthisme d'âge : une division du travail en fonction de leur âge (figure 2). Les ouvrières les plus jeunes nettoient les alvéoles précédemment occupées par leurs consœurs (3-4 premiers jours), puis elles deviennent nourrices des larves et de la reine (5-10 jours), productrices de cire pour operculer les alvéoles, responsables de l'hygiène et/ou puis gardienne (11-22 jours) et enfin deviennent pour certaines gardiennes (10-15%) gardiennes et ensuite, ou directement, butineuses jusqu'à leur mort, qui survient environ 25 à 30 jours après l'émergence pour les abeilles nées entre avril et septembre (Winston, 1987).

Les abeilles « d'hiver », nées des dernières pontes en septembre - octobre, possèdent une physiologie différente qui leur permet de survivre tout l'hiver pour maintenir la ruche à une température permettant la survie de la reine, pour la nourrir, puis afin de s'occuper du nouveau couvain au retour des beaux jours (Winston, 1987).



D'après Clément, 2011 ; photographies libres de droits , sauf précisé

Figure 2 : Le polyéthisme d'âge chez *Apis mellifera*

## 2) Importance des pollinisateurs

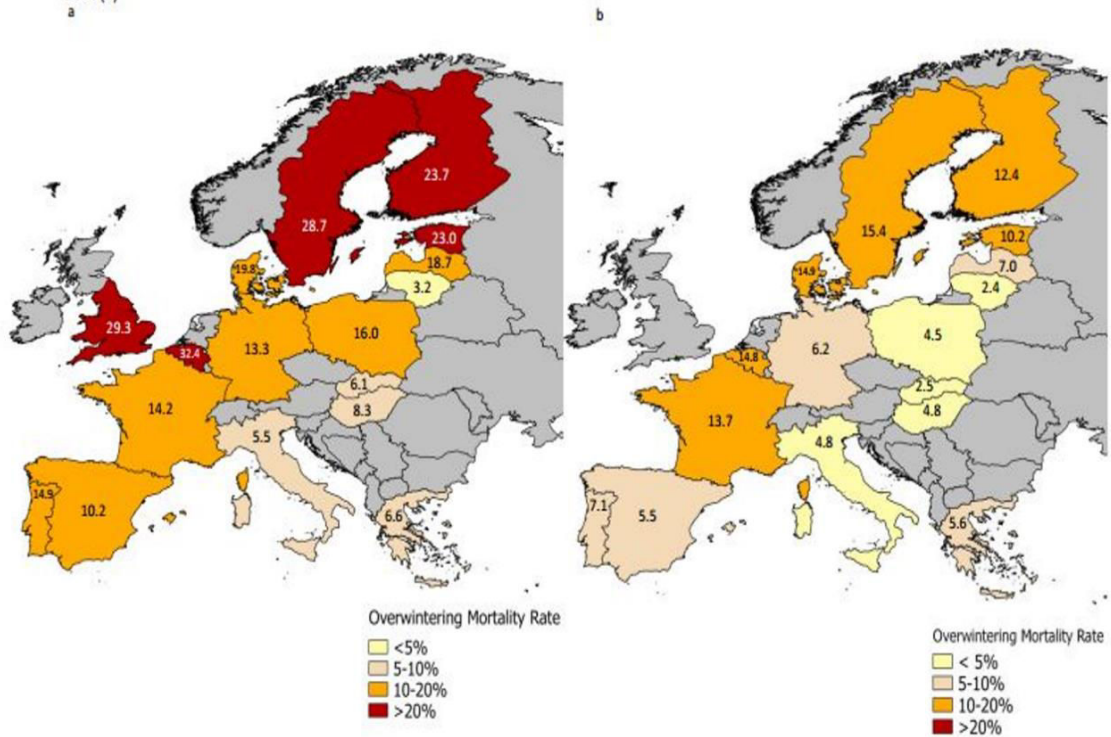
En qualité d'insecte pollinisateur domestique, *A. mellifera* a pris une place considérable dans l'agriculture mondiale, au point que le seul continent où elle n'a pas été importée est l'Antarctique (Winston, 1987). Elle est utilisée par l'homme non seulement pour produire de la cire ou du miel depuis le Néolithique (Roffet-Salque et al., 2015), mais aussi pour sa grande capacité de pollinisation de diverses plantes à fleurs (sous-ordre : *Angiospermes*) (Aston and Bucknall, 2009) comme pollinisatrice de cultures. La demande en services de pollinisation pour l'agriculture est en augmentation constante (Aizen and Harder, 2009). Notamment aux Etats-Unis, une partie des apiculteurs n'utilise plus les abeilles pour produire du miel mais surtout pour le service de pollinisation qu'elles offrent, transhumant leurs ruches d'une région de monoculture à une autre, et ce à travers tout le continent Nord-Américain (Morse and Calderone, 2000).

La pollinisation des plantes entomophiles par les insectes est reconnue comme cruciale (Gallai et al., 2009), et est donc récemment devenue un sujet d'étude important visant à évaluer l'apport de ces derniers à la production de fruits, légumes, noix et enfin graines pour la propagation ou la création de cultures et le maintien de variétés florales. On peut citer Williams, 1994, qui estimait que 84% des 264 cultures les plus importantes en Europe dépendent au moins jusqu'à un certain point de la pollinisation animale (presque exclusivement des insectes) pour leurs productions. Klein et al., 2007 ont calculé à partir de données de 200 pays que les pollinisateurs étaient absolument essentiels pour 13 des 107 plus importantes cultures mondiales en fonction de leur type. En outre, 30 autres de ces cultures étaient très dépendantes des pollinisateurs, 27 modérément dépendantes, 21 légèrement dépendantes, 7 peu dépendantes, et enfin de dépendance aux pollinisateurs inconnue pour 9 d'entre elles. En effet, certaines des cultures les plus répandues n'ont effectivement aucun besoin de pollinisation animale, pouvant être reproduites de façon végétative ou être anémogames (se dit de plantes dont la pollinisation s'effectue par le vent, par exemple les céréales, riz et maïs).

Cependant, la fraction de cultures dépendantes de la pollinisation dans l'agriculture augmente beaucoup plus rapidement que n'augmente le nombre de colonies domestiques (45% d'augmentation de la population d'abeilles domestiques contre 300% d'augmentation

Overwintering colony mortality (winter 2012 – 2013 and winter 2013 – 2014)

Figure 1: Winter colony mortality rates in the Member States of the European Union recorded in EPILOBEE 2012 – 2013 (Revised map) (a) and EPILOBEE 2013 – 2014 (b)



Seasonal colony mortality (spring – summer 2013 and spring – summer 2014)

Figure 2: Seasonal colony mortality rates in the Member States of the European Union recorded in EPILOBEE 2012 – 2013 (Revised map) (a) and EPILOBEE 2013 – 2014 (b)

