

# Table des matières

Résumé .....	III
Abstract.....	V
Table des matières .....	VI
Liste des tableaux .....	IX
Liste des figures.....	XI
Remerciements.....	XV
Avant-propos .....	XVII
Introduction générale.....	1
<b>Chapitre 1: État des connaissances .....</b>	<b>3</b>
<b>1.1. L'abeille domestique .....</b>	<b>4</b>
1.1.1 Biologie .....	4
1.1.2 L'organisation de la colonie .....	6
1.1.3 La dynamique de la ruche.....	7
1.1.4 La multiplication par essaimage .....	8
<b>1.2. La problématique de l'apiculture actuelle au Québec .....</b>	<b>9</b>
1.2.1 L'apiculture en quelques chiffres .....	9
1.2.2 Des pertes de colonies importantes .....	10
1.2.3 La varroase.....	12
1.2.4 La nosémosé .....	14
1.2.5 L'accroissement de la demande du services de pollinisation.....	15
1.2.5.1 Un service précieux .....	17
1.2.5.2 Le rôle de l'abeille domestique .....	18
1.2.6 L'intensification des pratiques apicoles.....	20
1.2.7 L'importation de colonies .....	20
<b>1.3. Les solutions envisagées .....</b>	<b>21</b>
1.3.1 La production de reine avec un contrôle de la génétique.....	22
1.3.2 La production de nucléi .....	23
1.3.2.1 Les nucléi sur cadre .....	23
1.3.2.2 Les paquets d'abeilles .....	25
1.3.2.3 L'introduction des reines dans les essaims artificiels.....	26
<b>1.4. Objectifs et hypothèses de recherche.....</b>	<b>27</b>
1.4.1 Objectif général .....	27
1.4.2 Objectifs spécifiques 1 .....	27
1.4.3 Objectifs spécifiques 2 .....	28
<b>1.5. Approche méthodologique .....</b>	<b>29</b>
<b>Chapitre 2: Comparison of package bees method and nuclei methods to optimize honeybee (<i>Apis mellifera</i> L.) production.....</b>	<b>30</b>
Résumé .....	31
Abstract.....	33
<b>2.1. Introduction .....</b>	<b>35</b>
<b>2.2. Materials and Methods .....</b>	<b>36</b>

2.2.1 Biological material .....	36
2.2.2 Experimental design .....	36
2.2.3 Colony multiplication: Nucléi and package bee assembly.....	37
2.2.4 Measurement of dependent variables .....	38
2.2.5 Statistical analysis .....	39
<b>2.3. Results .....</b>	<b>39</b>
2.3.1 New colonies.....	39
2.3.2 Mother colonies.....	40
<b>2.4. Discussion .....</b>	<b>41</b>
2.4.1 New colonies.....	41
2.4.2 Mother colonies.....	44
<b>2.5. Conclusions .....</b>	<b>46</b>
<b>Acknowledgments .....</b>	<b>48</b>
<b>References .....</b>	<b>49</b>
<b>Appendices .....</b>	<b>53</b>
<b>Chapitre 3: Conclusion générale .....</b>	<b>59</b>
<b>Bibliographie .....</b>	<b>65</b>



# Liste des tableaux

Tableau 1: Avantages et inconvénients des différentes méthodes de production de nucléi .....	25
Table 1: Experimental design. ....	53



## Liste des figures

Figure 1: Les différents castes d'une colonie d'abeilles : l'ouvrière, la reine et le faux-bourdon (de gauche à droite). Extrait de Encyclopædia Britannica, inc (2006) .....	5
Figure 2: Les stades de développement de l'abeille. Extrait de Encyclopædia Britannica, inc (2013).....	6
Figure 3: Facteurs de risque potentiels liés au dépérissement des colonies d'abeille domestique. Extrait de la publication «Le dépérissement de l'abeille domestique, <i>Apis mellifera</i> L, faits et causes probables» de Haubruge & al. (2006).....	11
Figure 4: Les pertes mondiales de colonies attribuables au <i>varroa destructor</i> . Extrait de «Honeybee colony losses» de Carreck & Neumann (2010) .....	13
Figure 5: L'évolution des surfaces de culture de bleuets et de canneberges ainsi que les services de pollinisation fourni par les apiculteurs associés à ces deux cultures au Québec entre 2003 et 2014, Fait par S.Maucourt à partir de : Massicotte, 2007; Rioux & Desrochers, 2009; Massicotte & al., 2014 ; Statistique Canada, 2014.....	16
Figure 6: Surface extérieure de la patte arrière gauche d'une abeille ouvrière (A). Abeille en vol montrant la position des pattes lorsqu'elles touchent et palpent les pelotes de pollen (B). Extrait de «The behavior of the honey bee in pollen collecting» (Casteel, 1912).....	19
Figure 7: Éléments d'une ruche à cadres mobiles. Extrait de «la note technique sur la pollinisation en carotte porte graine : Notions de base sur la conduite des colonies» (Morel & Coussy, 2015). .....	24
Figure 8: Nuclei brood surface ( $\pm$ standard error) in relation to production method .....	53
Figure 9: Nuclei inter-frames occupied by bees ( $\pm$ standard error) in relation to production method. ....	54
Figure 10: Nuclei foraging activity ( $\pm$ standard error) in relation to production method. ....	54
Figure 11: Nuclei weight ( $\pm$ standard error) in relation to production method. ....	55
Figure 12: Nuclei nosema infection rate ( $\pm$ standard error) in relation to production method. ....	55
Figure 13: Mother colonies brood surface ( $\pm$ standard error) in relation to nuclei making method.....	56
Figure 14: Mother colonies weight ( $\pm$ standard error) in relation to nuclei making method. ....	56
Figure 15: Mother colonies foraging activity ( $\pm$ standard error) in relation to nuclei making method.....	57
Figure 16: Mother colonies swarming control ( $\pm$ standard error) in relation to nuclei making method.....	57
Figure 17: Varroa mite infestation ( $\pm$ standard error) in mother colonies in relation to nuclei making method. ....	58
Figure 18: Nosema infection rate ( $\pm$ standard error) in mother colonies in relation to nuclei making method. .	58

**Rapport-Gratuit.com**

*À Jojo*





# Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier ma directrice de maîtrise **Valérie Fournier** pour m'avoir accordé toute sa confiance ainsi que sa disponibilité et ses conseils tout au long de cette belle expérience qu'a été ma maîtrise. Merci également de m'avoir montré une autre approche de l'enseignement universitaire et le merveilleux monde de la recherche. Ce sont toutes ces découvertes réalisées lors d'un stage d'étude au laboratoire de Valérie qui m'ont donné l'envie de continuer mes études. Enfin, merci d'avoir cru en mon potentiel et de m'avoir permis de venir étudier au Québec, c'est une des meilleures choses qui me soit arrivée dans ma vie d'étudiante.

Je voudrais aussi remercier tout particulièrement mon co-directeur **Pierre Giovenazzo** pour m'avoir fait découvrir la recherche apicole et de m'avoir offert la chance de travailler sur ce projet de maîtrise audacieux et stimulant en lien avec ce si beau monde qu'est l'apiculture. Merci pour ta bienveillance à mon égard et ta confiance en mes capacités. J'espère pouvoir acquérir un jour dans ma carrière un optimisme aussi inconditionnel que le tien ainsi qu'une aussi grande détermination dans mon travail.

Merci à mes collègues et amis de l'Environnement, **Olivier Samson-Robert, Amélie Gervais, Phanie Bonneau, Marianne Saint-Laurent** pour leur soutien, leur aide et les fous rires autour de bières après ces longues journées de travail.

Un très gros merci à toute l'équipe du Centre de recherche en science animale de Deschambault (CRSAD), **Martine Bernier, Émile Houle, Georges Martin, Mickaël Benoit, Éric Demers** pour tout ce qu'ils m'ont appris en apiculture, c'est une chance incroyable pour moi d'avoir travaillé avec ces personnes passionnées, aux savoir-faire immenses et qui ont une réelle ambition de faire partager leur connaissance aux passionnés d'abeilles. Un merci spécial à **Andrée Rousseau**, c'est auprès d'elle que j'ai fait faire mes « premiers pas » en apiculture, et malgré des débuts un peu difficiles à cause de mon corps récalcitrant au venin d'abeille, tu as réussi à me transmettre cette passion dévorante pour les abeilles. Au point que je décide de quitter ma France natale!

Aussi, je tiens à remercier très sincèrement toutes les personnes citées ci-dessus pour leur incroyable accueil si chaleureux et typiquement Québécois. Ce n'est pas toujours évident de vivre à 6000 km de sa famille et de ses proches, mais votre bonne humeur quotidienne et votre réconfort dans les moments difficiles m'ont permis d'oublier cette distance. Merci à tous d'avoir fait de cette immersion en terre inconnue une expérience inoubliable.

Pour le support financier, je tiens à remercier le MAPAQ et le programme de soutien aux stratégies sectorielles de développement 2. Merci également au Centre de recherche en science animale de Deschambault (CRSAD) pour le support matériel et au Centre SÈVE pour une bourse de voyage.

Je tiens également à remercier **Madeleine Chagnon** et **Ernesto Guzman** qui ont accepté d'évaluer mon mémoire. Merci pour vos commentaires, conseils et suggestions toujours judicieux qui ont permis de parfaire ce manuscrit.

Merci à tous les stagiaires pour leurs aides précieuses au cours de ces deux années : **Nolween Kerhervé, Frédéric McCune, Stéphane Thibault** et un merci tout particulier à **Alex Pelletier** qui m'a assisté durant ma maîtrise et qui a sans aucun doute contribué à la qualité de l'expérimentation que je vous présente aujourd'hui grâce à son travail exceptionnel et ses idées judicieuses. Pour l'aide des analyses statistiques, je dois remercier Monsieur **David Edmond** et Monsieur **Gaétan Daigle**.

Finalement, merci à mes parents d'avoir rendu tout cela possible, de m'avoir soutenue toutes ces années dans mes études et de m'avoir fait comprendre que tout est possible, si on s'en donne les moyens. Je sais que ma décision de partir au bout du monde vous a laissé dans l'incompréhension pendant quelques temps mais merci à vous de m'avoir épaulé dans ce choix. Un très grand merci à Justine, Nathalie, Hélène, Adrien et Dame Château pour leur soutien et leurs aides inestimables pour la garde de ma Jojo et d'André le chinchilla pendant mes longs mois d'absence. Je terminerais par remercier Martin, qui a partagé indirectement cette aventure avec moi, et qui a toujours su trouver les mots pour me reconforter et me motiver au quotidien. Merci de me faire croire que tu n'es pas blasé d'entendre parler d'abeilles!

# Avant-propos

Le chapitre II de ce mémoire a été rédigé sous forme d'article scientifique en anglais et sera soumis au périodique scientifique **The Canadian Entomologist**. Cet article s'intitule "Comparison of packages method and nuclei methods to optimize honeybee (*Apis mellifera* L.) production". Il décrit l'ensemble des travaux effectués dans le cadre de ce projet de maîtrise ainsi que les principaux résultats obtenus.

La récolte des données, l'interprétation des résultats ainsi que la rédaction de l'ensemble des textes ont été réalisées par la candidate à la maîtrise, Ségolène Maucourt. Les co-auteurs sont Valérie Fournier (directrice), Ph. D., professeure d'entomologie à l'Université Laval et Pierre Giovenazzo Ph. D., professeur d'apiculture au département de biologie à l'Université Laval et chercheur au Centre de recherche de sciences animales de Deschambault. Ces derniers ont collaboré aux textes en apportant les corrections et suggestions nécessaires à l'élaboration de ce manuscrit.

# Introduction générale

Sans le savoir, en allant récolter le nectar et le pollen des fleurs, les abeilles sont responsables de la pollinisation de nombreuses espèces de plantes. Cette merveilleuse collaboration entre le monde animal et végétal est très précieuse pour l'humanité, car la pollinisation est un service écosystémique essentiel à la production végétale en agriculture. L'abeille domestique (*Apis mellifera* L.) est considérée comme la clé de voûte de la flore agricole dans notre société. En effet, elle est très largement employée pour la pollinisation des cultures et fait aujourd'hui partie intégrante de nos agro systèmes.

Au Québec, la demande en services de pollinisation auprès des apiculteurs a explosé depuis 2003. Ce phénomène s'explique principalement par l'augmentation importante des superficies de cultures de bleuets nains et de canneberges sur le territoire. Cet engouement pour la pollinisation a permis un retour en force des apiculteurs ainsi que de leur production au Québec. Toutefois, depuis quelques années, l'abeille domestique a aussi connu des taux élevés de mortalité de sa population partout dans le monde. De nombreux facteurs sont à l'origine de ces pertes de colonies et les principaux sont : l'émergence de nouveaux parasites et pathogènes, l'usage de pesticides, l'appauvrissement des ressources florales résultant de la perte de diversité végétale, les problèmes attribuables à la régie du rucher, les problèmes liés à la qualité ou à la performance des reines mais aussi les conditions environnementales difficiles. Ces pertes anormales sont une source de difficultés supplémentaires pour l'industrie apicole québécoise qui peine actuellement à combler ses pertes de colonies et qui ne peut répondre que partiellement à la demande en services de pollinisation des producteurs. L'importation d'abeilles de l'étranger permet de satisfaire la demande mais ce n'est pas une stratégie soutenable à long terme. En effet, l'importation d'abeilles est une solution coûteuse pour les apiculteurs car elle engendre des risques sanitaires importants du fait qu'elle peut occasionner l'entrée et la prolifération de maladies ou parasites étrangers sur le territoire québécois. De plus, l'importation d'abeilles entraîne l'introduction permanente de souches génétiques étrangères dans nos cheptels apicoles qui ne sont pas adaptées aux conditions climatiques difficiles de la province et qui ne permettent pas d'établir un profil génétique propre aux colonies québécoises.

Toutes ces raisons incitent l'industrie apicole québécoise à vouloir atteindre son autosuffisance en abeilles domestiques pour récupérer l'ensemble du marché économique touchant à la pollinisation. La production de nucléi semble être une solution intéressante pour atteindre cet objectif d'autosuffisance. Cependant, il existe très peu d'informations dans la littérature apicole et scientifique sur les méthodes efficaces pour produire des nucléi. Le principal objectif de ce projet est d'approfondir nos connaissances dans ce domaine et d'établir une méthodologie rigoureuse pour optimiser la production de nucléi afin d'aider les apiculteurs québécois à obtenir des colonies d'abeilles domestiques performantes pour la pollinisation des cultures de petits fruits.



# **Chapitre 1: État des connaissances**

## 1.1. L'abeille domestique

Les premières abeilles sont apparues sur le supercontinent Gondwana, qui était aussi probablement la région d'origine des plantes angiospermes (Raven & Axelrod, 1974). Les plus anciens spécimens d'*Apis mellifera* parfaitement conservés ont été retrouvés près de la mer Baltique en Prusse-Orientale et datent d'environ 50 millions d'années (Dietz, 2008). Jusqu'au XVII<sup>ème</sup> siècle, *Apis mellifera* était présente uniquement sur le vieux continent, en Europe, en Afrique et en Asie occidentale (Webster, 2005), puis elle s'est répandue à travers le monde grâce à la colonisation européenne (Louveaux, 1980). Aujourd'hui, on distingue 24 sous-espèces d'abeilles *Apis mellifera* dans le monde (Ruttner, 1975). Effectivement, cette abeille à miel possède une grande capacité d'adaptation à la flore et aux conditions climatiques dans lesquelles elle évolue. Ce qui a entraîné une diversification de l'espèce avec une multitude de sous-espèces, telle que *Apis mellifera mellifera* ou *Apis mellifera ligustica*, parfaitement adaptées aux conditions particulières de leurs régions (Louveaux & al. 1966).