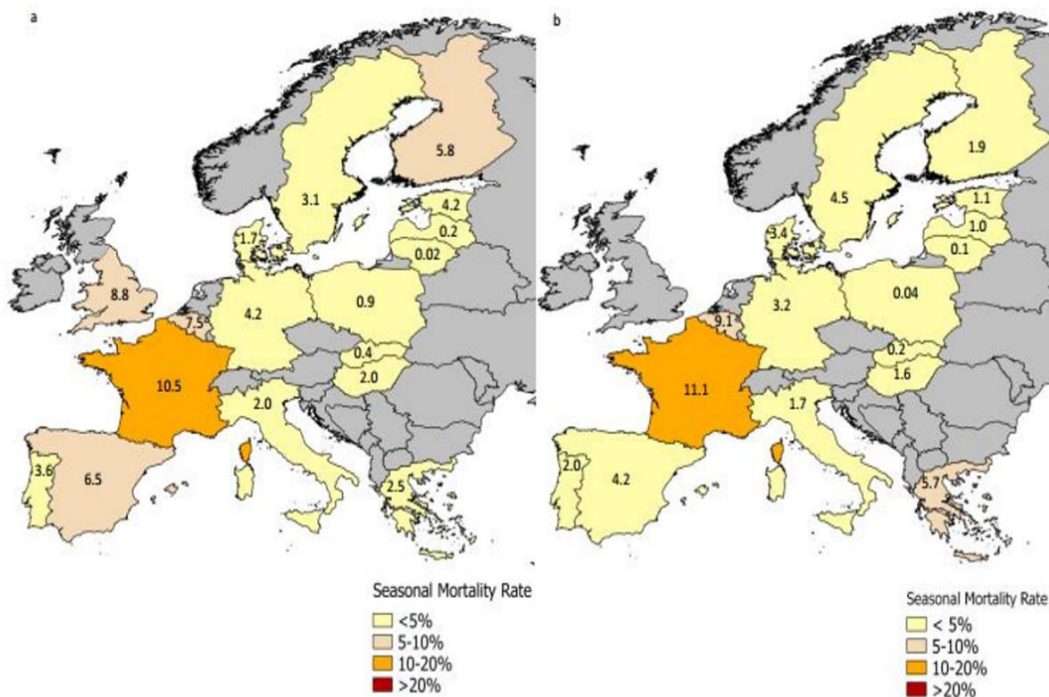


Figure 3 : Taux de mortalité en sortie d'hivernage et saison apicole en Europe (EPILOBEE (Laurent et al., 2015))

de la fraction de cultures dépendantes de la pollinisation dans les 50 dernières années (Aizen and Harder, 2009; Breeze et al., 2014)).

L'abeille domestique, *Apis mellifera*, n'est pas forcément le meilleur pollinisateur pour toutes les cultures, et n'est pas non plus le seul insecte indispensable à une pollinisation efficace (Garibaldi et al., 2016); cependant dans un contexte de déclin sévères des insectes pollinisateurs sauvages (Goulson et al., 2015), l'abeille domestique, avec sa répartition globale et sa domesticité, pourrait devenir encore plus précieuse par sa capacité de pollinisateur généraliste et son potentiel de remplacement d'autres espèces locales en diminution. Cependant, il a été démontré qu'une plus grande richesse en diversité des pollinisateurs permettait d'améliorer le rendement des cultures de petites exploitations ; pour les grandes cultures, une richesse très élevée est indispensable à un bon rendement (Garibaldi et al., 2016).

### 3) Les affaiblissements et pertes de colonies d'abeilles domestiques

Comme un certain nombre d'autres organismes, les pollinisateurs subissent, depuis le dernier demi-siècle notamment, un fort déclin caractérisé par une réduction à la fois de leur répartition et de leur nombre inter et intra-espèce (Goulson et al., 2015).

Une très grande partie des cultures exploitées par l'homme pour se nourrir dépend donc de la pollinisation par les insectes. Smith et al., 2015 ont modélisé l'impact d'une perte totale des pollinisateurs (abeille domestique comprise) à l'échelle mondiale sur la nutrition humaine, et conclu que les réserves globales en fruits seraient diminuées de 22,9%, en légumes de 16,3% et en graines et fruits à coques de 22,1% ; entraînant de façon directe la mort de 1,42 million de personnes par an, sans compter les morts indirectes dues à l'aggravation de conditions préexistantes. Ce scénario, très alarmiste, devait surtout servir à souligner l'importance de la pollinisation animale dans le monde et pour l'alimentation humaine en général.

L'abeille domestique elle-même subit de fortes pertes. Ces pertes sont toutefois plus faciles à déterminer, en termes de colonies, grâce à leur importance socio-économique, et à une plus grande facilité de suivi dans le temps, puisque ces colonies sont relativement

pérennes. Des suivis dans le temps ont été effectués par un grand nombre de pays (Laurent et al., 2015a; Lee et al., 2015). Cependant, cette importance socio-économique peut entraîner

des biais dans l'évaluation du nombre de colonies au cours du temps. En effet, le nombre de colonies est en général fortement lié au nombre d'apiculteurs. En Europe et aux Etats-Unis, où de forts déclin en nombre de colonies ont été enregistrés (baisse de 16% du nombre de colonies entre 1985 et 2005), il a été rapporté un déclin concomitant du nombre d'apiculteurs (baisse de 31% du nombre d'apiculteurs entre 1985 et 2005 (S. G. Potts et al., 2010b)). Les apiculteurs peuvent néanmoins eux même compenser les pertes en augmentant leur nombre de colonies. Il faut également noter que le nombre de colonies d'*Apis mellifera* dans le monde est en augmentation, avec une augmentation de 45% dans le monde entre 1960 et 2010 ; mais une diminution de 25% en Europe et de 57% aux Etats-Unis (VanEngelsdorp and Meixner, 2010).

Nonobstant ces causes socio-économiques, un phénomène de fortes mortalités d'abeilles et de pertes de colonies existe bel et bien. En Europe sur l'hiver 2012-2013, il a été rapporté de forts pourcentages (jusqu'à 29,3% au Royaume Uni par exemple) de pertes de colonies par les apiculteurs en sortie d'hivernage (Laurent et al., 2015), supérieurs aux taux naturels attendus de 10 à 15%, mais également en 2013-2014 des pertes élevées en saison (10,5% en France) (Laurent et al., 2015) (figure 3). Il est d'autant plus important d'étudier ces pertes puisque les autres pollinisateurs sont en déclin -et que peu de colonies d'*Apis mellifera* sauvages ou « férales » subsistent encore dans la nature (Goulson et al., 2015; S. Potts et al., 2010; S. G. Potts et al., 2010a).

Un phénomène de disparition des abeilles de leur ruche a été décrit en 2007 aux Etats-Unis (Oldroyd, 2007), puis rapporté également par des apiculteurs Européens (Dainat et al., 2012c). Décrit sous les termes de Colony Collapse Disorder (CCD), il se caractérise principalement par un nombre extrêmement réduit d'ouvrières adultes dans la ruche, malgré la présence de la reine, des réserves de nourriture et du couvain. N'ayant plus une population suffisante pour subvenir à ses propres besoins, la ruche finira par mourir ou sera éliminée par l'apiculteur.

Lors de l'hiver 2007, des pertes atteignant de 50 à 90% des colonies de différents ruchers ont été enregistrées (Cox-foster et al., 2007), voire jusqu'à 100% des colonies pour certains

(Oldroyd, 2007). De telles disparitions avaient déjà été observées dans l'histoire (i.e. en 950 puis en 1443 en Irlande, en 1903 ou en 1995 aux USA) mais sans être aussi extrêmes que la disparition totale de colonies observées début 2007 (Oldroyd, 2007). Des pertes de colonies correspondant aux syndromes de CCD sont régulièrement observées depuis cette date.

Le CCD, ainsi que les fortes pertes hivernales ou en saison observées en Europe, ne peuvent être expliquées par une seule cause spécifique, et serait le résultat d'un stress multifactoriel agissant sur les colonies (Goulson et al., 2015; Oldroyd, 2007; S. G. Potts et al., 2010a).

#### 4) Les facteurs de stress de l'abeille domestique

##### a) Qu'est-ce qu'un facteur de stress ?

Tout organisme fait partie d'un environnement, dont il dépend et avec lequel il interagit. La définition biologique d'un stress est l'ensemble des réponses d'un organisme à une ou des pressions de son environnement (Romero, 2004). Par extension, la contrainte elle-même peut être qualifiée de stress. L'abeille domestique peut subir simultanément ou successivement plusieurs stress, qui peuvent être communs à tous les pollinisateurs ou spécifiques à *A. mellifera*, en tant qu'insecte social ou en rapport avec sa condition d'animal domestique.

L'environnement peut exercer sur les organismes différentes pressions, biotiques, par la présence de pathogènes et/ou de parasites par exemple, ou abiotiques, comme la température ambiante. Dans un contexte d'environnement changeant et impacté par l'action directe ou indirecte de l'homme (par exemple le réchauffement climatique, l'urbanisation, les pratiques agricoles), les stress causés par l'environnement peuvent s'accroître et se multiplier.

##### b) Les différents facteurs de stress

Plusieurs études concordent pour définir les stress qui accablent les pollinisateurs en général et l'abeille domestique en particulier (Goulson et al., 2015 ; Potts et al., 2010a)(récapitulés dans la figure 5 en fin de ce paragraphe) :

- La perte d'habitats
- Le réchauffement climatique
- La faible diversité des ressources en nourriture
- Les pratiques agricoles, les pesticides
- Les parasites et pathogènes
- Les pratiques apicoles

La perte d'habitats (principalement pour les pollinisateurs sauvages) est causée principalement par l'action de l'homme, avec l'urbanisation et l'agriculture intensive qui réduisent la disponibilité en lieux de nidification et les espaces de butinage (Goulson et al., 2015; S. G. Potts et al., 2010a). La perte d'habitats est également liée au réchauffement climatique, qui est défini comme un stress en soi, puisque le réchauffement peut influencer sur la distribution spatiale des espèces de plantes (Bertin et al., 2008). Par exemple, certaines plantes parmi les moins adaptées à la chaleur ont disparu du pourtour Méditerranéen français au cours des 150 dernières années (Lavergne et al., 2006).

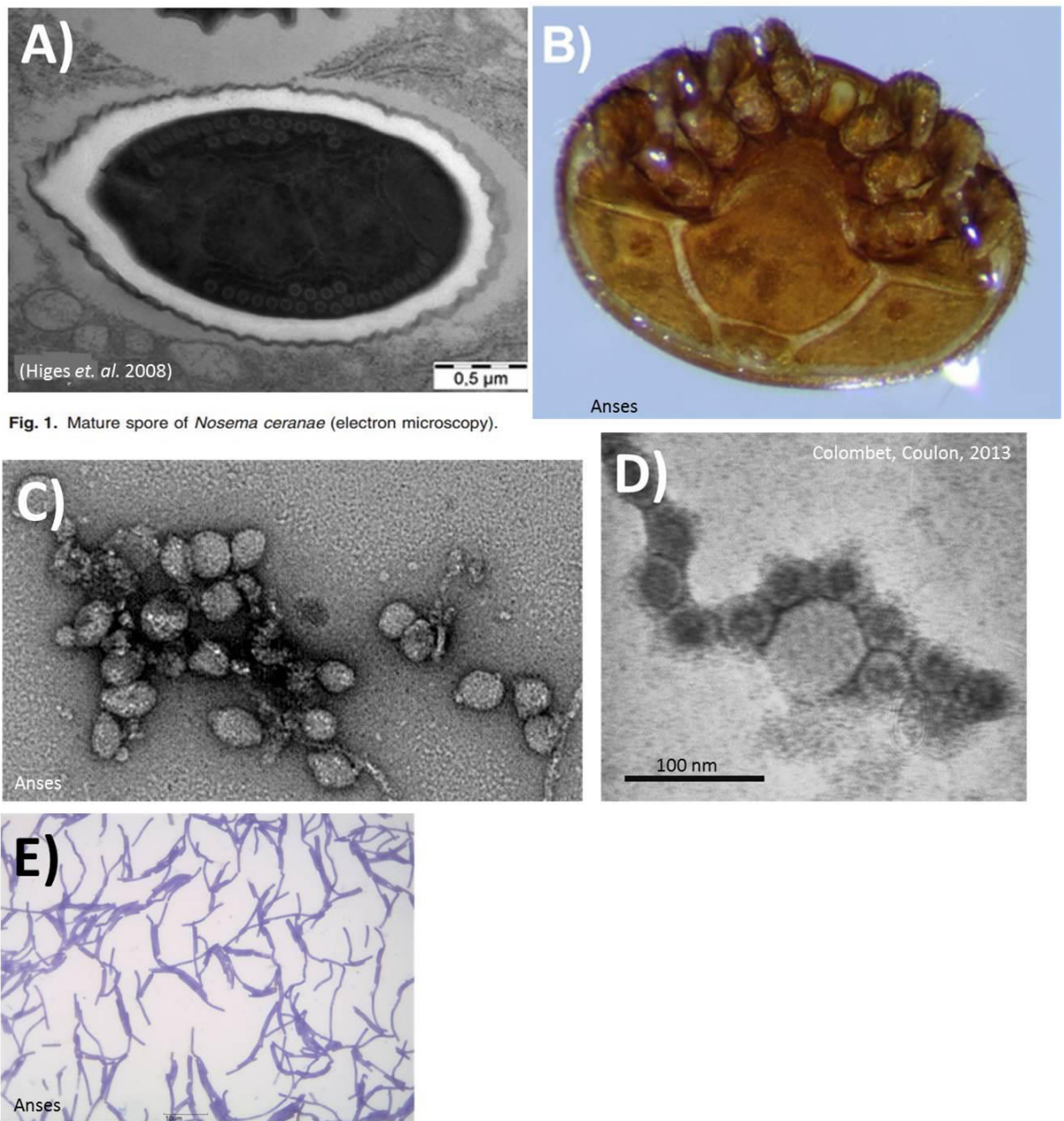
Le réchauffement climatique peut déjà être considéré comme étant un stress lui-même, mais il a d'autres effets. Ainsi, il pourrait à plus ou moins long terme causer un décalage dans la phénologie (cycles de vie) entre les pollinisateurs et les plantes dont ils sont dépendants, diminuant encore les chances de nidifications pour certaines espèces, mais également les ressources, et ce pour tous les pollinisateurs (Fitter, 2002; Goulson et al., 2015; Rasmont et al., 2015). Par exemple il a été observé en Espagne une émergence plus précoce des abeilles domestiques, sous l'action des températures plus douces, que le début de floraison de certaines fleurs qu'elles visitent au printemps (Gordo and Sanz, 2006). Le décalage pourrait également être spatial, avec des espèces de plantes dont le préférendum climatique se déplacerait différemment de celui des pollinisateurs (Bertin et al., 2008), diminuant les ressources florales à la base de l'alimentation des abeilles domestiques et sauvages. Enfin, le réchauffement climatique serait la cause d'événement climatiques et météorologiques exceptionnels de plus en plus fréquents, tels que tempêtes, crues, et sécheresses, qui ont un impact direct sur les colonies ou sur leurs ressources en nourriture (Goulson et al., 2015).