L'abeille est un insecte holométabole, c'est-à-dire qu'elle possède une métamorphose complète. Cette métamorphose se déroule en 4 stades : œuf, larve, nymphe et adulte (Southwick, 2008; Winston, 1987). Les œufs, les larves et les nymphes sont des stades immatures qui correspondent au couvain (Perron, 1998).

### 1.1.1 Biologie

L'abeille domestique *Apis mellifera* est un insecte eusocial de l'ordre des Hyménoptères et de la famille des Apidae (Amdam & Page, 2010). Les abeilles vivent en colonie de 20 000 à 80 000 individus. Elles forment une société très organisée, ce qui leur permet plus d'efficacité dans de nombreuses tâches : approvisionnement en nourriture, défense contre les prédateurs, régulation de la température, etc. (Southwick, 2008).

De plus, la colonie est organisée en trois castes distinctes (Figure1) : la reine, les faux-bourçons et les ouvrières (Winston & Punnett, 1982).





Figure 1: Les différents castes d'une colonie d'abeilles : l'ouvrière, la reine et le faux-bourdon (de gauche à droite). Extrait de Encyclopædia Britannica, inc (2006)

Les ouvrières vont remplir plusieurs tâches au sein de la colonie. Ces tâches sont combinées avec des changements de physiologie qu'elles subissent au cours de leur vie. À sa sortie de l'alvéole, l'ouvrière remplit le rôle de nettoyeuse d'alvéoles (de 1 à 4 jours) puis de nourrice (de 4 à 6 jours). Les nourrices sont chargées, dans un premier temps, de nourrir les larves d'ouvrières âgées et les larves de faux-bourdons. Lorsque leurs glandes hypo-pharyngiennes sont suffisamment développées, et à l'aide de leurs glandes mandibulaires, elles secrètent de la gelée royale pour nourrir les larves de reines ainsi que les jeunes larves d'ouvrières. À 13 jours, les glandes cirières sont suffisamment développées pour que les ouvrières puissent produire de la cire et ainsi construire des rayons au sein de la ruche (de 13 à 18 jours). Lorsque les ouvrières atteignent 18 jours, un certain nombre d'entre elles occupera le poste de gardienne et les autres deviendront butineuses (de 18 à 36 jours) (Perron, 1998).

Les ouvrières construisent donc des alvéoles de cire dans lesquelles la reine va pondre. L'œuf est déposé au fond de l'alvéole en position verticale. Il est de forme cylindrique, légèrement incurvé et de couleur blanc nacré (Snodgrass & Erickson, 2008; Winston, 1987). Au bout de trois jours, l'œuf éclot en une larve (Louveaux, 1980; Jean-Prost, 1979). Les larves sont vermiformes et blanchâtres, elles ne possèdent pas de pattes, d'yeux, d'ailes, ou d'antennes mais elles sont munies d'un système digestif et de pièces buccales simples capables d'absorber de grande quantité de nourriture (Winston, 1987). Les larves sont ensuite nourries par les nourrices, puis, au bout de 5 à 7 jours selon la caste, l'alvéole dans laquelle se trouve la larve est scellée par les ouvrières d'un capuchon de cire nommé opercule. Lorsque l'alvéole est operculée, la larve mature s'allonge dans la cellule la tête vers l'opercule et tisse un cocon pour se métamorphoser en puppe (Figure 2) (Perron, 1998; Louveaux, 1980; Jean-Prost, 1979).

La pupa correspond au dernier stade de transformation avant l'imago. Durant cette période, la tête, les yeux, l'abdomen, les antennes, les pièces buccales, le thorax et les pattes obtiennent les caractéristiques de l'adulte, de nombreux changements internes ont lieu également (Winston, 1987). De plus, c'est à ce stade que la cuticule s'assombrit et que l'âge de la pupa peut être déterminé en fonction de sa couleur. Ce stade dure entre 7 et 14 jours selon la caste, la jeune abeille va ensuite ronger l'opercule de cire et sortir de son alvéole pour commencer sa vie d'adulte (Winston, 2008).

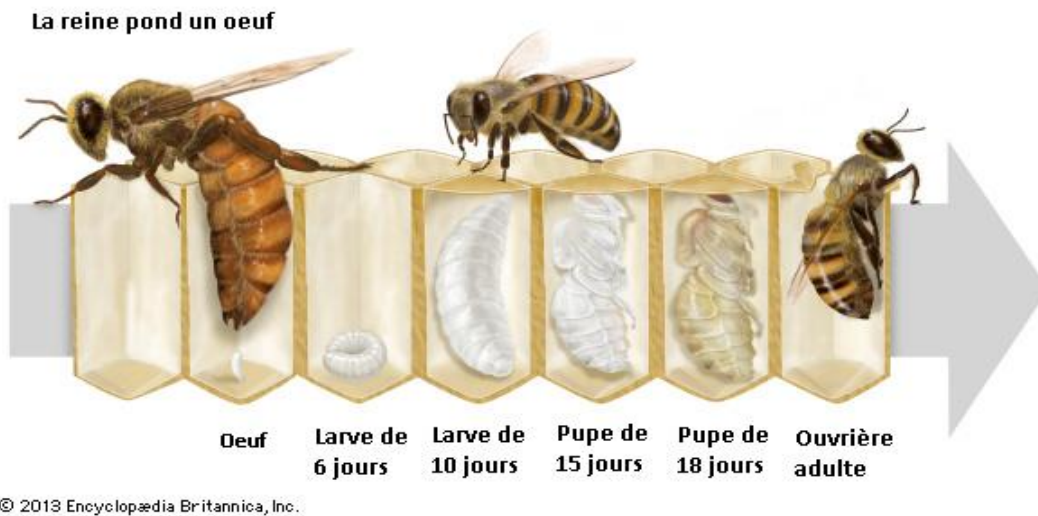


Figure 2: Les stades de développement de l'abeille. Extrait de Encyclopædia Britannica, inc (2013)

### 1.1.2 L'organisation de la colonie

Traditionnellement, une colonie d'abeilles est composée d'une reine, qui est l'unique femelle reproductrice, de plusieurs dizaines de milliers d'ouvrières stériles et de quelques centaines de faux-bourçons (mâles) lors de la belle saison (Winston, 2008; Page & Peng, 2001). La différenciation de ces castes découle du type d'œufs et de la nourriture attribuée aux larves (Bertrand, 1977). Un faux-bourdon est un individu haploïde issu de parthénogenèse facultative arrhénotoque, c'est-à-dire qu'il provient d'un œuf pondu par la reine qui n'a pas été fertilisé par un spermatozoïde, tandis que la reine et les ouvrières sont des individus diploïdes, qui proviennent d'œufs fertilisés par un spermatozoïde (Snodgrass & Erickson, 2008; Page & Laidlaw, 2008). Après éclosion, les larves diploïdes sont bipotentes pendant quelques jours, autrement dit elles peuvent se développer en reine ou en ouvrière (Shuel & Dixon, 1959; Evans & Wheeler, 2001). La différenciation de ces larves se fait ensuite suivant la qualité et quantité de nourriture qu'elles vont recevoir par les abeilles nourricières (Haydak, 1943). Les larves de reines et d'ouvrières sont nourries avec un mélange de

sécrétions produit par les glandes mandibulaires et hypo-pharyngiennes des abeilles nourricières (Herbert, 2008; Winston, 1987). Les proportions de ces sécrétions diffèrent selon la caste, on parle de gelée royale ou de gelée d'ouvrière. Les futures ouvrières sont alimentées avec de la gelée royale seulement pendant les trois premiers jours de leur vie larvaire, elles vont ensuite consommer une gelée contenant du pollen et du miel appelée gelée d'ouvrière modifiée (Haydak, 1970; Shuel & Dixon, 1960). Cette alimentation larvaire spécifique influence le système endocrinien, notamment sur la régulation de l'hormone juvénile responsable du développement chez les abeilles (Dietz et al., 1979). La royalactine contenue dans la gelée royale serait aussi un facteur déterminant dans l'accélération du développement, l'augmentation de la taille du corps et le développement des ovaires chez la reine (Kamakura, 2011).

Chaque caste possède des fonctions bien précises dans la colonie. La reine est la seule femelle reproductrice de la colonie, elle demeure toute sa vie dans la ruche sauf lors de son vol nuptial durant lequel elle sort pour être fécondée par plusieurs mâles, les faux-bourdons. Les faux-bourdons sont présents dans la ruche pendant une période très courte, juin à août et leur rôle majeur consiste à féconder des reines vierges (Winston, 2008; Perron, 1998). Les ouvrières assurent toute la gestion de la ruche, entretien du couvain, construction, recherche de nourriture, etc. Au cours de sa vie, une abeille ouvrière va réaliser toutes ces tâches, c'est ce que l'on nomme le polyéthisme d'âge (Khoury et al., 2011; Gary, 2008; Winston 1987). Le développement et la résorption des différentes glandes exocrines sont à l'origine de ces changements d'activités chez les ouvrières (Snodgrass & Erickson, 2008; Winston, 1987; Winston & Punnett, 1982).

### 1.1.3 La dynamique de la ruche

Une reine vierge est sexuellement mature à partir du 5<sup>ème</sup> ou 6<sup>ème</sup> jour après son émergence (Winston, 1987). La fécondation de la reine a lieu lors de vols nuptiaux, par une dizaine de faux-bourdons provenant d'autres colonies (Gary, 2008; Woyke, 1962). Les spermatozoïdes déposés par les faux-bourdons dans les organes génitaux de la reine, lors de l'accouplement, seront ensuite stockés dans la spermathèque de la reine durant toute sa vie (Snodgrass & Erickson, 2008; Page, 1980); soit de un à trois ans (Page & Peng, 2001). Ce sont les uniques sorties de la reine hors de la ruche, car environ deux à quatre jours après son dernier vol nuptial, la reine commence à pondre (Chapleau, 2010; Woyke, 1964). En moyenne, pendant la belle saison, une reine pond jusqu'à 2000 œufs par jour et environ un million et demi d'œufs dans sa vie (DeRoth, 1980; Leimar et al., 2012).

L'activité de ponte plus ou moins importante est étroitement liée à la disponibilité en nourriture dans l'environnement de la colonie (Bruneau, 2012; Louveaux, 1980). Le cycle annuel d'une colonie est donc dépendant du rythme des saisons qui conditionne l'évolution de la végétation disponible pour les abeilles (Louveaux, 1980). En effet, l'abondance de pollen est un des facteurs qui stimulent la ponte de la reine et permet une augmentation rapide de la population au printemps (Bruneau, 2012; Chauvin, 1950). Un pic de population est d'ailleurs généralement observé au mois de juillet. A la fin de l'été, l'abondance de ressources devient moins importante, la ponte ralentie et la colonie se prépare à affronter l'hiver (Winston, 2008; Imdorf et al., 1998; Chauvin, 1950). En automne, lorsque la température baisse autour de 14°C, la ponte s'arrête et les abeilles se placent en grappe autour de la reine. Les abeilles peuvent rester confinées dans la ruche pendant plusieurs mois durant l'hiver, cependant, elles ne sont pas en état d'hibernation et sont capables de reprendre une activité dès que la température s'y prête (Gary, 2008; Furgala & McCutcheon, 2008).

Le cycle annuel d'une colonie d'abeilles reste très variable selon la latitude, l'altitude et les particularités climatiques régionales. Les colonies dans des pays de l'hémisphère Nord ont une courte phase active et un hivernage très long alors que les colonies de pays tropicaux sont actives toute l'année (Louveaux, 1980; Louveaux & al., 1966).

Il est aussi important de mentionner qu'il existe deux types d'abeilles ouvrières dans le cycle annuel d'une colonie, les abeilles d'été et les abeilles d'hiver. Les abeilles d'été ont une durée de vie qui varie entre 15 et 70 jours alors que les abeilles d'hiver survivent plus longtemps, entre 170 à 243 jours (Flury, 1994). L'espérance de vie des ouvrières dépend de la quantité de vitellogénine présente dans le corps gras des abeilles, mais aussi de la disponibilité en pollen au sein de la colonie (Bruneau, 2012).

#### 1.1.4 La multiplication par essaimage

L'essaimage naturel est une méthode de multiplication des colonies qui permet aux abeilles de propager l'espèce et de combler les vides causés par les mortalités naturelles (Louveaux, 1980). Ce comportement est observé chez des colonies populeuses à la fin du printemps ou au début de l'été (Seeley & al., 2006). La fièvre d'essaimage est un phénomène complexe qui se caractérise tout d'abord par l'élevage de nouvelles reines quelques semaines avant la sortie de l'essaim. Plusieurs facteurs sont à l'origine de l'élevage de nouvelles reines : une abondance de nourriture, une population d'ouvrières dense, l'âge de la reine (Jean-Prost & Le Conte, 2005; Winston, 1987) ou encore une pénurie de substance royale sécrétée par la reine permettant une cohésion sociale chez les abeilles d'une même colonie (Perron, 1998; Pain & Barbier, 1963).

Lors de l'essaimage, la vieille reine quitte la colonie avec une partie de sa population d'ouvrières pour former une nouvelle colonie pendant qu'une des jeunes reines élevées auparavant «hérîte» de la colonie mère (Gary, 2008). Une fois que l'essaim s'envole et quitte la colonie, les abeilles se regroupent autour de la reine, attirées par son odeur, pour former une grappe compacte. Des abeilles dites «éclaireuses» partent à la recherche d'un abri adéquat, puis guident l'essaim de l'endroit de repos provisoire qu'il occupait vers ce nouvel habitat pour fonder une nouvelle colonie (Von Frisch, 2011). Le comportement d'essaimage est un caractère héréditaire plus ou moins exprimé chez l'abeille selon les races et les familles (Winston, 2008).

L'essaimage naturel est considéré comme un fléau par les apiculteurs professionnels car, avec l'envol d'une partie de la colonie, il entraîne des pertes de rendement important (miel, pollen, gelée royale) alors que l'essaimage artificiel est une pratique apicole courante. Pour éviter que le comportement d'essaimage naturel s'exprime, les apiculteurs détruisent les cellules royales (Boucher & al., 2011) ou encore pratiquent l'essaimage artificiel. Celui-ci consiste à prélever, à partir d'une ou de plusieurs ruches, des abeilles (ouvrières ou cadres avec différents stades larvaires) et y ajouter une jeune reine d'élevage pour former une nouvelle colonie avant la miellée. De cette façon, l'apiculteur augmente son cheptel tout en préservant sa récolte de miel. Il existe de très nombreuses méthodes d'essaimage artificiel, réparties selon deux catégories : les essais sur cadres (communément appelé nucléi sur cadres au Québec) et les essais nus (communément appelé paquet d'abeilles au Québec) (Jean-Prost & Le Conte, 2005). Ces méthodes seront décrites en détails à la section 3.2.