La faible disponibilité en ressources florales est accentuée par les monocultures intensives et l'utilisation d'herbicides (pratiques agricoles). Pour *A. mellifera*, un régime peu



varié peut entraîner des problèmes de malnutrition (Huang, 2012). En effet, les abeilles ont besoin d'un apport en pollen de sources variées afin d'avoir accès à tous les nutriments qui leurs sont indispensables. Un manque de disponibilité des ressources peut être observé dans l'espace, avec un manque de plantes mellifères ou produisant du pollen à proximité des ruches, ou dans le temps, après par exemple la fin de floraison des monocultures intensives auxquelles sont exposées les abeilles (par exemple : colza et tournesol). La malnutrition a été observée comme pouvant influencer le système immunitaire. Ainsi, une alimentation plus riche en pollen (Huang, 2012) ou diversifiée (Alaux et al., 2010b) entraînera une résistance accrue des abeilles aux pathogènes (Di Pasquale et al., 2013; Huang, 2012; Wilson-Rich et al., 2008).

Les pratiques apicoles peuvent entraîner un stress directement causé par l'apiculteur sur les colonies. Une pratique très répandue est la transhumance des ruches. Elle consiste à déplacer les ruches pour leur fournir un environnement adapté (ressources florales en abondance), et/ou réaliser un service de pollinisation. Aux Etats-Unis, ces transhumances sont pratiquées de manière intensive puisque les apiculteurs américains déplacent leur ruches d'un bout à l'autre du continent, pour proposer leurs services de pollinisation à diverses cultures intensives, notamment les amandiers de Californie (Morse and Calderone, 2000; Oldroyd, 2007). S'ajoute donc au stress du confinement dû au transport un stress nutritionnel potentiel dû aux monocultures exclusives, et un risque d'exposition aux pesticides utilisés sur ces cultures intensives (Goulson et al., 2015 ; Oldroyd, 2007). Outre la transhumance, les échanges d'essaims ou de reines entre les pays, à l'échelle mondiale, peuvent provoquer encore une fois un stress lié au transport, mais surtout propager des pathogènes et des parasites, avec pour conséquence l'émergence de nouvelles maladies. Le cas le plus notable est le transfert entre hôtes d'espèces différentes effectué par l'acarien *Varroa destructor*, entre son hôte d'origine, *Apis cerana*, l'abeille asiatique (également domestique), et *Apis mellifera*, l'abeille européenne, à la fin des années 1960 (Mondet and Le Conte, 2015; Rosenkranz et al., 2010). Aujourd'hui ce parasite a conquis presque tous les ruchers du globe, à l'exception de quelques espaces isolés (îles, et l'Australie (Forsgren et al., 2012; Martin et al., 2012; Mondet et al., 2014). Finalement, les échanges ont également comme conséquence de déplacer les abeilles d'une même espèce d'un écosystème à un autre, pouvant être extrêmement différents, dans un temps très court. Les sous espèces d'*A. mellifera* ont chacune leur spécificité, et leur propre préférendum écologique ; déplacer une espèce dans un milieu auquel elle n'est pas adaptée peut la rendre plus sensible aux conditions climatiques, aux pathogènes, etc...



**Fig. 1.** Mature spore of *Nosema ceranae* (electron microscopy).

Figure 4 : Quelques un des parasites et pathogènes qui infectent l'abeille domestique.

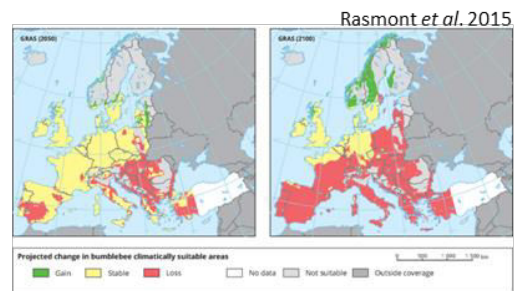
A) *Nosema ceranae*, microscope électronique (Higes et al., 2008b), B) *Varroa destructor*, microscope optique, vue ventrale (Anses) ; C) CBPV observé au microscope électronique (Anses), D) petits virus de 30 nm de forme icosaédrique, structure des virus de l'ordre des *Picornavirales* (Jonathan Colombet & Marianne Coulon, photographie prise en 2013) , E) *Paenibacillus larvae*, bactérie responsable de la loque américaine (maladie du couvain) (Anses)

(Garnery et al., 1998). L'introduction de nouvelles espèces d'abeilles domestiques peut également conduire à l'hybridation des espèces introduites avec les abeilles endémiques à un environnement et à la diminution voire la perte de certaines caractéristiques intéressantes pour les apiculteurs. C'est le cas des abeilles africanisées, hybrides d'*Apis mellifera mellifera* et *Apis mellifera scutellata*, introduite accidentellement en Amérique du Sud : les abeilles africanisées sont plus agressives, moins efficaces pour la pollinisation et produisent moins de miel (Rinderer et al., 1991; Scott Schneider et al., 2004).

Une autre cause a été mise en évidence par une étude à l'échelle européenne (EPILOBEE) : en Europe, les petits ruchers des apiculteurs amateurs présentent des mortalités deux fois plus fortes que ceux des apiculteurs professionnels (Jacques et al., 2017). Ceci serait dû à un manque de formation et à des pratiques mal adaptées, par exemple une capacité limitée des amateurs à reconnaître les signes cliniques des maladies suffisamment en amont et à les traiter ou à engager des mesures de prophylaxie dans le cas de maladies pour lesquelles il n'existe pas de traitement (virus, etc). Ces problèmes seraient statistiquement un des facteurs les plus importants dans les mortalités hivernales en Europe (Jacques et al., 2017).

Enfin, un des deux facteurs majeurs de stress, le plus régulièrement incriminé dans les affaiblissements et pertes de colonies, qu'elles soient domestiques ou sauvages, est l'utilisation de pesticides par l'homme. Les pesticides, qui regroupent principalement des herbicides, fongicides et insecticides, ont déjà été démontrés comme étant nocifs pour les abeilles, que ce soit en provoquant des mortalités massives ou des effets sublétaux, c'est-à-dire ne provoquant pas la mort de l'individu mais des effets comportementaux, de sensibilisation accrue à d'autres stress, des problèmes d'apprentissages et de développement des colonies. Ces effets seront développés dans le paragraphe n°6.