## **1.2. La problématique de l'apiculture actuelle au Québec**

### **1.2.1 L'apiculture en quelques chiffres**

Au Québec, le nombre d'apiculteurs et le nombre de ruches ont augmenté respectivement de 46 % et 78 % en 10 ans. En 2014, le nombre de ruches en production a été estimé à 48 500, soit 1297 ruches de plus qu'en 2013 (Statistique Canada, 2014).

La production de miel a été évaluée à 1 700 tonnes en 2014, ce qui est supérieur à la production annuelle moyenne de miel pour la période de 2004 à 2013, soit 1424 tonnes. Le rendement moyen en miel par colonie est donc de 35 kg par colonie pour l'année 2014, ce qui représente une valeur de 12,5 millions de dollars (Statistique Canada, 2014). La vente de miel est la principale source de revenus pour les apiculteurs québécois, elle représente 70,9 % de leurs revenus totaux alors que les services de pollinisation en

représentent 23,7%. La vente d'autres produits, tels que les nucléi, les reines, le pollen, comptent pour 5,3 %. Les revenus totaux de la production apicole au Québec représentaient 17,2 millions de dollars, pour l'année 2013 (Institut de la statistique du Québec, 2014).

L'industrie apicole québécoise a donc subi une très forte croissance durant les dernières années mais sa productivité demeure restreinte. Effectivement, entre 1999 et 2013, la productivité apicole du Québec exprimée en kilogramme de miel par colonie a baissé en moyenne de plus de 0,5 kg/colonie chaque année. Les pertes importantes de colonies d'abeilles seraient à l'origine de cette baisse de productivité dans le milieu apicole (Belzile & Li, 2014).

### 1.2.2 Des pertes de colonies importantes

Depuis quelques années, des pertes anormales de colonies d'abeilles ont été observées dans de nombreux pays à travers le monde (Vanderzee & al., 2012; Bacandritsos & al., 2010; Carreck & Neumann, 2010; Ellis & al., 2010; Potts & al., 2009).

En Europe, le taux moyen de perte hivernale varie entre 3.5 et 33.6 % selon les pays en 2012. Onze pays ont enregistré des pertes supérieures à 10 % et ce sont principalement les pays du nord de l'Europe qui sont les plus touchés par ces pertes de colonies (Spleen & al., 2013; Chauzat & al., 2014). Mais les pertes les plus impressionnantes ont été remarquées en Amérique du Nord, principalement aux États-Unis: 30 à 90 % à travers 35 états pour l'année 2006 (Ellis & al., 2010; Mollier & al., 2009). Les symptômes associés à ces pertes alarmantes restent difficiles à expliquer par les scientifiques. En effet, les ouvrières désertent la ruche sans qu'on ne retrouve de cadavres et les autopsies réalisées sur ces abeilles révèlent la présence de diverses combinaisons de pathogènes, mais aucun n'est suffisant pour expliquer ces pertes (Mollier & al., 2009; Bekic & al., 2014). Les scientifiques ont baptisé ce nouveau phénomène «Colony Collapse Disorder» ou CCD (Ellis & al., 2010; Williams & al., 2010), en français syndrome d'effondrement des colonies.

Au Canada, aucun cas de CCD n'a été officiellement confirmé jusqu'à présent, cependant l'apiculture canadienne et américaine possèdent trop de similitudes pour rejeter ce problème d'emblée (CAPA, 2014; Kevan & al., 2007). Par ailleurs, des pertes hivernales anormales de colonies ont été observées dans de nombreuses provinces ces dernières années.

Au Québec, de 2004 à 2014, le taux moyen de perte hivernale s'est établi à 25 % (CAPA, 2014; Boucher & al., 2012, 2013; Pernal, 2007, 2008, 2009, 2010, 2011) alors qu'il était de l'ordre de 10 à 15 % dans les années 1990, ce qui était considéré comme viable et normal pour les professionnels apicoles (Chapleau, 2012 ; Furgala & McCutcheon, 2008; Haubruge & al., 2006; Morgenthaler, 1968).

Beaucoup de scientifiques se sont penchés sur les causes possibles de l'affaiblissement et de ces pertes inhabituels des colonies. Les principaux facteurs responsables sont: les maladies et parasites de la ruche; l'usage de pesticides; l'appauvrissement des ressources florales résultant de la perte de diversité végétale; les problèmes attribuables à la régie du rucher; les problèmes liés à la qualité ou à la performance des reines ainsi que les conditions environnementales difficiles (Currie & al., 2010; Chapleau, 2012; MAPAQ, 2014; Nasr & al., 2014).

Ces facteurs, ainsi que beaucoup d'autres éléments (Figure 3), sont susceptibles d'influencer la surmortalité des abeilles domestiques lorsqu'ils interagissent en combinaison les uns avec les autres (Bekic & al., 2014; Boucher, 2010; Haubruge & al., 2006).

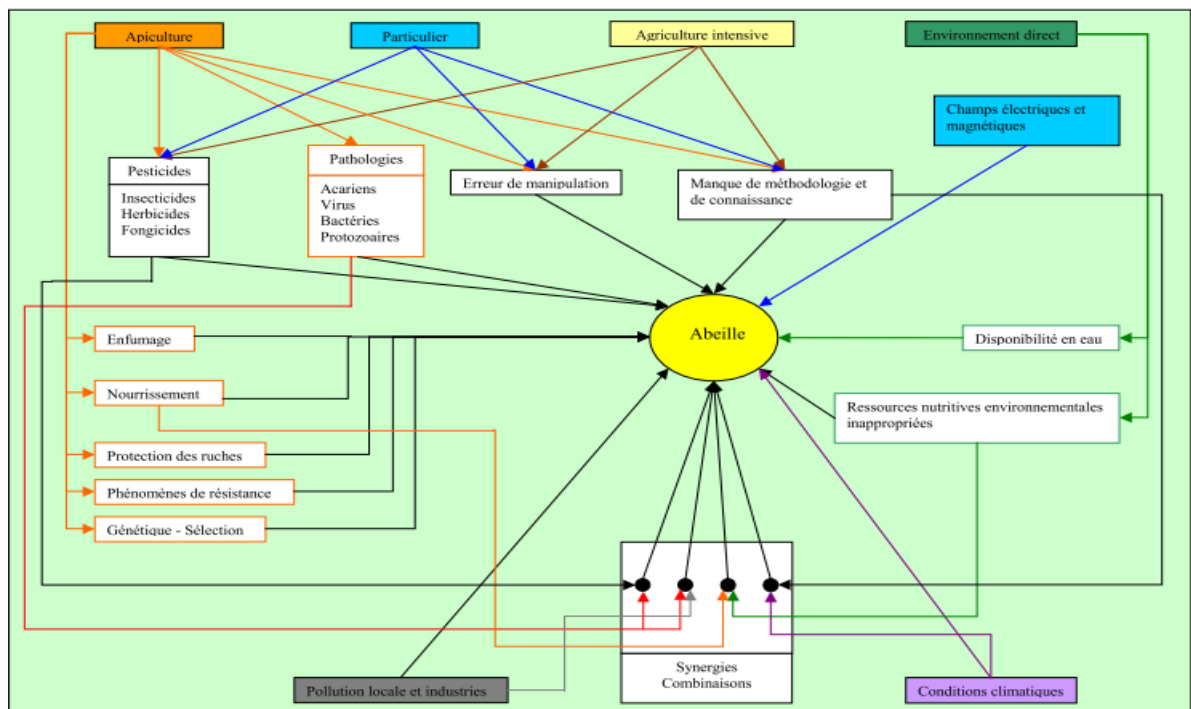


Figure 3: Facteurs de risque potentiels liés au dépérissement des colonies d'abeille domestique. Extrait de la publication «Le dépérissement de l'abeille domestique, *Apis mellifera* L, faits et causes probables» de Haubruge & al. (2006)

Parmi les facteurs de risques potentiels liés au dépérissement des colonies, les insecticides néonicotinoïdes ont été rendus tristement célèbres par les médias. Les néonicotinoïdes sont aujourd'hui la classe d'insecticides la plus utilisée à travers le monde, avec 25 % des parts du marché insecticide mondial (Van der Sluijs & al., 2013). Cette classe d'insecticides regroupe une dizaine de composés, tels l'imidaclopride, la clothianidine et le thiaméthoxame, qui sont parmi les plus communs (Lundin & al., 2015). Ils sont hautement neurotoxiques pour les insectes, entraînant une sur-stimulation du système nerveux, paralysie et mort (Goulson & al., 2015). De plus, ils sont systémiques, c'est-à-dire qu'une fois appliqués, ils se diffusent et circulent dans le système vasculaire de la plante (Fairbrother & al., 2014). Ainsi le pesticide est présent dans l'ensemble de la plante (feuilles, racines, fleurs, pollen, nectar et fruit) et la protège durant la majeure partie de la saison. Ces insecticides ont longtemps été considérés comme sécuritaires pour les pollinisateurs (Jeschke & al., 2011; Testud, 2014; Simon-Delso & al., 2015). Néanmoins de récentes études ont démontré l'existence de plusieurs voies d'intoxication potentielle pour les pollinisateurs, telles le nectar, le pollen, l'air et l'eau contaminé (Cresswell & al., 2012; Krupke & al., 2012; Samson-Robert & al., 2014). Ces pesticides peuvent également engendrer des effets sous-létaux sur la mobilité, l'orientation, la recherche de nourriture et les performances d'apprentissage des abeilles domestiques (Decourtye & al., 2004; El Hassani & al., 2008; Yang & al., 2008; Henry & al., 2012, 2014; Pisa & al., 2015). De plus, les néonicotinoïdes, en combinaison avec d'autres pesticides ou des agents pathogènes, peuvent induire de très fortes mortalités chez les abeilles, et pourraient être une des origines du syndrome d'effondrement des colonies américaines (Pettis & al., 2012; Bekic & al., 2014; Doublet & al., 2015). En Europe, l'utilisation d'imidaclopride, de clothianidine et de thiaméthoxame, a été temporairement bannie dans plusieurs cultures, par mesure de précaution (Lundin & al. 2015).

Le dépérissement alarmant des colonies d'abeilles a engendré une prise de conscience mondiale et beaucoup de financement a été attribué pour la recherche et l'éducation visant à arrêter ce déclin (Pettis & Delaplane, 2010). De plus, la création de l'association internationale COLOSS (Prevention of honeybee COlony LOSSes) composée de chercheurs, de vétérinaires et de spécialistes de vulgarisation agricole originaires de 69 pays différents, dont le Canada, permet une coopération et des échanges simplifiés qui sont essentiels à la compréhension des raisons pour lesquelles les abeilles sont menacées dans le monde (COLOSS, 2008).

### 1.2.3 La varroase

L'ectoparasite *Varroa destructor* est considéré, à l'échelle mondiale, comme une des menaces les plus sérieuses en apiculture (Figure 4) (Martin, 1998; Anderson & Trueman, 2000; Dainat & al., 2012). Au Canada



et au Québec, il est soupçonné d'être le principal facteur responsable des pertes de colonies massives de ces dernières années (Chapleau, 2012; Boucher & al., 2011; Pernal, 2011; Currie & al., 2010).



Figure 4: Les pertes mondiales de colonies attribuables au *varroa destructor*. Extrait de «Honeybee colony losses» de Carreck & Neumann (2010)

Le varroa est un acarien parasite externe hématophage des abeilles. À l'origine, c'était un parasite de l'abeille asiatique *Apis cerana* mais son expansion dans le monde après la Seconde Guerre mondiale, grâce aux développements du commerce et du transport international, lui a permis de parasiter l'abeille occidentale *Apis mellifera*. Il est apparu pour la première fois en Amérique du Nord dans les années 1980, en Floride (De Jong & al., 1982; Sammataro & al., 2000). Puis, malgré toutes les précautions prises par les autorités, il est dépisté au Canada en 1989 (McElheran, 1990) et au Québec en 1992 (Desjardins & Boucher, 1999). Contrairement à l'abeille asiatique qui côtoie le varroa depuis des milliers d'années et qui a su développer un équilibre avec le parasite, *Apis mellifera* ne possède pas un comportement de défense adapté face au varroa (Rath, 1999; Rosenkranz & al., 2010).

Le cycle de développement de la population de varroas suit celui des colonies d'abeilles. Ces parasites sont entièrement dépendants des abeilles pour leur reproduction et leur survie. En effet, pour se reproduire, les varroas femelles se dissimulent dans les cellules de couvain juste avant l'operculation pour pondre. Chaque femelle varroa peut accomplir deux à trois cycles de reproduction. Une fois les œufs éclos, les jeunes varroas s'accouplent entre eux puis se nourrissent de l'hémolymphe de la larve. Lorsque la jeune abeille émerge de la cellule, elle libère les varroas. On constate que les varroas femelles ont tendance à préférer le couvain de faux-bourdons au couvain d'ouvrière car sa durée d'operculation est plus longue et permet de produire plus de descendants (Sammataro & al., 2000; Rosenkranz & al., 2010).

Le varroa est très virulent. Il endommage les tissus, il réduit les fluides corporels des abeilles pendant leur développement ou à l'âge adulte et il est responsable de la transmission d'agents pathogènes tels que les virus (e.g., virus des ailes déformées, virus de l'abeille du cachemire, virus du couvain sacciforme, etc.) (Olivier & Ribière, 2006; Kozak & al., 2012; Desai & al., 2015). Cela affaiblit considérablement les abeilles et conduit à l'effondrement éventuel des colonies (Le Conte & al., 2010). Aujourd'hui, les traitements chimiques ou encore le contrôle à l'aide de pesticides d'origine naturelle (e.g., acide oxalique), sont devenus indispensables pour gérer ces infestations dans les ruchers (Boucher, 2010; Giovenazzo & Dubreuil, 2011; Kozak & al., 2012). Plusieurs études récentes ont démontré que la taille de la colonie, la présence d'une reine de qualité lors de l'hivernage, ou encore la préservation de la polyandrie pour assurer un brassage génétique de qualité au sein de la colonie permettent de lutter efficacement contre l'infestation du varroa dans les colonies (Wilkinson & Smith, 2002; Emsen & al., 2013; Bahreini & Currie, 2015; Desai & Currie, 2015).

#### 1.2.4 La nosérose

La nosérose est une maladie parasitaire de la classe des microspores qui affecte uniquement les abeilles au stade adulte (Fernandez & Coineau, 2007; Huang & al., 2015). Elle est provoquée par un champignon microscopique unicellulaire du genre *Nosema*. Chez les abeilles européennes *Apis mellifera*, on distingue deux espèces de ce parasite intracellulaire *Nosema apis* Fries et *Nosema cerenae* Zanders (Higes & al., 2008; Antúnez & al., 2009). Cette maladie est répandue dans le monde entier, spécifiquement dans les pays au climat tempéré aux hivers longs et humides (Chen & al., 2008; Fries & al., 2006; Guzmán-Novoa & al., 2010; Williams & al., 2008; Yoshiyama & Kimura, 2011). Au Canada et au Québec, la nosérose est une des causes principales responsables du mauvais développement printanier des colonies (Guzmán-Novoa & al., 2010; MAPAQ, 2014; Kempers & al., 2015).

L'impact de *Nosema apis* sur les abeilles est bien connu depuis près d'un siècle. Lorsque des spores sont ingérées par l'abeille, elles vont germer dans son tube digestif et se multiplier. Les cellules du ventricule infectées éclatent et libèrent des millions de spores qui vont infecter d'autres cellules. Les abeilles fortement infectées ne digèrent plus convenablement leur nourriture, ce qui entraîne de fortes diarrhées. Elles ont alors tendance à déféquer dans la ruche, et ainsi libérer les spores contenues dans leurs fèces qui sont une source de contamination pour les abeilles chargées du nettoyage. Les abeilles fortement infectées présentent généralement un abdomen très gonflé qui les rend inaptes au vol et réduit leur longévité. Quand une colonie est infectée par *Nosema apis*, les apiculteurs peuvent observer des souillures fécales brunes très odorantes sur les cadres ou sur la façade de la ruche. De plus, le développement printanier et la production de miel de la colonie seront relativement faibles par rapport à des colonies en bonne santé (OIE, 2008; MAPAQ, 2011).

En revanche, les pathologies associées à l'infection par *Nosema ceranae* ne sont pas encore bien connues par les scientifiques (MAPAQ, 2011; Copley & al., 2012), car ce champignon microscopique est, à l'origine, un parasite de l'abeille asiatique (Martín-Hernández & al., 2007; Gómez-Moracho & al., 2015). Sa première apparition en Amérique du Nord date de 1975 (Traver & Fell, 2014). Depuis 2007, sa présence de plus en plus fréquente dans les ruchers québécois et canadiens (Pernal, 2008; Williams & al., 2008; Emsen & al., 2015) passe souvent inaperçue auprès des apiculteurs car elle ne provoque pas de diarrhée (Leboeuf, 2015; Higes & al., 2008). Toutefois, cette infection est associée à un syndrome de dépeuplement progressif, et est responsable de pertes abondantes de colonies en automne ou en hiver ainsi qu'une faible production en miel (Eiri & al., 2015; Lee & al., 2015). La scientifique Raquel Martín-Hernández et ses collaborateurs ont déterminé que le risque de dépeuplement chez les colonies infectées par *Nosema ceranae* est six fois plus élevé que chez des colonies non infectées (Martín-Hernández & al., 2007). De plus, *Nosema ceranae* serait plus virulente et mieux adaptée aux conditions environnementales canadiennes que *Nosema apis* (Emsen & al., 2015).

La prévention et la mise en œuvre de bonnes pratiques (par exemple : éviter les emplacements humides et ombragés, préparation des ruches pour l'hiver, renouvellement régulier des reines ainsi que du matériel apicole, élimination des colonies faibles à l'automne, etc.) reste la meilleure approche face à ces pathogènes (Leboeuf, 2015; Botías & al., 2012). L'usage de fumagilline, qui est le seul antibiotique homologué au Canada, peut être utilisé pour contrôler l'infection par *Nosema apis* ou *Nosema ceranae* (Leboeuf, 2015; Williams & al., 2008; Katznelson & Jamieson, 1952). Cependant pour éviter tout risque de résistance de la nosérose à la fumagilline, de nombreux conseillers provinciaux ont mis en place des ateliers éducatifs à travers l'ensemble du Canada pour promouvoir les pratiques de lutte intégrée aux apiculteurs (Kempers & al., 2015).

### 1.2.5 L'accroissement de la demande du service de pollinisation

Depuis quelques années, on observe un retour en force des apiculteurs et de leur production, particulièrement grâce à l'explosion des demandes de services de pollinisation au Québec depuis 2003 (Belzile & Li, 2014). En effet, le nombre de colonies louées par les apiculteurs à des fins de pollinisation est passé de 13 633 colonies en 2003 à 35 588 colonies en 2013 (Institut de la statistique du Québec, 2014). Le prix moyen de location de colonies destinées à la pollinisation est lui aussi en hausse depuis 15 années consécutives : il était de 112.25 dollars en 2013, soit +114.1 % depuis 1998 et +59.5 % depuis 2003 (Institut de la statistique du Québec, 2014).

Ce phénomène s'explique par la croissance impressionnante des productions de bleuets nains et de canneberges des dernières années. En 2013, ces deux productions accaparaient 31 800 colonies sur les 35 588 colonies totales destinées à la pollinisation, soit 98% des colonies en location (Belzile & Li, 2014; Institut de la statistique du Québec, 2014). Entre 2003 et 2014, les superficies consacrées à la production de bleuets ont augmenté de 90 % et les superficies consacrées à la production de canneberge ont triplé en 10 ans, soit une augmentation de 204 % (Massicotte & al., 2014; Rioux & Martins, 2012; Rioux & Desrochers, 2009; Massicotte, 2007). De ce fait, le Canada est devenu le deuxième producteur et exportateur de bleuets au monde et le Québec détient la plus grande surface de production de bleuets au Canada, derrière la Colombie Britannique (Agriculture et Agroalimentaire Canada, 2011; Morin & al., 2011). Pour la production de canneberges, le Québec se situe au troisième rang mondial parmi les régions productrices et au premier rang mondial pour la production de canneberges biologiques (Association des producteurs de canneberges du Québec, 2014 ; Poirier, 2010).

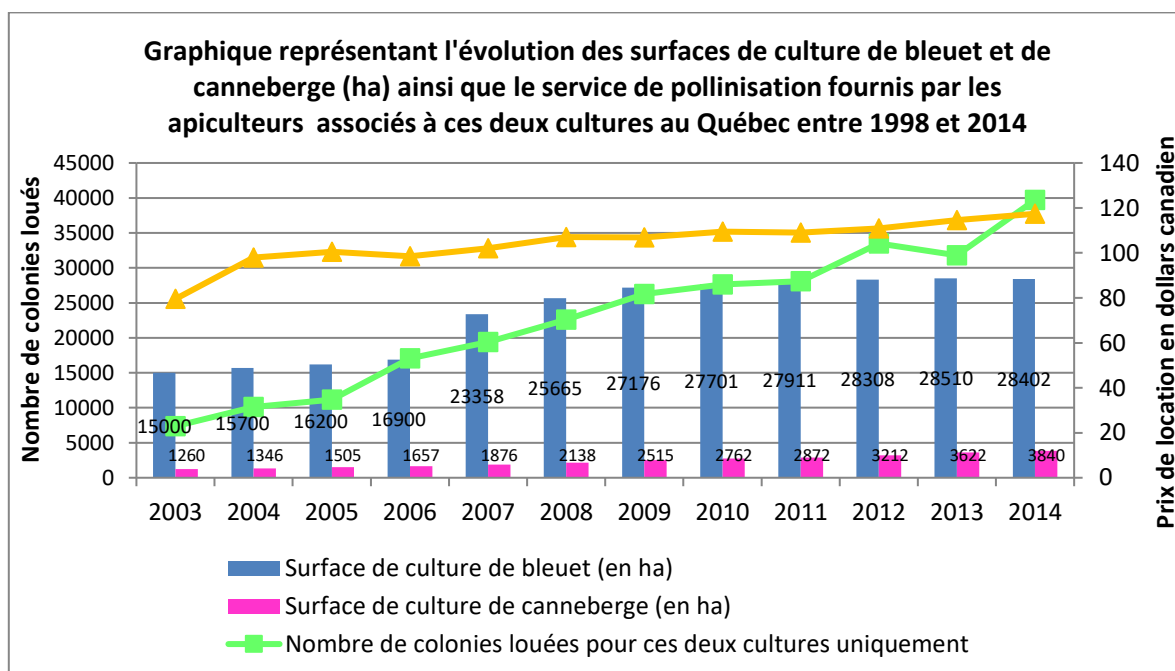


Figure 5: L'évolution des surfaces de culture de bleuets et de canneberges ainsi que les services de pollinisation fournis par les apiculteurs associés à ces deux cultures au Québec entre 2003 et 2014, Fait par S.Maucourt à partir de : Massicotte, 2007; Rioux & Desrochers, 2009; Massicotte & al., 2014 ; Statistique Canada, 2014

L'accroissement de la demande en services de pollinisation s'explique donc plus par une explosion de la production de petits fruits au Québec que par l'adoption de nouvelles pratiques apicoles ou de nouvelles technologies (Figure 5) (Belzile & Li, 2014).

### 1.2.5.1 Un service précieux

La pollinisation est le mode de reproduction sexuée privilégié des plantes angiospermes. Ce processus nécessite des vecteurs qui portent ou déplacent les grains de pollen provenant des étamines, l'organe de reproduction mâle chez les plantes, vers le pistil, l'organe de reproduction femelle. Il existe trois systèmes de pollinisation: l'anémogamie (la pollinisation de la plante est assurée par le vent), l'hydrogamie (la pollinisation de la plante est assurée par l'eau) et la zoogamie (la pollinisation de la plante est assurée par une espèce animale) (Pesson & Louveaux, 1984). Néanmoins, entre 78 % et 94% des plantes angiospermes sont pollinisées par des animaux, principalement des insectes, oiseaux et des mammifères (Ollerton & al., 2011). La pollinisation animale est un service précieux offert par l'écosystème et tient une place cruciale dans l'arboriculture fruitière, l'horticulture, la production de fourrage, de semences ou de médicaments à base de plantes (FAO, 2000; Bauer & Wing, 2010). Trente-cinq pour cent de la nourriture produite dans le monde dépend de cette pollinisation animale (Klein & al., 2007). Concernant la nutrition humaine, la pollinisation animale permet aussi d'assurer une variété et une qualité des aliments (FAO, 2000; Eilers & al., 2011). En effet, les cultures qui contiennent la majorité des lipides, des vitamines ou encore des minéraux indispensables à la nutrition humaine, nécessitent une pollinisation animale. La solution de la supplémentation ou de l'enrichissement alimentaire n'est pas envisageable à échelle mondiale pour plusieurs raisons, même si ces techniques sont rendues obligatoires et réglementées dans l'industrie alimentaire de certains pays comme la Chine ou les États-Unis. Tout d'abord, la supplémentation est une solution coûteuse car les plantes utilisées pour développer ces suppléments ont eux-mêmes besoin de services de pollinisation, donc en réduisant les services de pollinisation les coûts augmentent (Eilers & al., 2011; Smith & al., 2015). Deuxièmement, cette solution dépend de la richesse et du niveau d'éducation du consommateur qui varie beaucoup d'un pays à l'autre (Raskin & al., 2002). Enfin, les substituts nutritifs adéquats existent plus ou moins car les composants bénéfiques contenus dans les fruits et légumes sont encore mal connus par les scientifiques (Smith & al., 2015).

Au cours des dernières décennies, un déclin alarmant des pollinisateurs a été observé dans le monde entier (Allen-Wardell & al., 1998; FAO, 2000; Chagnon, 2008; Bauer & Wing, 2010; Potts & al., 2010; Thomann & al., 2013). L'impact économique à l'échelle mondiale d'un manque de pollinisation dans les cultures demeure encore incertain. Cependant, des chercheurs ont essayé de quantifier la valeur monétaire du service de pollinisation offert par les insectes pour les cultures produites à des fins de consommation humaine. À l'échelle mondiale, ce service s'élève à 239 milliards de dollars canadiens (Gallai & al., 2009); au niveau du Canada, on estime ce service à deux milliards de dollars canadiens (Canadian Honey Council, 2010; Darrach & Page, 2016). La gestion et la protection des pollinisateurs est donc capital pour assurer nos ressources alimentaires (Biesmeijer & al., 2006; Eilers & al., 2011; Smith & al., 2015).

### 1.2.5.2 Le rôle de l'abeille domestique

Parmi les insectes pollinisateurs, plusieurs ordres taxonomiques sont impliqués, tels les lépidoptères, les coléoptères, les diptères et les hyménoptères. L'ordre des hyménoptères inclut 30 000 espèces d'abeilles sauvages à l'échelle mondiale (FAO, 2000; Chagnon, 2008). Kenmore et Krell estiment que sur 100 des principales cultures, au moins 80 % sont pollinisées par des abeilles sauvages et 15 % par des abeilles domestiques (Kenmore & Krell, 1998; dans Abrol, 2012). Cependant, d'un point de vue économique, l'abeille domestique *Apis mellifera* reste le seul pollinisateur suffisamment important en nombre pour assurer la pollinisation des grandes monocultures (Klein & al., 2007). Sans l'abeille domestique, il y aurait une diminution du rendement des cultures de fruits, de graines et de noix estimée à plus de 90 % (Southwick & Southwick, 1992). De ce fait, sa valeur comme pollinisateur est beaucoup plus importante que sa valeur en tant que productrice de miel (Abrol, 2012).

Beaucoup de caractéristiques de l'abeille domestique en font un agent précieux pour les cultures à pollinisation croisées, processus durant lequel le pollen d'une fleur est transféré sur les stigmates d'une autre fleur de la même espèce grâce à l'intervention d'un vecteur (vent, insecte ou autres). Tout d'abord, l'abeille domestique est entièrement tributaire des fleurs pour sa nourriture qui est constituée uniquement de pollen et de nectar. Ensuite, d'un point de vue morphologique, l'abeille domestique possède quelques adaptations favorables à la récolte ainsi qu'au transport du pollen et du nectar (Figure 6) tel que ses poils, son proboscis (pièces buccales) ou encore ses corbeilles à pollen (réceptacles à pollen situés sur les pattes extérieures de l'abeille) (Free, 1970; Winston, 1987).

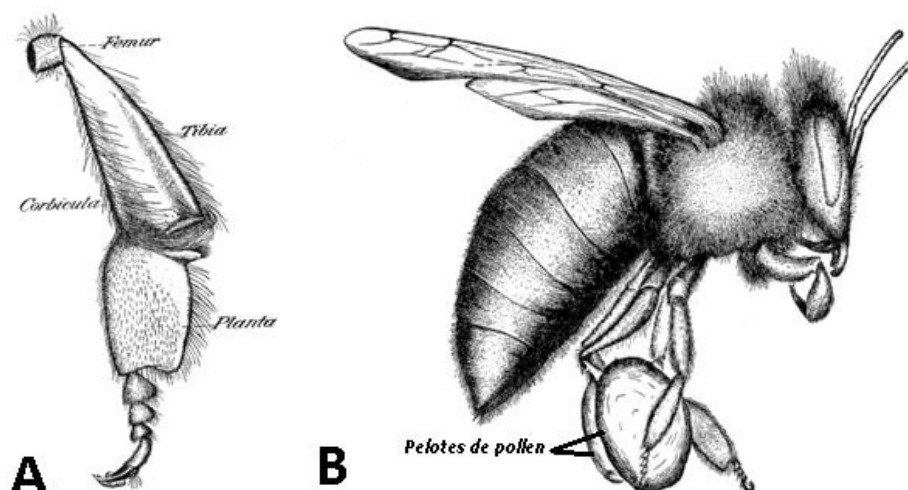


Figure 6: Surface extérieure de la patte arrière gauche d'une abeille ouvrière (A). Abeille en vol montrant la position des pattes lorsqu'elles touchent et palpent les pelotes de pollen (B). Extrait de «The behavior of the honey bee in pollen collecting» (Casteel, 1912).

De plus, l'abeille domestique est polylectique c'est-à-dire qu'elle butine un grand nombre d'espèces de plantes et par conséquent, elle peut polliniser une très grande variété de cultures (Chagnon, 2008). Enfin, son système de communication complexe lui permet de trouver de la nourriture avec une efficacité maximale (Wells & Wells, 1983).