Le deuxième facteur de stress le plus souvent cité regroupe les pathogènes et parasites (figure 4). Chez l'abeille domestique, il existe un grand nombre de pathogènes et/ou de parasites différents, allant d'acariens parasites (*Varroa destructor*, *Acarapis woodi*), en passant par les bactéries (loques : *Paenibacillus larvae* et *Melissococcus plutonius*), les champignons (*Ascophaera apis*) et plus précisément des microsporidies (*Nosema apis* et *ceranae*), et enfin les virus (*Deformed wing virus*, *Israeli acute paralysis virus*). Le parasite



Réchauffement climatique

Monocultures, perte de diversité



Facteurs abiotiques et anthropiques

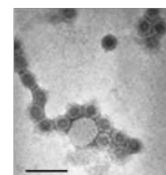
Pesticides



Pratiques apicoles



Virus, bactéries



Facteurs biotiques



Parasites/pathogènes

*Varroa destructor, Nosema sp.*

D'après Potts *et al.*, 2010 et Goulson *et al.*, 2015, European Environment Agency, Rasmont *et al.* 2015

Figure 5 : Les facteurs de stress s'appliquant à l'abeille domestique

intestinal *Nosema ceranae*, tout comme *Varroa*, a commencé à infecter *Apis mellifera* à cause d'un transfert d'hôte, son hôte original étant encore une fois l'abeille asiatique *Apis cerana*. *N. ceranae* est connue comme pouvant réduire de manière très significative la longévité des abeilles (Higes et al., 2008a), affecter leur immunité (Antúnez et al., 2009; Chaimanee et al., 2012; Dussaubat et al., 2012), impacter leur butinage (Alaux et al., 2014), ainsi que causer des stress énergétiques (Mayack and Naug, 2009). *N. ceranae*, notamment, a été reliée à des pertes de colonies (Higes et al., 2009, 2008a), comme l'a également été *Varroa destructor* (Dainat et al., 2012a, 2012c). Les virus et leurs effets seront également décrits plus en détail paragraphe n°5.

## 5) Les virus

### a) Généralités

Parmi tous les pathogènes qui infectent l'abeille domestique, les virus sont de plus en plus étudiés. Les virus ont longtemps été considérés comme n'étant pas des organismes vivants (Forterre, 2010; Knipe and Howley, 2006; Villarreal, 2004). En effet, ils ne possèdent pas de noyau, ne sont pas capables de se reproduire par eux-mêmes, et les plus élémentaires ne sont constitués que d'un acide nucléique et d'une capsid protéique. Ils sont cependant capables de se multiplier en infectant les cellules d'un hôte et en utilisant la machinerie de transcription et traduction de ces cellules. Ils évoluent au cours du temps, parfois extrêmement vite comparé à d'autres organismes, grâce à leurs petits génomes et à la caractéristique de leurs polymérase qui les rend plus susceptible de faire des erreurs lors de la réplication du génome – notamment chez les virus à ARN (Guyader and Giblot-Ducray, 2004); cette même caractéristique les rend capables de se recombiner entre virus proches lorsque plusieurs variants infectent une même cellule, voire même d'échanger du matériel génétique par réassortiment pour les virus à génome segmenté (Knipe and Howley, 2006). Il existe des virus pathogènes, mais aussi des virus dont l'infection n'a aucun symptôme délétère connu sur l'organisme. Certains virus peuvent s'intégrer au génome de leur hôte (rétrovirus) pour être ensuite libérés et recommencer à se répliquer ultérieurement. Il existe également des virus pouvant être considérés comme bénéfiques (Knipe and Howley, 2006). Ainsi, l'intégration d'un rétrovirus a eu une importance capitale dans l'évolution des mammifères en leur permettant de produire certaines protéines indispensables pour le développement du placenta, et a permis l'évolution

d'animaux ovipares en animaux placentaires (Dupressoir et al., 2012; Knipe and Howley, 2006).

Ces éléments nous permettent de considérer les virus comme des organismes vivants, et plus précisément comme des acaryotes (organismes sans noyau) parasites intracellulaires obligatoires, puisqu'ils ont besoin d'infecter une cellule pour se répliquer.

#### b) Les virus de l'abeille

On dénombre au moins 31 virus de l'abeille domestique décrits dans la littérature (Remnant et al., 2017). La plupart d'entre eux sont des virus à ARN simple brin positif, mais il existe également des virus à ADN (*Filamentous virus* et *Iridovirus*), ainsi que, découverts récemment, des virus à ARN simple brin négatif (deux *Rhabdovirus* et deux *Bunya-like virus*) (Remnant et al., 2017). A l'exception des virus de type *Lake Sinai virus* et du *Chronic bee paralysis virus* (CBPV), les virus à ARN simple brin positif qui infectent l'abeille font partie de l'ordre des *Picornavirales*, qui regroupe des virus avec des petits génomes non segmentés qui ont tous une structure proche. Cependant, seulement une dizaine des 31 virus décrits sont à l'heure actuelle connus pour développer des symptômes visibles tels que des mortalités de couvain ou d'adultes, des paralysies, ou des ailes déformées, par exemple.

La présence de certaines de ces infections a été corrélée à des pertes de colonies, le *Deformed wing virus* (DWV) principalement lié à des pertes hivernales (Dainat et al., 2012a; Desai and Currie, 2016; Genersch et al., 2010; Highfield et al., 2009; VanEngelsdorp et al., 2013), et l'*Israeli acute paralysis virus* (IAPV) au CCD aux Etats-Unis (Cox-foster et al., 2007).

Une infection apparente, avec des signes cliniques visibles et définis, peut être déclenchée par différents facteurs, tels que la transmission du virus par *Varroa* pour les DWV et les virus du complexe AKI (comprenant les très proches *Acute bee paralysis virus* (ABPV), *Kashmir bee virus* (KBV) et IAPV)(Carreck et al., 2010; Möckel et al., 2011); le *Varroa* peut également multiplier le DWV et sélectionner des variants spécifiques plus ou moins virulents (Martin et al., 2012). Certains pesticides sont également suspectés de pouvoir, par leur effet négatif sur le système immunitaire, déclencher ces infections apparentes et ce qui pourrait

aggraver voire déclencher des surmortalités ; cela a été observé en laboratoire (Di Prisco et al., 2013; Sánchez-Bayo et al., 2016). Les facteurs déclenchant les symptômes d'une infection virale dans les colonies ne sont donc pas encore réellement connus.

Cependant, il existe également des symptômes tels que des effets comportementaux ou la réduction de durée de vie des abeilles qui sont difficiles à observer sur le terrain, que ce soit par les apiculteurs ou les vétérinaires, (Benaets et al., 2017). Les virus de l'abeille domestique ont également la particularité d'infecter les colonies sans développer forcément de signes cliniques visibles ni de mortalités chez les abeilles infectées (Aubert et al., 2008). Ces types d'infections peuvent être rapportées à la notion de « porteurs sains » tant au niveau de la colonie que des individus qui la composent : les abeilles sont infectées, le virus est présent mais ne se multiplie pas dans des proportions suffisantes pour que les symptômes se développent. Pour caractériser ces infections, les termes d'infection inapparente, apparente, latente, chronique, persistantes, ne font pas toujours chez l'abeille référence aux vraies définitions de la virologie stricte, basées sur des découvertes au niveau moléculaire, *in vivo* et *in vitro* (de Miranda and Genersch (2010)). Le modèle abeille ne possédant à ce jour plus aucune culture cellulaire viable (le peu de lignées créées n'a pas fonctionné sur le long terme et était contaminée par DWV – *communication personnelle*), très peu de clones pour étudier les virus (Benjeddou et al., 2002; Lamp et al., 2016), et les études *in vivo* en étant à leur commencement, ces termes ne peuvent être appliqués de façon réaliste (de Miranda and Genersch, 2010). C'est pourquoi pour éviter toute confusion l'utilisation des termes *covert* et *overt* en anglais, utilisés pour parler des infections virales des insectes (Aubert et al., 2008, Chapitre 5), doivent être préférés à tout autre terme. Ces termes seront traduits au plus proche par « infections inapparentes » et « infections apparentes » dans la suite de ce texte.

Toujours d'après de Miranda and Genersch, 2010, une infection apparente sera caractérisée par des symptômes visibles et reliée à de fortes charges virales dans les individus. Les insectes infectés vont soit mourir de l'infection, soit survivre, et les charges virales vont ensuite diminuer. Les infections apparentes peuvent être subdivisées en infections aiguës et infections chroniques. Les infections aiguës sont de courte durée, provoquent des symptômes visibles, voire la mort. Un exemple en serait les mortalités élevées retrouvées devant les colonies lors de pics d'infection au CBPV (Rivière et al., 2010). Une infection chronique serait une infection provoquant une production de virus sur le long terme chez un individu,

**Tableau 11 : Tableau de hiérarchisation des 18 dangers des abeilles, présents en France, selon la note finale pour chaque maladie (notation avec pondération des DC définie par le groupe de rapporteurs; note finale sur 60), en précisant l'indice d'incertitude (ii) modal.**

Rang	Dangers	Note finale pondérée (sur 60)	Indice d'incertitude (ii*) modal
1	<i>Varroa destructor</i>	47,7	1
2	<i>Paenibacillus larvae</i>	47,6	1
3	DWV	37,3	1
4	<i>Vespa velutina</i>	36,0	1
5	<i>Melissococcus plutonius</i>	35,2	1
6	SBV	32,7	1
7	<i>Nosema ceranae</i>	32,6	1
8	CBPV	32,1	3
9	<i>Ascosphaera apis</i>	28,8	1
10	BQCV	28,2	1
11	ABPV	24,9	1
12	IAPV	24,9	3
13	KBV	24,9	3
14	<i>Nosema apis</i>	23,1	1
15	<i>Achroia grisella</i>	22,6	1
16	<i>Galleria mellonella</i>	21,9	1
17	<i>Acarapis woodi</i>	19,9	1
18	<i>Braula coeca</i>	17,9	1

ABPV = virus de la paralysie aiguë ; BQCV = virus de la cellule royale noire ; CBPV = virus de la paralysie chronique ; DWV = virus des ailes déformées ; IAPV = virus israélien de la paralysie aiguë ; KBV = virus du cachemire ; SBV = virus du couvain sacciforme.

\*Indice d'incertitude : 1 = faible, 2 = moyen ; 3 = haut

Figure 6: Tableau de hiérarchisation des dangers les plus importants pour la santé des abeilles et l'apiculture (ANSES, 2012)



tout au long de sa vie. Il n'y a pour l'instant pas de preuves d'infections chroniques chez l'abeille.

Une infection inapparente (de Miranda and Genersch, 2010), elle, sera définie par i) une absence de symptômes apparents (même s'il peut toujours exister un coût pour l'individu

infecté) alors que l'on retrouve des virus dans l'hôte, ii) la persistance des virus, à travers la transmission verticale, sur plusieurs générations (Burden et al., 2002; Kukan, 1999), et iii) des virus qui restent infectieux et capables de soudainement développer les infections apparentes ou *overt* décrites précédemment, sous l'influence de facteurs variés tels que ceux cités plus haut (4.b.) (Burden et al., 2003).

Sept des virus qui infectent *Apis mellifera* sont connus pour avoir une forte, voire très forte prévalence (taux de ruches ou de ruchers positifs par rapport à la population totale) en Europe et aux Etats-Unis (Tencheva et al., 2004, Genersh & Aubert, 2010, Traynor et al., 2016)(Berényi et al., 2006)(Forgách et al., 2008): les virus du complexe AKI (*Acute bee paralysis virus* (ABPV), *Kashmir bee virus* (KBV) et IAPV), le *Black queen cell virus* (BQCV), le CBPV, le DWV, et enfin, le *Sacbrood virus* (SBV)(Aubert et al., 2008; Laurent et al., 2015; Tentcheva et al., 2004)(voir ci-dessous).

### c) Le virus des ailes déformées, ou DWV

Le *Deformed wing virus* ou virus des ailes déformées (DWV) est à présent l'un des virus de l'abeille domestique les plus étudiés. Il est reconnu pour avoir un impact économique important, et ce virus est classé 3ème dans la hiérarchie des dangers établie par l'Anses des maladies à fort impact sur les abeilles et l'apiculture (après *Varroa destructor* et la loque américaine *Paenibacillus larvae*, ANSES, 2012)(figure 6).

La présence combinée de *Varroas* et du DWV est considérée prédictive des mortalités hivernales (Dainat et al., 2012a), ce qui le classe comme une des principales causes de déclin de l'abeille domestique. Des études démontrent une forte corrélation entre des taux de DWV élevés dans les abeilles avant hivernage et des pertes de colonies durant l'hiver (Dainat et al., 2012a; Desai and Currie, 2016; Francis et al., 2013; Genersch et al., 2010; Traynor et al.,



Figure 7 : Quelques signes cliniques liés au DWV.

A) abeilles aux ailes déformées et/ou atrophiées (photographies Anne Dalmon, INRA) ; B) observation d'un *Varroa* à la loupe binoculaire (photographie Anses) ; abeilles portant des *Varroas* observées sur le terrain (photographie Anne Dalmon, INRA).

2016; VanEngelsdorp et al., 2013). Le DWV, avec *Nosema ceranae*, *Varroa destructor*, et des taux bas de la protéine vitellogénine ont été reliés avec un risque élevé d'occurrences de CCD en Europe (Dainat et al., 2012b). Le DWV est le virus le plus souvent détecté des virus de l'abeille domestique en Europe (97% de prévalence en France, 91% en Autriche et 72% en Hongrie (Berényi et al., 2006; Forgách et al., 2008; Tentcheva et al., 2004). Cependant, il n'existe pas de données pour la prévalence des signes cliniques correspondant à l'infection virale, bien que les apiculteurs signalent souvent observer des abeilles à ailes déformées.