Pour les producteurs agricoles, l'utilisation de colonies d'abeilles domestiques est très intéressante car cela permet d'assurer les services de pollinisation lorsque les pollinisateurs sauvages sont peu présents, voire absents, dans les cultures. Leur gestion est relativement simple et bien connue par rapport à celle d'autres espèces de pollinisateurs. L'abeille domestique est polyvalente et son élevage est pratique et peu coûteux (Klein & al., 2007). En plus d'assurer le service de pollinisation, les colonies d'abeilles domestiques produisent du miel, de la cire, de la gelée royale et de la propolis, qui peuvent aussi être commercialisés. Toutefois, la présence de plusieurs espèces pollinisatrices sur une culture est beaucoup plus efficace et permet une pollinisation optimale, car il existe une complémentarité entre les espèces d'abeilles (Hoehn & al., 2008; Klein & al., 2009, Klein & al., 2012; Garibaldi & al., 2014). Par exemple, une étude réalisée dans des cultures d'amandiers stipule que la présence d'une combinaison synergique entre les abeilles *Apis mellifera* et les abeilles non-apis représente un moyen durable d'améliorer la pollinisation de ces cultures ainsi que les rendements qui en résultent (Brittain & al., 2013).

### 1.2.6 L'intensification des pratiques apicoles

Depuis plusieurs décennies, au même titre que plusieurs autres productions agricoles, l'apiculture « traditionnelle » a été remplacée par une apiculture plus « industrielle » ou commerciale. En effet, la demande accrue pour la pollinisation des cultures et l'augmentation des gains associés à la location des colonies ont contribué à accélérer la croissance de l'industrie apicole québécoise (Belzile & Li, 2014; Institut de la statistique du Québec, 2014; Belzile, 2015). Néanmoins, depuis quelques années, beaucoup de nouveaux facteurs qui affectent les colonies (par exemple : maladies, pertes de diversité végétale, pesticides, etc.) ont fait leur apparition et engendrent des pertes hivernales très importantes (Currie & al., 2010; MAPAQ, 2014; Nasr & al., 2014; Kempers & al., 2015).

L'arrivée de ces nouveaux éléments pousse les apiculteurs à produire toujours plus de colonies afin de combler leurs pertes saisonnières et d'augmenter leurs cheptels pour répondre aux nouvelles demandes de pollinisation. Cette production intensive peut soumettre les abeilles à un stress important et les rendre plus vulnérables (Haubrugé & al., 2006; Boucher, 2010; Chapleau, 2012; Goulson & al., 2015). Pour pallier à cette vulnérabilité des colonies, une gestion optimale des ruchers est indispensable (Boucher & al., 2011 ; Desai & al., 2015). Cette gestion moderne et actuelle des ruchers est beaucoup plus complexe pour les apiculteurs. Parfois, ceux-ci ne possèdent pas les « clés » pour s'adapter à ces nouvelles pratiques et peuvent involontairement aggraver la situation en affaiblissant davantage leurs colonies (Boucher, 2010; VanEngelsdorp & al., 2010; Chapleau, 2012).

### 1.2.7 L'importation de colonies

Malgré tous les efforts fournis par les apiculteurs québécois pour faire prospérer l'industrie apicole, le nombre de colonies disponibles pour la pollinisation (par exemple, 35 588 colonies en 2013) ne répond pas entièrement à la demande en services de pollinisation. Par exemple, les producteurs de bleuets nains sont contraints d'importer des ruches de l'Ontario (environ 5000 colonies) pour satisfaire la demande (Chapleau, 2012; Kozak, 2012). Les apiculteurs du Québec sont aussi contraints d'importer des paquets d'abeilles (rappelons qu'un paquet d'abeilles est constitué d'environ un à deux kilogrammes d'abeilles adultes et une reine fécondée, contenus dans une cage d'expédition) de Nouvelle-Zélande et d'Australie et des reines de Californie, d'Australie, du Chili ou encore d'Hawaï pour combler leurs pertes et augmenter leurs cheptels (Vickery & Levac, 2005; Tremblay, 2008; Currie & al., 2010).



Cependant, ces solutions impliquant des importations ne sont pas soutenables à long terme. D'une part, parce que ces importations représentent un risque sanitaire important pour les colonies québécoises. Car l'introduction de colonies étrangères peut aussi engendrer l'entrée de maladies ou de parasites qui ne sont pas encore présents sur le territoire québécois (Tremblay, 2007; Agence canadienne d'inspection des aliments, 2013). D'autre part, parce que l'infiltration constante de nouvelles souches d'abeilles domestiques importées ne permet pas d'établir un profil génétique propre au Québec, parfaitement adaptée aux conditions environnementales de la province (Giovenazzo, 1992 ; Chapleau, 1987). Enfin, l'importation est une solution coûteuse. En 2013, l'industrie apicole a déboursé plus de neuf millions de dollars pour l'achat de 65 066 paquets d'abeilles et de 236 508 reines (Statistique Canada, 2014). De plus, la propagation de gènes importés dans la population locale est probable, et l'augmentation résultante de la diversité génétique n'est pas universellement bénéfique car des gènes inadaptés à l'environnement seront sélectionnés (Meixner & al., 2014). Toutes ces raisons encouragent les producteurs apicoles québécois à vouloir atteindre l'autosuffisance en abeilles mellifères (Fluri & al., 2001; Fédération des apiculteurs du Québec, 2010; Chapleau, 2012)

### **1.3. Les solutions envisagées**

En dépit de l'augmentation de près de 50 % des stocks mondiaux d'abeilles domestiques lors du siècle dernier, les apiculteurs éprouvent de la difficulté à suivre le rythme de l'augmentation des cultures dépendantes de la pollinisation, augmentation estimée à plus de 300% (Aizen & Harder, 2009). Le Québec n'échappe pas à cette situation. Pour remédier à ces difficultés, il est évident que la mise en place d'une production de reines de qualité et l'instauration d'une méthodologie rigoureuse sur la production de nucléi au Québec seraient des solutions intéressantes. Rappelons qu'un nucléus est une petite colonie d'abeilles créée par un apiculteur à partir d'une ou plusieurs colonies existantes.

Le développement de solutions permettrait aux apiculteurs québécois de remplacer leurs pertes hivernales, répondre à la demande en services de pollinisation, freiner l'introduction de parasites et de maladies dans la province, mais aussi à établir et conserver une génétique propre au cheptel Québécois. Par ailleurs, ces solutions contribueraient aussi à élargir le marché économique apicole québécois et augmenter les revenus de l'industrie apicole (Table filière Apicole, 2005; Fédération des apiculteurs du Québec, 2010; Chapleau, 2012).

### 1.3.1 La production de reine avec un contrôle de la génétique

La présence de reines défectueuses dans les ruchers est un problème récurrent chez les apiculteurs. Plusieurs causes sont à l'origine de cette situation nuisible aux apiculteurs (VanEngelsdorp & Meixner, 2010; VanEngelsdorp & al., 2010; Boucher & al., 2013; MAPAQ, 2014). L'une de ces causes est liée à l'importation de reines issues de producteurs étrangers dont l'élevage est plus basé sur la vente d'abeilles que sur la qualité génétique des produits. Les apiculteurs peuvent alors se retrouver avec des reines qui ont une forte tendance à essaimer, ou encore une mauvaise résistance aux maladies et parasites. De plus, les reines importées ne sont pas entièrement adaptées aux conditions environnementales du Québec et peuvent représenter un risque sanitaire (Chapleau, 1987; Giovenazzo, 1992; Cobey & al., 2009; Agence canadienne d'inspection des aliments, 2013) et une mauvaise adaptation climatique (Meixner & al., 2014).

C'est pourquoi, le développement d'élevage de reines de qualité au Québec est très avantageux pour que les apiculteurs puissent se procurer des reines performantes, parfaitement adaptées au climat et à l'environnement québécois (Fédération des apiculteurs du Québec, 2010; Chapleau, 2012). Aussi, la qualité des reines passe par une sélection rigoureuse du comportement des colonies candidates à l'élevage de reines. Une bonne candidate doit posséder les caractéristiques suivantes : une forte productivité en miel, une faible tendance à essaimer, un développement printanier hâtif, une bonne résistance à l'hivernage, un bon comportement hygiénique et une bonne résistance aux maladies et aux parasites. L'ensemble de ces critères est la clé pour obtenir une lignée rustique et performante. Toutefois, le processus de sélection de reines reproductrices est long car il passe par une observation rigoureuse des colonies pendant une période d'au moins un an (Chapleau, 1987; Cobey & al., 2009). La fécondation dirigée des reines vierges produites par des faux-bourçons de qualité est aussi un élément essentiel au maintien d'une lignée performante. Elle se fait soit par l'intermédiaire de sites de fécondation ou par insémination instrumentale ou artificielle (Jean-Prost & Le Conte, 2005; Cobey, 2007; Büchler & al., 2013). Généralement, les sites de fécondation correspondent à des sites éloignés d'au moins 10 kilomètres de tout autre rucher, ce qui permet de contrôler la fécondation des reines vierges produites avec des faux-bourçons performants. Les sites insulaires sont idéaux pour ce genre de pratique (Büchler & al., 2013; Fert, 2014). L'insémination artificielle des reines vierges est une méthode plus complexe car elle nécessite un matériel spécialisé et une main-d'œuvre hautement qualifiée. Cependant, le contrôle de la sélection est davantage performant avec cette méthode (Cobey 2007; Harry & Laidlaw, 2008). Depuis quelques années, un projet de recherche sur la sélection et la qualité des reines a été mis en place au Centre de Recherche en Science Animale de Deschambault dans le but d'améliorer la génétique des abeilles mellifères au Québec afin de faire prospérer l'élevage de reines et par conséquent d'aider les apiculteurs dans la province de Québec (Giovenazzo, 2009; Rousseau & al., 2015).

### 1.3.2 La production de nucléi

La division de colonies dans le but de remplacer les pertes hivernales et d'agrandir les cheptels fait partie intégrante des nouvelles pratiques essentielles à la gestion optimale des ruchers (Boucher & al., 2011; Currie & al., 2010; Desjardins & al., 2006). Cependant, il existe un grand nombre de méthodes pour la confection de nucléi et chaque apiculteur adopte sa propre méthode, plus ou moins performante selon les cas, et est souvent transmise de père en fils. Parfois, la méthode de division utilisée aggrave la situation plus qu'elle ne l'améliore, produisant ainsi un cercle vicieux (Chapleau, 2012).

La saison d'essaimage artificiel étant très longue (soit du début du printemps jusqu'à la fin de l'été), le moment propice de la division de la colonie est important et dépend de la situation de l'apiculteur et de ses ruches. La force des nucléi produits varie selon leur période de confection. Des nucléi confectionnés tôt au printemps peuvent être plus forts que des nucléi confectionnés à la fin de l'été car ils ont plus de temps pour se développer avant l'hivernage (Bahl, 2014; Boucher & al., 2011; Desjardins & al., 2006). De plus, pour réaliser une division de colonies avec succès, il est important de choisir des colonies populeuses, qui risquent d'essaimer naturellement au cours de la saison (Kievits, 2009; Jean-Prost & Le Conte, 2005). Pour une survie optimale des nucléi produits, il est important de leur fournir du pollen et du miel ou du sirop (Boucher & al., 2011; Ambrose, 2008; Harry & Laidlaw, 2008). Par ailleurs, pour éviter un retour des abeilles formant les nucléi dans leur colonie initiale, il est important d'éloigner de plus de 3 kilomètres les nucléi des colonies mères ou de leur faire passer quelques nuits en caveau (Berry, 2008; Faure, 2010; Riondet, 2013).

Parmi toutes les méthodes existantes, chacune possède ses avantages et inconvénients. Toutefois on distingue deux grandes catégories de nomination des moyens utilisés : les nucléi sur cadres et les paquets d'abeilles (Jean-Prost & Le Conte, 2005).

#### *1.3.2.1 Les nucléi sur cadre*

Les nucléi sur cadres sont formés de plusieurs cadres de couvain. Dans le vocabulaire apicole, un cadre correspond à une structure rectangulaire en bois qui est suspendu à l'intérieur de la ruche et qui, contient les rayons de cire destinés à recevoir le couvain ou le miel. Dans le cas d'une ruche Langstroth, ces cadres mesurent 43 cm de long sur 23 cm de haut (Figure7) avec leurs abeilles adhérentes. Le nombre de cadres de couvain apportés dépend du moment auquel ils sont formés. Généralement, les nucléi formés au début du printemps sont composés de 2, voir 3, cadres de couvain et les nucléi élaborés à la fin de l'été contiennent 4 à 5 cadres de couvain. Les cadres de couvain sont placés soit dans une ruchette, soit dans une hausse standard de ruche, mais toujours avec un réducteur d'entrée pour garder un maximum de chaleur dans les

nucléi et éviter le pillage par des abeilles de colonies plus fortes (Vickery & Levac, 2005; Desjardins & al., 2006; Boucher & al., 2011; Fert, 2014). Une ruchette est une petite ruche qui ne contient que 4 ou 5 cadres et qui sert de nid intermédiaire à la colonie d'abeilles avant d'être transférée dans une ruche. Une hausse correspond à une caisse en bois sans fond ni couvercle qui contient 9 ou 10 cadres dans le cas d'une ruche Langstroth. (Figure 7).

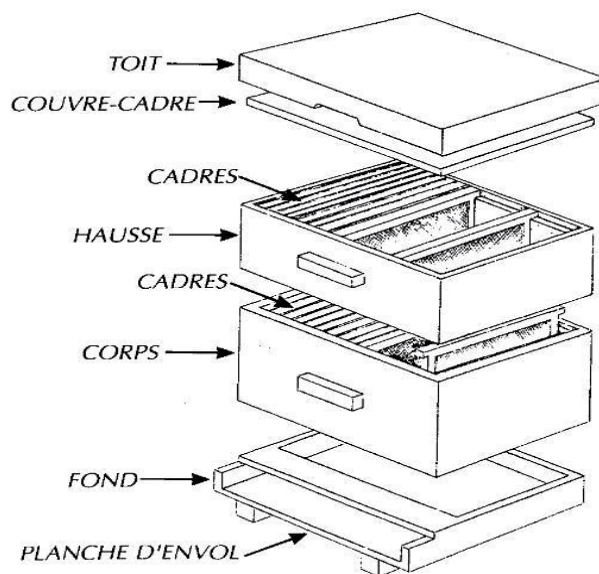


Figure 7: Éléments d'une ruche à cadres mobiles. Extrait de «la note technique sur la pollinisation en carotte porte graine : Notions de base sur la conduite des colonies» (Morel & Coussy, 2015).

Ensuite, l'apiculteur peut choisir entre trois options : 1) laisser les abeilles produire une cellule royale à partir d'un œuf, 2) introduire un cadre sur lequel se trouve une cellule royale, pendant la confection de la ruchette, ou 3) introduire une reine vierge ou une reine fécondée dans le nucléus. Selon le choix adopté, la production de couvain reprendra plus ou moins rapidement et le développement du nucléus sera plus ou moins important (Jean-Prost & Le Conte, 2005; Fert, 2014). L'introduction de reines fécondées est plus favorable au succès que l'introduction de reines vierges, car les reines fécondées produisent plus de phéromones et se feront plus facilement accepter par la colonie (Ambrose, 2008). De plus, ces jeunes reines peuvent provenir d'un programme de sélection et ainsi assurer une descendance performante (Chapleau, 1987; Jean-Prost & Le Conte, 2005).