En effet, le symptôme le plus facile à observer d'une infection au DWV est la présence d'abeilles naissantes aux ailes déformées dans la ruche, à une fréquence dépendant de la période de l'année (de Miranda and Genersch, 2010a)(figure 7). Ces abeilles, qui peuvent aussi présenter des abdomens raccourcis et enflés, vont mourir dans les quelques jours suivant leur émergence. Le DWV a également un impact négatif sur la survie des abeilles infectées (Rueppell et al., 2017), ainsi que des effets sublétaux. Il cause des sorties de butinage précoces (Benaets et al., 2017), des problèmes de locomotion et des durées de vol réduites en laboratoire (Wells et al., 2016), ainsi qu'une diminution des capacités d'apprentissage et de mémorisation, et une augmentation de la sensibilité olfactive au sucre (Iqbal and Mueller, 2007).

#### *i) Structure, classification*

Le DWV est un virus à ARN simple brin positif non segmenté codant pour une seule polyprotéine qui sera ensuite clivée en protéines structurales (formant la capsid) ou non structurales (Lanzi et al., 2006; Škubník et al., 2017), intervenant notamment dans la réplication virale. Non enveloppé, il présente une capsid icosaédrique (polyèdre à vingt faces), dont la structure a été décrite récemment par Škubník et al., 2017 (figure 8). C'est un virus de la famille *Iflaviridae* et du genre *Iflavirus*. Cette famille fait partie de l'ordre des *Picornavirales*, qui peuvent infecter des hôtes très hétérogènes, des vertébrés aux plantes en passant par les insectes. Les iflavirus (dont le SBV est aussi un représentant) n'infectent que des insectes (ICTV, <https://talk.ictvonline.org>, consulté le 07/08/2017). Possédant un seul ORF (pour Open Reading Frame, cadre de lecture ouvert), ils se distinguent des virus de la famille *Discitroviridae* (avec comme représentant le BQCV). L'ARN du DWV possède une

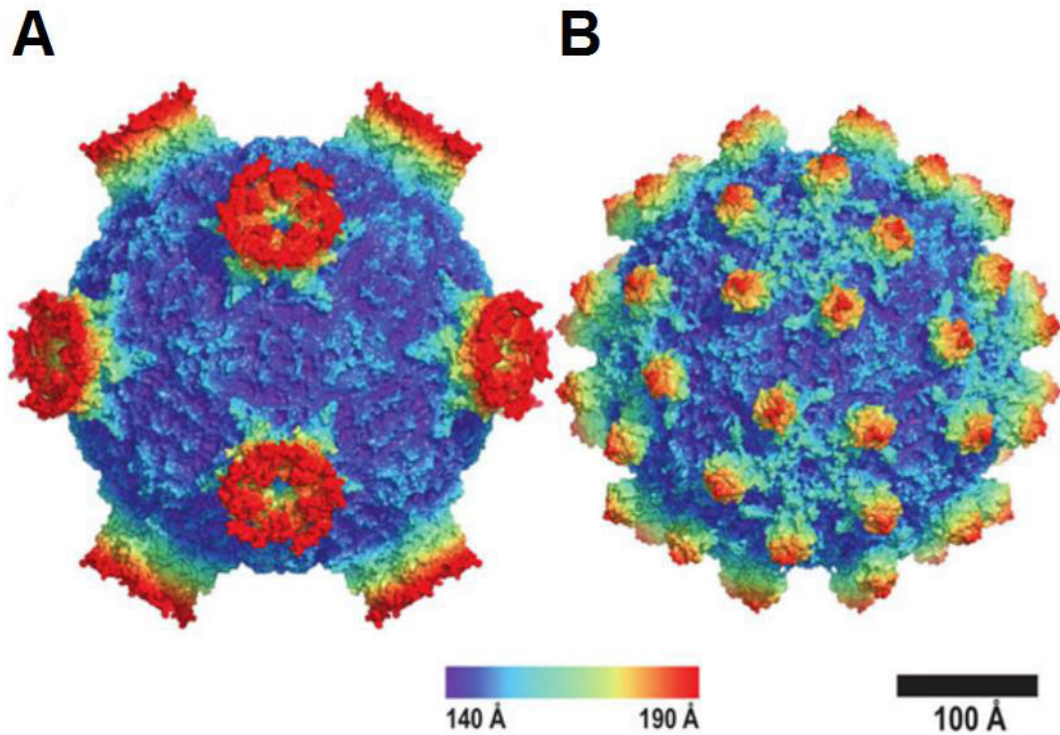


Figure 8 : La structure moléculaire de la capside du DWV (d'après Škubník et al., 2017). Il existe deux conformations alternatives en fonction du pH (A, pH neutre ; B pH bas (<5)). Les couleurs correspondent à l'éloignement de la surface par rapport au centre de la particule.

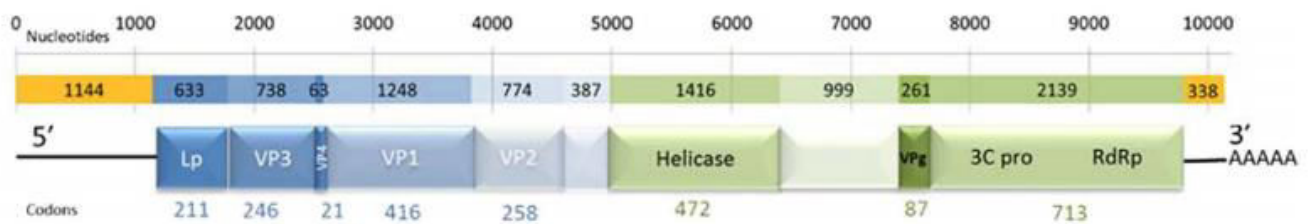


Figure 9 : La structure du génome du DWV (d'après Dalmon et al., 2017b). Le génome total fait 10 140 nucléotides. La position supposée des protéines a été adaptée de de Miranda and Genersch, 2010a. Première ligne : échelle nucléotidique ; deuxième ligne : nombre de nucléotides codant pour chaque protéine (les protéines structurales sont en bleu, les non-structurales en vert, les régions non codantes en jaune) ; troisième ligne : noms correspondants à chaque protéine ; quatrième ligne : longueur des protéines, déduites des sites protéolytiques (nombre de codons).

longue région non transcrite (UTR, untranslated region) en 5', et une autre courte mais très conservée en 3' ainsi qu'une queue poly-A (figure 9). Ces deux régions non transcrites flanquent 3 protéines structurales majeures du côté N-terminal de la polyprotéine (VP1 de 44kDa ; VP2 de 32 kDa ; et VP3 de 28 kDa), ainsi que les protéines non structurales intervenant dans la réplication des picornavirales en partie C-terminale (hélicase, une chymotrypsine-like 3C protease, et une ARN polymérase ARN dépendante) de Miranda and Genersch, 2010; Lanzi et al., 2006). Le DWV a été récemment décrit comme une quasi-espèce, regroupant plusieurs variants (A, B, ou C) dont deux (A, B) sont particulièrement répandus. Le DWV-A correspond à la séquence originelle du DWV tandis que le DWV-B correspond à ce qui il y a encore quelques années était appelé le VDV- 1, pour *Varroa destructor virus type 1*, qui formeraient un ensemble de variants de DWV (Mordecai et al., 2015). Le DWV-C n'a été identifié à ce jour que dans le Devon, UK (Mordecai et al., 2016). Plusieurs virus recombinants entre les DWV-A et B ont été observés et caractérisés. Notamment, des virus recombinants découverts en France dans des colonies résistantes au *Varroa* indiqueraient l'existence de trois hotspots (points chauds) de recombinaison : un dans le 5' UTR, un au début de la région codant pour les protéines de structure, et enfin un dernier au début de la région codant pour l'hélicase (Dalmon et al., 2017).