Les techniques de prélèvement d'abeilles et de couvain pour former des nucléi sur cadres sont nombreuses. Les plus connues sont: la méthode ordinaire, la méthode provençale, la méthode Jacques

Meurant, la méthode de l'éventail et la méthode de double éventail (Tableau 1). Chaque technique présente plus ou moins de difficulté dans sa réalisation (Jean-Prost & Le Conte, 2005; Riondet, 2013).

**Tableau 1: Avantages et inconvénients des différentes méthodes de production de nucléi**

Méthodes	Avantages	Inconvénients
Méthode Vignole		Nécessite de tapoter contre la ruche Donne très souvent des colonies «essaimeuses» Ne donne qu'un nucléi à la fois
Méthode ordinaire	Ne nécessite pas de déplacement du nucléi dans un autre rucher	Ne donne qu'un nucléi à la fois
Méthode provençale	Rapide Sélection Prévention de l'essaimage en affaiblissant les colonies populeuses	Nécessite des colonies très populeuses Nécessite le déplacement du nucléi dans un autre rucher Ne donne qu'un nucléi à la fois
Méthode Jacques Meurant	Cette méthode peut-être réalisé avec des ruches installées sur palettes	
Méthode de l'éventail	Produit beaucoup de nucléi (maximum de 5 nucléi par ruche mère)	Nécessite des colonies populeuses avec des reines âgées Entraine beaucoup de manipulations
Méthode du double éventail	Produit beaucoup de nucléi (plus de 5 nucléi par ruche mère)	Nécessite des colonies populeuses avec des reines âgées Entraine beaucoup de manipulations

Les nucléi sur cadre se développent généralement plus rapidement car ils contiennent déjà du couvain et peuvent même produire du miel dès la première année de leur confection (Ambrose, 2008). Cependant, ils peuvent représenter un risque sanitaire plus important que d'autres méthodes de confection d'essaims artificiels car toutes les maladies du couvain peuvent être transmises par cette méthode (Ambrose, 2008; Agence canadienne d'inspection des aliments, 2013). De plus, dans le cas d'achat, les nucléi sur cadres sont en moyenne 25 à 50 % plus dispendieux que les paquets d'abeilles (Ambrose, 2008).

### **1.3.2.2 Les paquets d'abeilles**

Les paquets d'abeilles sont habituellement composés de 1 à 2 kg d'abeilles ouvrières et d'une reine fécondée (Desjardins & al., 2006; Boucher & al., 2011). Plus les paquets d'abeilles sont confectionnés tard dans la saison, plus il est préférable que ceux-ci soient lourds, c'est-à-dire confectionnés avec plus de 2 kg

d'abeilles (Vickery & Levac, 2005). Les paquets d'abeilles sont placés soit dans une ruchette, soit dans une hausse standard contenant des cadres vides. Pour cette méthode, il est inutile de se préoccuper de la génétique des abeilles ouvrières qui confectionnent le paquet d'abeilles car, seule la génétique de la reine est importante (Chapleau, 1987).

Les paquets d'abeilles possèdent beaucoup d'avantages car ils représentent un risque sanitaire moindre par rapport à d'autres méthodes, notamment par rapport aux maladies du couvain (Agence canadienne d'inspection des aliments, 2013). Les paquets se développent très rapidement lorsque l'on y introduit une reine déjà fécondée (Ambrose, 2008) et ils peuvent être placés dans des ruches de différentes dimensions, ce qui les rend beaucoup plus maniables pour les apiculteurs que des nucléi sur cadres. Les risques de dérive peuvent être un peu plus importants avec des paquets d'abeilles, c'est pourquoi il est important de les assembler en fin de journée lorsque les activités de vol sont minimales (Berry, 2008; Faure, 2010).

### *1.3.2.3 L'introduction des reines dans les essaims artificiels*

Une fois le nucléus formé, l'apiculteur choisira d'y introduire une cellule royale, une reine vierge ou encore, une reine fécondée (Jean-Prost & Le Conte, 2005; Fert, 2014). Pour introduire une reine dans une nouvelle colonie, il est important de la protéger des ouvrières pendant un certain temps afin qu'elles fassent «connaissance» et que les phéromones de la reine diffusent dans la colonie (Harry & Laidlaw, 2008). L'utilisation de cagette d'introduction ou d'expédition est donc fortement conseillée pour faciliter l'introduction (Chapleau, 1987). L'introduction de reines fécondées est privilégiée à celle de reines vierges, car une reine fécondée produit plus de phéromones et se fera plus facilement accepter par la colonie. Néanmoins, l'introduction de reines vierges dans des colonies d'abeilles issues de paquets d'abeilles présente un taux de réussite plus important que chez les nucléi sur cadre (Jean-Prost & Le Conte, 2005; Fert, 2014).

Enfin, la rapidité du développement du nucléus dépend en partie de l'âge de la reine qui y est introduite. Plus la reine introduite dans le nucléus est jeune, plus le démarrage de la ponte se fera tard. Cependant, le coût pour des reines fécondées est plus important que celui pour des cellules royales ou des reines vierges (Fert, 2014).

## 1.4. Objectifs et hypothèses de recherche

### 1.4.1 Objectif général

À ce jour, et selon toutes les informations trouvées dans la littérature, aucune méthodologie rigoureuse concernant la confection de nucléi adaptés à l'apiculture « commerciale » n'a été établie au Québec pour guider les apiculteurs. L'objectif général du projet était d'optimiser la production de nucléi de façon à obtenir des colonies performantes au Québec. Ultimement, cela permettrait de remplacer les pertes de colonies, de répondre à la demande de pollinisation, d'éviter l'introduction de parasites et maladies et de conserver une génétique propre au cheptel québécois.

### 1.4.2 Objectifs spécifiques 1

La première série d'objectifs spécifiques du projet était:

- Comparer trois méthodes de confection de nucléi :
  - Nucléi confectionnés à partir de deux cadres de couvain ;
  - Nucléi confectionnés à partir d'un cadre de couvain ;
  - Nucléi confectionnés à partir d'un paquet d'abeilles.
- Évaluer ces trois méthodes de confection selon plusieurs paramètres (poids, surface de couvain, activité des butineuses, nombre d'inter-cadres occupés par les abeilles) afin de déterminer la performance des colonies résultantes.
- Évaluer l'aspect sanitaire de ces trois méthodes de confection de nucléi, tel le taux d'infestation en varroa et nosémoze.

#### 1.4.2.1 Hypothèse 1:

L'hypothèse en lien avec ces objectifs est :

La méthode de confection de nucléi influence le son développement ultérieur de la colonie résultante.

En relation avec cette hypothèse deux prédictions ont été émises :

- Plus la quantité de couvain introduit dans les nucléi est grande, plus rapide sera leur développement.
- Les paquets d'abeilles présentent un avantage sur le plan sanitaire par rapport aux autres méthodes.

### 1.4.3 Objectifs spécifiques 2

Les objectifs spécifiques du projet pour le suivi des ruches mères (celles-ci correspondent aux ruches dans lesquelles on va prélever les abeilles ou le couvain) sont les suivants :

- Évaluer le développement des ruches mères et comparer celles-ci en fonction des prélèvements effectués (prélèvement de 6 cadres de couvain, prélèvement de 3 cadres de couvain, prélèvement de 3 kg d'abeilles).
- Évaluer l'aspect sanitaire (e.g., taux d'infestation en varroa et nosérose) des ruches mères en fonction des prélèvements effectués.
- Évaluer le comportement d'essaimage des ruches mères en fonction des prélèvements effectués.

#### 1.4.3.1 Hypothèse 2:

L'hypothèse en lien avec ces objectifs est :

Les prélèvements de couvain et d'abeilles effectués sur les colonies mères pour la confection de nucléi influencent leur développement ultérieur.

En relation avec cette hypothèse deux prédictions ont été émises :

- Plus la quantité de couvain prélevée dans les ruches mères est grande, plus l'impact sur leur développement ultérieur et sur leur état sanitaire sera marqué.
- Plus la quantité de couvain prélevée dans les colonies mères est grande moins le comportement d'essaimage y sera exprimé.



## **1.5. Approche méthodologique**

Afin de vérifier ces hypothèses, un dispositif expérimental a été élaboré pour obtenir des nucléi de génétique similaire, mais confectionnés à partir de trois méthodes différentes, et d'évaluer leur développement et leurs aspects sanitaires de juin 2014 à juin 2015. Un second dispositif expérimental a été mis en place durant cette même période pour le suivi des ruches mères (c'est-à-dire les ruches dans lesquelles ont été réalisés les prélèvements d'abeilles et de couvain pour confectionner les nucléi) afin d'évaluer l'impact des prélèvements sur le développement, l'aspect sanitaire et le comportement d'essaimage au cours de la saison apicole 2014 (année de confection des nucléi). Toutes les manipulations ont été effectuées sur des colonies d'abeilles du Centre de recherche en sciences animales de Deschambault (CRSAD).

**Chapitre 2: Comparison of bee packages method  
and nuclei methods to optimize honeybee (*Apis  
mellifera* L.) production**

## Résumé

Au Québec, il y a un besoin croissant en colonies d'abeilles domestiques pour satisfaire la demande en services de pollinisation et remplacer la forte mortalité hivernale de colonies. L'objectif principal de notre étude était de développer une méthodologie pour la production de nouvelles colonies qui est à la fois plus structurée et mieux adaptée à l'industrie apicole canadienne d'aujourd'hui. Une technique de paquet d'abeilles (1 kg d'abeilles adultes + une jeune reine fécondée) et deux techniques de confection de nucléi (un ou deux cadre(s) de couvain + jeune reine fécondée) ont été testées au Centre de Recherche en Sciences Animales de Deschambault. Ces colonies ont été suivies de juillet 2014 à juin 2015, à l'aide de plusieurs paramètres destinés à évaluer leur force et la présence de pathogènes. Nos résultats n'établissent aucune différence de force entre les techniques, cependant ils démontrent que le nucléus à un cadre de couvain offre le plus grand potentiel de multiplication comparé aux deux autres techniques testées. Cette méthode est la plus avantageuse économiquement, permettant de produire jusqu'à six nucléi à partir de la même colonie-mère. De plus, cette étude confirme que la production de nucléi réduit l'essaimage et l'infestation en varroa des colonies-mères.



## **Abstract**

In Canada, there is a growing need for additional honeybee colonies to satisfy the demand for pollination services and compensate for high winter colony mortality. The main objective of our study was to develop a methodology that would be both better structured and better adapted to producing new colonies in today's Canadian beekeeping industry. The efficacy of three colony production techniques was tested and compared at the Deschambault Research Center for Animal Sciences (CRSAD) in Québec: 1) package bees (1kg of adult bees + young mated queen); 2) one brood frame + young mated queen and 3) two brood frames + young mated queen. These experimental colonies were monitored from July 2014 to June 2015, and several parameters were measured to evaluate their strength and the presence of pathogens. Results showed no statistical difference in colony strength between techniques. However, starting with one brood frame nuclei was shown to be the technique offering the greatest multiplication potential. This technique was also the most advantageous economically, producing up to six nuclei from the same mother colony. Furthermore, this study confirmed that nuclei production reduces swarming and varroa infestation in mother colonies.



## 2.1. Introduction

In recent years, the Canadian beekeeping industry has experienced strong growth, in part, due to the increase of pollination services associated with lowbush blueberry and cranberry production (ISQ, 2014; Li & Belzile, 2014). These two crops represent 90 % of the 2015 colony rentals in the Canadian province of Québec (39 714 colonies; ISQ, 2015).

At the same time, factors affecting the health of honeybee colonies including diseases, parasitism by *Varroa destructor* and *Nosema spp.* shortage of flower resources, pesticide exposure and stresses associated with pollination services are causing important winter losses (Currie & al., 2010; Guzman-Novoa & al., 2010 MAPAQ, 2014; Nasr & al., 2014; Kempers & al., 2015). In Canada, the average rate of winter losses for the past 10 years has been 25 % (Pernal, 2007, 2008, 2009, 2010, 2011; Boucher & al., 2012, 2013; Nasr & al., 2014), while the rate considered acceptable by many beekeeping professionals is 10 to 15 % (Furgala & McCutcheon, 2008). These severe winter losses and the greater demand for pollination services have pushed beekeepers to multiply colony numbers by producing more nuclei during the productive season. Multiplying colonies is achieved by creating a new colony with a young mated queen and either just bees (“package bees”) or brood and bees (“nucleus bees”) (Ambrose, 2008). Despite the efforts of beekeepers, the available bee colonies in Canada still do not meet the demand for pollination services. As a result, beekeepers must import package bees from New Zealand and Australia, and queens from California, Australia, Chile, Hawaii or neighboring Canadian provinces (Vickery & Levac, 2005; Chapleau, 2012; Agence canadienne d’inspection des aliments, 2013).

Bee imports are an acceptable but unsustainable short term solution, since they are costly and pose important health risks to Canadian colonies. Although imported bees are regulated by health authorities, they may nonetheless bring added risk of disease or parasites (Agence canadienne d’inspection des aliments, 2013). Furthermore, bee imports introduce foreign honeybee stock poorly adapted to the country’s climate and beekeeping industry, and thus limit efforts to establish an entirely local honeybee genetic profile through domestic breeding programs (Chapleau, 1987). Together, these reasons encourage Canadian beekeepers to seek self-sufficiency in honeybees (Fédération des apiculteurs du Québec, 2010; Chapleau, 2012).

Developing a rigorous methodology for honeybee colony multiplication will assist beekeepers in all these areas (Desjardins & al., 2006; Chapleau, 2012). To our knowledge, little information is available in either technical or scientific apiculture literature on efficient methods for producing new colonies. It appears that

relevant technical knowledge is passed on from generation to generation among beekeepers, and individual beekeepers may have their own, more or less effective method (Jean-Prost & Le Conte, 2005; Ambrose, 2008). The aim of this study was to compare the efficacy of three methods of colony multiplication to help develop a methodology that beekeepers can follow. At the same time, this approach may help beekeepers replace their losses, meet pollination demand, prevent the introduction of parasites or diseases, and contribute to maintaining locally adapted and selected honeybee populations. Our general hypothesis was that colony multiplication method influences the development of both the new and mother colonies. Specific hypotheses were: A) new colonies that are started with more brood frames will develop faster; B) new colonies started with package bees (no brood) will have reduced pathogen loads; and C) mother colonies from which most brood is taken to produce new colonies, will show reduced development, lower swarming behavior and higher *V. destructor* infestation and *Nosema spp.* infection rates.

## **2.2. Materials and Methods**

### **2.2.1 Biological material**

This study was conducted at the Deschambault Research Center for Animal Sciences (CRSAD, N 46°40.27', W10°71.50'), Québec, Canada in 2014-2015. Mother colonies (n=15) used to make nuclei and package honeybee colonies were composed of two brood boxes and had sister queens (hybrid Italian, Buckfast stock) that had been introduced the year before. Prior to the beginning of our study, colonies were evaluated for strength (weight, brood amount and foraging activity), as well as for varroa mite infestation and *Nosema spp.* infection rates.

### **2.2.2 Experimental design**

Three methods of colony multiplication were compared: package of bees (PB), nuclei with 1 brood frame (1BF), and nuclei with 2 brood frames (2BF). Fifteen mother colonies were classified into three groups according to strength (weight, brood amount and foraging activity); bees and brood from them were used to make the three groups of new colonies (PB; 1BF; 2BF). Once this process was completed, there were 8 PB colonies, 15 1BF colonies and 15 2BF colonies. Mother colonies were kept for comparison purposes (Table 1).



### 2.2.3 Colony multiplication: Nucléi and package bee assembly

Before assembling nuclei, all queens from the mother colonies were found and temporarily retained in queen cages for the duration of the process. Nuclei and package bees were prepared on June 25, 2014 and were started in standard Langstroth hives with the brood chambers composed of eight, seven or six frames with drawn comb (depending on the method) and one frame feeder (Propolis-etc..., Saint-Pie, QC, Canada; FE-1300).

Bee packages were made with adult bees from frames of the mother colonies. Frames were shaken above a funnel placed over a brood chamber and a platform scale (CAS-USA, East-Rutherford, New-York, US; CAS CI-2001 BS) until a weight of 1 kg of worker bees was reached (Ambrose, 2008; Laidlaw, 2008). Honeybees were lightly sprayed with water to prevent them from flying (Peyvel, 2002; Berry, 2008). A total of 8PB were made from 5 mother colonies. Another five mother colonies were used to make 15 1BF nuclei (three brood frames used from each mother colony) and another five mother colonies were used to make 15 2BF nuclei (six brood frames used from each mother colony). Each of these new colonies was installed in a 9-frames Langstroth hive body mounted on with a screened bottom board (Dadant & Sons Inc., Hamilton, Illinois, US; #M01650).

All newly formed colonies were transported and placed into an environmentally controlled room (15°C +- 1°C) for 24 hours, and then, the following day, moved to two apiaries. The hives from each experimental group were randomly and equally distributed between the two apiaries. They were immediately fed with 2 liters of sucrose-water solution (1:1) and 500g of protein supplement (Global Patties Inc., Airdrie, Alberta, Canada; standard 15% pollen patty). Sister queens from hybrid local stock were introduced in each colony. Entrance reducers were installed in the hives to help honeybees regulate internal colony temperature (Vickery & Levac, 2005 ; Desjardins & al., 2006). From then on, colonies were managed for honey production, and honey supers were added as needed. At the end of August 2014, honey supers were removed and colonies were reduced to one brood box. Each colony was then fed 24 liters of sucrose-water solution (2:1) using a top feeder (Propolis-etc..., Saint-Pie, QC, Canada; FE-1100). On September 15, 2014, all colonies received a varroa mite treatment consisting of two Thymovar® strips placed on the top bars of the brood box. Young colonies were overwintered from November 15, 2014 to April 25, 2015 in an environmentally controlled room (4°C +- 1°C and 40% RH).

## 2.2.4 Measurement of dependent variables

The following variables were monitored from June 25, 2014 until May 25, 2015:

- Brood population: the area occupied by immature worker honeybees (eggs + larva + capped brood) in colonies was evaluated by measuring width and length of the brood surface on each sides of every brood frame using graduate hive tool. The rectangular surface obtained was multiplied by 0.8 to compensate for the elliptical form of the brood pattern. These values were added to calculate the total brood surface of each colony. A factor of 25 worker cells per 6.25 cm<sup>2</sup> (i.e., 1 square inch) was used to convert the area to obtain a number for immature worker honeybees (Giovenazzo & Dubreuil, 2011).
- Adult bee population: for each colony, the size of the cluster of bees was measured by opening each hive and counting the number of frames occupied by the bee cluster around the brood as viewed from above and the number of frames as viewed from below. The index varied between 0 (dead colony) and 10 and was calculated using the following formula: (number frames with bees and brood viewed from above + number frames with bees and brood viewed from below) / 2.
- Foraging activity: foraging activity was measured weekly between 11 am and 3pm when flight conditions were favorable for honeybees. Each week, two observers counted the number of outgoing foragers during a 30-second period with the help of a hand-held counting device. Observers were positioned next to the hive to avoid obstructing the flight of bees. Colonies were evaluated in random order three times the same day (Chagnon & al., 2007; Delaplane & al., 2013b).
- Colony weight gain: hives were weighed individually throughout the season each time a honey super was added or removed by placing the entire colony (brood chamber and honey supers) on a platform scale (CAS-USA, East-Rutherford, New-York, US; CAS CI-2001 BS).
- Observation of swarming behavior in mother colonies: swarming behavior was verified once every two weeks. All frames in each colony were carefully inspected and queen cells were counted and destroyed (Delaplane & al., 2013b).

- Varroa mite infestation levels: infestation was assessed by the natural mite fall method (Imdorf & al., 2003; Dietemann & al., 2013). Varroa mites that had fallen onto sticky-boards placed on the bottom boards of all hives were counted. Sticky-boards covered the entire bottom surface of hives and were changed every week during the following periods: from June 25, 2014 to July 2, 2014; from July 29, 2014 to August 5, 2014; from August 25, 2014 to September 2, 2014; and from May 15, 2015 to May 21, 2015.
- Nosema infection levels: approximately 60 forager bees were retrieved in each colony and preserved in 70% ethanol. *Nosema spp.* infection levels were assessed by determining spore counts per bee (Cantwell, 1970).

### 2.2.5 Statistical analysis

Statistical tests were conducted using SAS software (ver. 9.4, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) at the 0.05 level of significance. All dependent variables were tested for normality using the Shapiro-Wilk test and a Box-Cox power transformation was used when necessary to meet the normality assumptions of the model. Variables were analyzed by means of an analysis of variance (ANOVA), with repeated measurements for a mixed model using Glimmix and Mixed procedures. When a significant effect was observed ( $P < 0.05$ ), the means of experimental groups were compared using Tukey Kramer Grouping's least significant difference method. Swarming behavior data was analyzed with a binomial mixed model. Mortality was analyzed with a mixed logit model. Only mortality data of nuclei 1BF and 2BF were taken into account for this analysis because package bee colonies were all alive and to add these data into analyses could skew the results.

## 2.3. Results

### 2.3.1 New colonies

Five of the initial 38 new colonies died or were eliminated during the experiment. Three of these had drone-laying queens from the start, one queen was not accepted and one colony died during wintering. Mortality was similar between the 3 methods ( $F=1.03$ ;  $df=1, 8$ ;  $P=0.3399$ ).

For colony strength, Figure 8 shows that after one month (in mid-July), the mean number of cells occupied by brood ( $\pm$  SE) was similar between groups PB, 1BF and 2BF ( $F=1.42$ ;  $df=2, 131$ ;  $P=0.2465$ ). Furthermore,

Figure 9 shows that significantly more inter-frames were occupied by bees in the 2BF group colonies compared to other groups for the same measurement time ( $F=1.71$ ;  $df=16, 256$ ;  $P=0.0454$ ). Over all, average colony strength (mean number of cells occupied by brood and inter-frames occupied by bees) was similar throughout the 2014 season and during the following spring (on May 25, 2015).

Throughout the summer of 2014, average activity level of colonies (number of outgoing foragers / 30 seconds) in various groups was similar (Figure 10;  $F=1.06$ ;  $df=14, 226$ ;  $P=0.3959$ ). There was a peak of activity in mid-August, ranging from 45 to 50 outgoing foragers / 30 seconds / colony.

Figure 11 shows that group 2BF colonies were significantly heavier than those of 1BF and PB groups from July 3 to September 2 ( $F=2.82$ ;  $df=18,287$ ;  $P=0.0002$ ). However, in November 2014 and May 2015, the weight of colonies from the three groups was similar ( $F=0$ ;  $df=2, 287$ ;  $P=1.00$  and  $F=0$ ;  $df=2, 287$ ;  $P=0.9961$ , respectively).

Varroa mite infestation levels were low (below 1 varroa daily drop) and similar between the 3 groups throughout the experiment ( $F=0.43$ ;  $df=6, 99$ ;  $P=0.8578$ ). In 2014, *Nosema spp.* infection levels were significantly higher in the colonies of group PB compared to the colonies of groups 1BF and 2BF (Figure 12,  $F=6.90$ ;  $df=2, 31$ ;  $P=0.0033$ ). However, *Nosema spp.* infection levels were similar between all groups in May 2015 ( $F=1.05$ ;  $df=2, 30$ ;  $P=0.3610$ ).

### 2.3.2 Mother colonies

Mother colonies were of similar strength (mean number of cells occupied by brood  $\pm$  SE) and had similar weight (Figures 13 and 14) before and after nuclei assembly. There were two peaks in forager activity (number of outgoing foragers / 30 seconds) during July and August (Figure 15). Mother colony group MC2BF presented significantly less foraging activity than mother colony groups in which we had taken only bees (MCB) and control colonies in mid-July ( $F=5.65$ ;  $df=3, 77$ ;  $P=0.0015$ ). In mid-August, control colonies showed significantly less activity than mother colonies of MCB ( $F=5.80$ ;  $df=3, 77$ ;  $P=0.0013$ ) and MC2BF groups ( $F=4.11$ ;  $df=3, 77$ ;  $P=0.0093$ ). At the end of August, we observed that activity was less important but similar between all hives ( $F=1.59$ ;  $df=3, 77$ ;  $P=0.1996$ ).

Swarming behavior was absent or low in July for colonies in which we took brood or bees, whereas control colonies produced more queen cells during this month (Figure 16); high variability between colonies

was evident as well. At the end of the summer, mother colonies and controls produced fewer queen cells. If data for all mother colonies were pooled (MCB + 3BF + 6BF), control colonies produced significantly more queen cells ( $\chi^2=4.2124$ ;  $df=1$ ;  $P=0.0401$ ).

Varroa mite infestation rates were low (below 1 varroa mite daily drop) and similar between all groups (mother and control colonies) prior to colony multiplication from June 20, to August 4 (Figure 17). However, in September 2014, mite infestation rates were significantly higher in control colonies ( $F=14.45$ ;  $df=3, 32$ ;  $P<0.0001$ ).

Infection rates of *Nosema spp.* (Figure 18) were similar between all groups prior to colony multiplication ( $F=2.08$ ;  $df=3, 13.1$ ;  $P=0.1519$ ). One month later, *Nosema* infection rates were significantly lower in all groups but similar among groups ( $F=1.94$ ;  $df=3, 14$ ;  $P=0.1693$ ).

## 2.4. Discussion

The main purpose of this study was to assess development and parasitic status of new colonies assembled with three methods of colony multiplication (PB, 1BF, 2BF). The mother colonies were also compared with control colonies (colonies from which of brood or adult bees were retrieved). Our results showed that new colonies made following each of the three methods did not significantly differ in terms of development, growth or health. Furthermore, we found that the use of brood and adult bees from mother colonies did not affect subsequent development and health of mother colonies. Finally, the most important result of this study is that colonies of group 1BF showed the highest potential for multiplication of the three methods tested because six nuclei can make from a single mother colony. These findings will help beekeepers select a colony multiplication method based on its operational performance.

### 2.4.1 New colonies

Brood population: Regardless of the quantity of brood used to set up a nucleus colony, all nuclei (the three methods confounded) had similar brood strength at the end of the first summer of the experiment. In the spring of the following year, colonies resulting from the three methods met pollination standards because all had more brood (means  $\pm$  SE of number of brood frames in May 2015 of 2BF nuclei, 1BF nuclei, and PB, respectively:  $11.2 \pm 0.37$ ;  $10 \pm 0.5$ ;  $10.44 \pm 0.48$ ) than the six brood frames required in pollination contracts (FAQ, 2015 ; Hoopingarner & Waller, 2008 ; Gary & al., 1978).

Adult bee population: During the first three weeks following nuclei creation, 2BF nuclei had more inter-frames occupied by bees than 1BF nuclei, since their larger brood quantity at the start led to more emerging bees in the early weeks of the experiment, and hence resulted in a larger honeybee population. This observation regarding the surplus of honeybees confirmed our hypothesis concerning the difference in weight of 2BF nuclei compared to the other methods (1BF and PB).

However, two factors may have skewed our results. First, our inter-frame-based bee-counting system certainly amplified measurements of adult bee population for PB nuclei. The reduced amount of brood in these nuclei during the initial weeks following their creation did not require that bees clustered around the brood area to ensure its thermoregulation and care as occurred with the other 2 methods. These behaviors are normally carried out under the control of a brood pheromone emitted by the brood in honeybee colonies, which was absent or reduced from these nuclei for a time (Le Conte & al., 1990). This hypothesis would explain why we did not observe significant differences in adult bee population between 2BF and PB nuclei comparable to those observed between 2BF and 1BF nuclei during the initial weeks of the experiment. This hypothesis on the overestimation of the adult bee population in PB nuclei could also explain why we did not observe the same weight gain in 2BF and PB nuclei. A second factor that may have skewed our results is the measuring procedure, which focused only on the top of the inter-frames. This may have introduced bias to our data, because bees may have been concentrated on the top of the frames but not on the bottom, and the inter-frames may nonetheless have been counted as fully occupied by bees. Consequently, overestimation of the population of these nuclei is probable.

Foraging activity: Regardless of the multiplication method used, forager activity was not affected. The mid-August peak corresponds to one of the main periods of summer honey flow in Québec, probably due to blooming goldenrod (*Solidago spp.* Linnæus), a species very widespread in the province (Moisan-De-Serre & al., 2014; Storch, 2013; Feller-Demalsy & Lamontagne, 1979). Indeed, numerous studies have shown that honeybee foraging activity is connected with quality and abundance of floral resources, especially nectar resources (Winston & Fergusson, 1985; Schmid-Hempel, 1987; Seeley & al., 1991). Other factors could also explain this increase in foraging activity, such as a more important quantity of brood, which requires a greater supply of pollen (Eckert & al., 1994; Pankiw & al., 1998), or even the nutritional state of the colony (Free, 1967; Fewell & Winston, 1992). These factors may also have prompted colonies to recruit more foragers to carry out pollen and nectar foraging (Seeley & al., 1991). Foragers' activity in the month of July did not show a peak (contrary to mother colonies, see 2.4.2), because nuclei populations were still too small. Honeybee populations appear to have been insufficient compared to brood quantity incorporated in the nuclei, thus honeybees may

have abandoned their foraging activity to return to brood nursing tasks (Winston, 2008; Free, 1967). This documented mechanism, known as the "social inhibition" of foraging, is regulated by the pheromone methyl oleate (Leoncini & al., 2004).

The 2BF nuclei were heavier than all others throughout the summer of 2014. These nuclei were made with more brood and therefore attained a large bee population more quickly. For this reason, more bees were available for foraging, and more pollen and nectar were brought back to these nuclei in the days immediately following their establishment (Boucher & al., 2011; Hoopingarner & Waller, 2008; Gary & al, 1978) than was the case for nuclei with a smaller initial population made with less brood or just bees. This surplus of provisions explains the difference in weight between 2BF nuclei and the others (PB and 1BF). In fact, this weight difference persisted all summer, exclusively due to the surplus of provisions harvested shortly after colony establishment. No honey supers were installed on the brood chambers of the nuclei, therefore honeybees stored pollen and nectar in the brood chambers. Thus, we could not dissociate colony weight and honey weight. However, the weight gain in 2BF nuclei (about 5kg) was seemed too large for it to represent only brood and honeybee weight gain. Moreover, the weight curves of three nuclei-making methods plotted on the graph seem identical; the curve representing 2BF nuclei is merely shifted, compared to the two others. In the autumn of 2014, all nuclei had a similar weight, because during this period the honey frames had been harvested from the nuclei, all colonies had been reduced to one brood chamber and were fed with sucrose syrup to prepare them for the winter.