Le DWV a été retrouvé comme se répliquant spécifiquement dans le corps gras des reines et faux-bourçons (non testé sur ouvrières) (Fievet et al., 2006), dans les intestins (Doublet et al., 2015b) et surtout dans la tête des ouvrières dans le cas d'infections déclarées (Möckel et al., 2011; Yue and Genersch, 2005).

## ii) *Ecologie*

Le DWV peut se transmettre de façon verticale de la reine (qui peut parfois être infectée lors de l'accouplement par le mâle (Amiri et al., 2016)) aux œufs (de Miranda and Fries, 2008). Il peut également être transmis par voie orale lors de la trophallaxie, ou lorsque les nourrices détruisent les larves contaminées ou nettoient les alvéoles (Aubert et al., 2008; de Miranda and Genersch, 2010). Enfin, le vecteur majeur du DWV est l'acarien *Varroa destructor* (Bowen-Walker et al., 1999; Mondet and Le Conte, 2015).

Avant l'arrivée du *Varroa* dans les ruchers d'*Apis mellifera*, à l'exception de quelques rares signalements d'abeilles possédant des ailes déformées, le DWV était en général présent dans les ruchers, quoiqu'avec une faible prévalence, sans causer d'infections apparentes ni d'affaiblissement notable des colonies (Forsgren et al., 2012), via la transmission verticale et horizontale de virus peu virulents (Aubert et al., 2008; de Miranda and Genersch, 2010). *Varroa destructor*, en transmettant le virus aux abeilles lors de prélèvement d'hémolymphe, est en général à l'origine du développement des symptômes spécifiques du DWV, mais l'on peut observer, de façon extrêmement rare, des abeilles possédant des ailes déformées sans présence de *Varroas* (Forsgren et al., 2012). Ce développement des symptômes après inoculation du virus par le vecteur est liée à une multiplication du virus dans le *Varroa*. Le brin ARN négatif du virus, signe d'une réplication, a en effet été retrouvé dans certains *Varroas*. Les abeilles infectées par injection par *Varroa* auront donc plus de facilité à franchir le seuil de  $10^8$  copies de DWV (de Miranda and Genersch, 2010; Miranda et al., 2013) par abeille qui entraîne l'apparition des symptômes. En effet, le symptôme principal du DWV, les ailes déformées sur des abeilles naissantes, a été lié à une forte augmentation de charges injectées dans les nymphes par *Varroa*, (de Miranda and Genersch, 2010; Möckel et al., 2011). De plus, l'inoculation s'accompagne de l'injection de composés ayant un impact négatif sur le système immunitaire de l'abeille qui favorisent la multiplication du virus dans l'abeille hôte (Gisder et al., 2009; Yang and Cox-Foster, 2005). *Varroa* contribue également à la sélection de variants plus virulents (Martin et al., 2012).

C'est la faible virulence originelle du DWV qui aurait permis son association durable et effective avec le *Varroa* (de Miranda and Genersch, 2010; Genersch and Aubert, 2010). En effet, les autres virus dont *Varroa* est vecteur (ABPV, KBV, IAPV) tuent les abeilles ou les larves trop vite pour permettre une propagation optimale du parasite (Lanzi et al., 2006).

Cependant, la présence de DWV a été démontrée comme étant corrélée à 67% des pertes de colonies observées sur 5 différents ruchers, colonies qui ne présentaient pas forcément toutes une infestation élevée en *Varroa* (Highfield et al., 2009). Ceci va donc à l'encontre de la plupart des études précédentes sur le sujet (Yang and Cox-Foster, 2005; Yue and Genersch, 2005), en soulignant que le DWV seul pourrait être à l'origine de pertes. Cette différence pourrait être expliquée par une forte concentration en *Varroa* lors de l'été et du printemps, qui induirait de forts taux de DWV persistant dans les abeilles après que le traitement généralement fait à l'automne contre les *Varroas* les ait éliminés (Genersch et al., 2010).

La prévalence très élevée du DWV, associée à ses effets déjà connus sur les colonies, notamment lors de l'hivernage (Dainat et al., 2012a; Highfield et al., 2009) ainsi que les effets sublétaux individuels qu'il peut causer (Benaets et al., 2017; Iqbal and Mueller, 2007; Wells et al., 2016), en font un candidat idéal pour l'étude de la co-exposition avec un insecticide.



Figure 10 : Quelques signes cliniques liés au CBPV.

A) Abeilles mortes devant une ruche infectée par le CBPV ; B) Abeille atteinte de maladie noire (crédits photographiques : © ANSES et Jean-Paul Faucon)



d) Le virus de la paralysie chronique, ou CBPV

Le CBPV est différent des autres virus des abeilles, par son classement, sa forme, sa taille, ses symptômes et sa répartition. Ses signes cliniques sont connus depuis l'antiquité, avec notamment des abeilles noires et sans poils décrites comme des « voleuses » venues piller la ruche par Aristote (Ribière et al., 2010). Le CBPV est bien connu des apiculteurs sous le nom de maladie noire, ou de mal de mai.

Une partie des symptômes de la paralysie chronique se traduit par des abeilles ayant perdu leurs poils, ce qui leur donne un aspect très différent, et/ou ayant pris une couleur noire et un aspect brillant (Figure 8 B). Cependant les symptômes les plus caractéristiques sont des tremblements, des abeilles incapables de voler, des paralysies, et enfin une accumulation d'abeilles mortes en grande quantité devant les ruches. Ce dernier symptôme peut être confondu avec les symptômes induits par des expositions aigues aux pesticides (Johansen, 1977) (Figure 8 A).

Le CBPV est assez prévalent, notamment en France, mais ne présente qu'un faible taux de maladie déclarée (symptômes visibles communiqués par les apiculteurs) (2% de signes cliniques, EPILOBEE entre 2012 et 2014 (Laurent et al., 2015)). Ce pourcentage restant plus élevé que dans tous les autres pays suivis dans le programme. En France une étude réalisée sur 360 colonies (Tentcheva et al., 2004) a mis en évidence que 28% des ruchers étaient infectés par le CBPV, mais peu de colonies infectées (moins de 4% des colonies échantillonnées en été). En Autriche, seulement 10% des ruchers testés étaient infectés (Berényi et al., 2006) et aucun en Hongrie (Forgách et al., 2008).

Le CBPV n'appartient pas à l'ordre des *Picornavirales* contrairement à la majorité des virus qui infectent l'abeille domestique. Le CBPV n'est pas encore classifié, mais il a pour l'instant été rapproché des familles *Nodaviridae* (une famille de virus à ARN positif simple brin généralement segmentés en 2 segments, de capsidie icosaédrique, non enveloppés, infectant des invertébrés et des vertébrés, notamment des poissons) et *Tombusviridae* (une famille de virus à ARN positif simple brin en général non segmentés, de capsidie icosaédrique, non enveloppés, infectants principalement des plantes) (ICTV, <https://talk.ictvonline.org>,