The true mortality rate of our nuclei was the one winter loss (a single nucleus). In this experiment, we considered the status of nuclei with a drone-laying queen or with queen acceptance problems as equivalent to mortality. However, a beekeeper can overcome such difficulties by introducing new queens into these colonies in order to keep them alive. In our case, introduction of new queens in these nuclei would have slowed their development compared to properly functioning nuclei. Consequently, we eliminated these nuclei from our experiment to avoid distorting our results.

While no significant difference in varroa mite infestation level was evident among the three methods, the fact that these levels were particularly low at the start may explain our results. If varroa mite infestations levels had been higher when making nuclei, nuclei including brood would likely have been more infested than PB nuclei because 70 % to 80 % of varroa mites remain in the brood during summer months (Pernal & Clay, 2015). Nuclei making with only honeybees, like our PB nuclei, would thus constitute the method that introduces the least varroa mites into colonies (Colin & Gonzales-Lopez, 1986; Büchler & al., 2013; Zemene &

al., 2015). The slight increase in varroa mite infestation level in September 2014 was due to the reduction of the colony to a single brood chamber and the slowdown in the queen's egg-laying rate, which causes the varroa mites to "emerge" from the brood (Pernal & Clay, 2015). In this experiment, a Thymovar treatment applied in the autumn was effective in controlling mite infestations, as shown by the lower *V. destructor* levels in nuclei in the spring of 2015.

In 2014, *Nosema spp.* infection levels were higher in PB nuclei. We suppose this result may be explained by the fact that nosema disease only affects honeybees at the adult stage (Pernal & Clay, 2015) and that PB had in it more adult bees than nuclei 1BF and 2BF after nuclei making. Making nuclei exclusively with adult bees could thus lead to greater dispersion of *Nosema spp.* among them. In 2015, all nuclei had similar *Nosema spp.* infection levels, because after one beekeeping season the entire nuclei had aged honeybees, and were thus potentially more infected by *Nosema spp.*.

#### 2.4.2 Mother colonies

Retrieving brood from mother colonies to establish nuclei reduced the amount of brood in them, but they recovered to levels similar to those of control colonies after a few weeks. Although we did not measure brood area in July, immediately after nuclei establishment, mother colonies did not differ in brood amount with control colonies a little over one month after making the nuclei. In studies on population dynamics of honeybee colonies, researchers have shown that MC1BF recover their pre-retrieval brood amount after four to six weeks (Imdorf & al., 1985; Imdorf & al., 2010). Finally, the populous mother colonies used to obtain brood or bees to establish nuclei were found to have population dynamic similar to those of colonies that swarm naturally. Indeed, when a colony swarms naturally, the amount of brood and adult bee population decline rapidly because the queen and part of the colony's population leave the hive (Winston, 1987; Gary, 2008). In this situation, brood production is no longer ensured by the queen, and the population will resume growing only after a few weeks, when a new queen will be "ready-to-lay" (Seeley & Visscher, 1985; Liebig, 1999; Imdorf & al., 2010). Colonies are thus naturally adapted to survive losses of brood or bees. In this experiment, the mother colonies may have rapidly recovered a brood surface similar to that of the control colonies because, contrary to natural swarming, the queens did not leave the hives and continued to lay eggs. Retrieving brood or adult bees thus disturbed the colony's brood development less than natural swarming would have, since there was no break in laying during the season.

No significant difference in weight was found between all mother colonies before and after nuclei making. In addition, no significant difference was found between mother colonies and control colonies after making



nuclei during the 2014 season. It is important to clarify that our weight measurements did take honey production into account, because the weight of honey supers was deducted from that of the hive. Brood and bee removal for nuclei making did not influence colony weight.

Results on foraging activity of control and mother colonies showed two peaks, one in July and another in August. These peaks correspond to the main summer nectar flows in Québec (*Trifolium spp.* Linnæus and *Solidago spp.* Linnæus). Foraging activity was more intense with greater quality and quantity of floral resources (Schmid-Hempel, 1987; Seeley & al., 1991). During the first peak, MC2BF showed low foraging activity compared to the three other types of colonies (C, MC1BF, MCB). In this case, it seems that brood removal from MC2BF colonies probably weakened them more than the other colonies during the first month, since less foragers were available to ensure pollination. However, in August, no significant differences were observed between mother and control colonies. In conclusion, removing six brood frames from MC2BF colonies appears to have disturbed their foraging activity over a period of less than one month, while foraging activity of the other mother colonies (MCB and MC1BF) was less affected because less brood was retrieved from them. No explanation has been identified for the significant differences observed in August between control colonies and the MC2BF or MCB but also between MC1BF and MC2BF.

Removing adult bees and brood from colonies delays and considerably moderates swarming behavior by mother colonies (Jean-Prost & Le Conte, 2005; Imdorf & al., 2010). Indeed, natural swarming is a mechanism by which a colony multiplies, allowing honeybees to propagate the species and compensate for losses due to mortality. This behavior is observed in populous colonies in late spring or early summer, when floral resources are abundant (Winston, 1987 ; Gary, 2008 ; Human & al., 2013). Removing adult bees and brood from colonies slows down their development and causes a temporary reduction in population. Thus, we did not observe queen cells in mother colonies in the spring of 2014 compared to control colonies.

No significant differences in varroa mite infestation levels were observed in our colonies throughout the summer of 2014. Infestation levels remained below 1 varroa mite dropped/day. It is known that during summer months, 70-80 % of varroa mites lurk in the brood (Pernal & Clay, 2015), which is why the extent of mite infestation was not observable during the summer with our screening method. In September, however, when the queen's egg-laying rate slows down, varroa mites can no longer lodge in the brood, the degree of infestation in hives becomes evident (Zemene & al., 2015). Thus, varroa mite infestation levels were found to be greater than 3.5 parasites dropped/day in control colonies during this period. However, the adult bees or

brood taken from mother colonies in early summer reduced the level of infestation found at the end of the summer. Removing brood or bees for the purpose of making nuclei thus helps control varroa mite infestation.

The *Nosema* infection level was higher in early June 2014, probably because of the presence of a number of winter bees in mother and control colonies and because foraging conditions were not yet optimal. The level of *Nosema* infection among these aged bees was very high because *Nosema* spores multiply in the ventriculus of the insects throughout the winter. Subsequently, in July, *Nosema* infection levels were lower than in June, probably because bee populations were renewed and, young bees had not yet been extensively infected by *Nosema* spores, but also because foraging conditions improved (Fernandez & Coineau, 2007; Smart & Sheppard, 2012; Huang & al., 2015; Pernal & Clay, 2015). Removing bees or brood from colonies did not seem to influence *Nosema* infection levels since there were no significant differences between mother and control colonies for this variable.

## 2.5. Conclusions

In conclusion, the three nuclei making methods resulted in high-performing colonies and did not noticeably affect mother colony development. Furthermore, weight differences observed between nuclei methods during experimentation lead us to believe that the 2BF nuclei method showed a slight advantage compared to other nuclei methods, supposedly because those nuclei were able to produce a few more kilograms of honey in the first year than the others. However, the foraging activity of the mother colonies used to produce these nuclei was relatively low during the first month after making the nuclei, compared to that of the other mother and control colonies.

At the end of the summer 2014, no significant differences in bee populations were found between 2BF and 1BF nuclei, confirming findings by Liebig (1998). We can add, based on the findings of this study, that PB nuclei follow the same population development as nuclei made with 1 or 2 brood frames by the end of the season. In addition, we used more parameters (brood population, adult bee population, weight and foraging activity) to estimate the strength of colonies, bringing greater precision to their evaluation.

Although this study did not establish major differences between colony multiplication methods, it allowed us to identify the notable benefits of nuclei making for beekeepers and enriched our knowledge of colony dynamics. Indeed, despite the removal of adult bees and brood from mother colonies, they developed equally well throughout the season, and as well as control colonies. Furthermore, they showed additional beneficial effects compared to control colonies, because their swarming behavior was not expressed during the summer

and their varroa mite infestation levels were much lower than those of control colonies at the end of summer. Therefore, in addition to expanding colonies and compensating for winter losses, nuclei making can also decrease varroa mite levels of existing hives and reduce swarming control work by beekeepers.

Varroa mite infestation levels in the new colonies were particularly low throughout the beekeeping season and thus did not allow us to draw conclusions about the choice of a nuclei making method in relation to this criterion. Perhaps if varroa levels in mother colonies had been higher, our conclusions would have been different. It would be interesting to repeat this experiment with mother colonies more heavily infested to evaluate this aspect more conclusively.

From an economic point of view, it is one brood frame nuclei method that showed the most advantages because it is the technique offering the greatest multiplication potential. Indeed, in this study no major differences between nuclei methods were showed and no major impacts on mother colonies were revealed. This allows us to assert that we could make six nuclei from one brood frame with one mother colony instead of making three nuclei from two brood frames with one mother colony. This way, a beekeeper could double his nuclei production but could also, for example, double his profits renting these hives for pollination services the following year.

## **Acknowledgments**

The authors would like to thank the entire beekeeping staff of the Deschambault Research Center for Animal Sciences: Michaël Benoît, Martine Bernier, Émile Houle, Georges Martin, Andrée Rousseau. We are grateful to Ernesto Guzman-Novoa and Madeleine Chagnon for their constructive remarks on a previous version. We would also like to thank Nolwenn Kerhervé, Frédéric McCune, Alex Pelletier and Stéphane Thibault for field and laboratory assistance, as well as Gaetan Daigle, David Edmond and Olivier Samson-Robert for help with statistical analysis. We are also grateful to Centre SÈVE and NSERC-Discovery for funding part of S. Maucourt's scholarship. Finally, we would like to thank the MAPAQ and their program to support sectorial development strategies (2) for overall financial support for this project.

## References

- Agence canadienne d'inspection des aliments. 2013. Guide du producteur d'abeilles domestiques norme nationale de biosécurité à la ferme pour l'industrie apicole. Biosécurité animale: 14–62.
- Ambrose JT. 2008. "Chapter 14: Management for honey production". In the Hive and the Honey bee. Hamilton, Illinois: Dadant & Sons, inc.
- Avitabile A. 2008. "Chapter 13: For the beginner". In the Hive and the Honey bee. Hamilton, Illinois: Dadant & Sons, inc.
- Berry J. 2008. Package time. Bee culture April: 43–45.
- Büchler R., Andonov S., Bienefeld K., Costa C., Kezic N., Kryger P., Spivak M., Uzunov A., Wilde J., Hatjina F. 2013. Standard methods for rearing and selection of *Apis mellifera* queens. Journal of Apicultural Research 52: 1–29.
- Cantwell G. 1970. Standard methods for counting *nosema* spores. American Bee Journal 110: 222–223.
- Chagnon M., Girard M., Leblanc H., H. 2007. Gestion et aménagement des pollinisateurs de la canneberge : Vers un rendement accru. CDAQ: 1–118.
- Colin ME., Gonzales-Lopez MD. 1986. Traitement de la varroatose de l'abeille domestique: chimiothérapie, mesures adjuvantes et perspectives de lutte biologique. Scientific and Technical Review of the Office International des Epizooties 5: 677–687.
- Desjardins DMV., Gauvin Y., Houle E., Jacques D., Marceau J., Pettigrew A. 2006. Apiculture: Trousse d'information et de démarrage. Québec, Canada : Centre de référence en agriculture et agroalimentaire.
- Delaplane KS., Van Der.Steen J, Guzman-Novoa E 2013. Standard methods for estimating strength parameters of *Apis mellifera* colonies. Journal of Apicultural Research 52: 1–12.
- Dietemann V., Nazzi F., Martin SJ., Anderson DL., Locke B., Delaplane KS., Wauquiez Q., Tannahill C., Frey E., Ziegelmann B., Rosenkranz P., Ellis JD. 2013. Standard methods for varroa research. Journal of Apicultural Research 52(1): 1–54.
- Eckert CD., Winston ML., Ydenberg RC. 1994. The relationship between population size, amount of brood, and individual foraging behaviour in the honey bee, *Apis mellifera* L. Oecologia 97 (2): 248–255.
- Fédération des Apiculteurs du Québec (FAQ). 2015. Contrat de pollinisation - Location de ruches.
- Feller-Demalsy M-J., Lamontagne Y. 1979. Analyse pollinique des miels du Québec. Apidologie 10 (4):313–340.
- Fewell J.H., Winston ML. 1992. Colony state and regulation of pollen foraging in the honey bee, *Apis mellifera* L. Behavioral Ecology and Sociobiology 30: 387–393.
- Free JB. 1967. Factor determining the collection of pollen by honeybee foragers. Animal Behaviour 15(1): 134–144.

- Fries I., Chauzat M., Chen Y., Doublet V., Genersch E., Gisder S., Higes M., McMahon DP., Martín-Hernández R., Paxton RJ., Tanner G., Webster TC., Williams GR., Sophia F. 2013. Standard methods for *Nosema* research. *Journal of apicultural research* 52 (1): 1–28.
- Furgala B., McCutcheon DM. 2008. "Chapter 20: Wintering productive colonies". In *the Hive and the Honey bee*. Hamilton, Illinois : Dadant & Sons, inc.
- Gary NE. 2008. "Chapter 8 : Activities and behavior of honey bees". In *the Hive and the Honey bee*. Hamilton, Illinois : Dadant & Sons, inc.
- Gary, N. E., Witherell P. C., Marston J. M. 1978. Distribution and foraging activities of honeybees during almond pollination. *Journal of apicultural research* 17 (4): 188-194.
- Giovenazzo P., Dubreuil P. 2011. Evaluation of spring organic treatments against *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) in honey bee *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) colonies in eastern Canada. *Experimental and Applied Acarology* 55: 65–76.
- Guzmán-Novoa E, Hamiduzzaman MM, Arechavaleta-Velasco M, Koleoglu G, Valizadeh P, Correa-Benítez A. 2010. *Nosema ceranae* parazited Africanized honey bees in Mexico since at least 2004. *Apidologie* 41(2) :443–50.
- Hoopingarner R.A., Waller G.D. 2008. "Chapter 24: Crop pollination". In *the Hive and the Honey bee*. Hamilton, Illinois : Dadant & Sons, inc.
- Huang W-F., Solter L., Aronstein K., Huang Z. 2015. Infectivity and virulence of *Nosema ceranae* and *Nosema apis* in commercially available North American honey bees. *Journal of Invertebrate Pathology* 124: 107–113.
- Human H., Brodschneider R., Dietemann V., Dively G., Ellis JD., Forsgren E., Fries I., Hatjina F., Hu F., Jensen AB., Köhler A., Magyar JP., Özkýrým A., Pirk CWW., Rose R., Strauss U., Tanner G., Tarpý DR., Van Der Steen JJM., Vaudo A., Vejsnæs F., Wilde J., Williams GR., Zheng H., Human H., Brodschneider R., Dietemann V., Dively G., Ellis JD., Forsgren E., Fries I., Hatjina F., Hu F., Jaffé R., Jensen B., Köhler A., Magyar JP., Özkýrým A., Pirk CWW., Rose R., Strauss U., Tanner G., Tarpý DR., Van Der Steen JJM., Vaudo A. 2013. Miscellaneous standard methods for *Apis mellifera* research . *Journal of Apicultural Research* 52 (4): 1–57.
- Imdorf A., Charrière J., Kilchenmann V., Bogdanov S., Fluri P. 2003. Alternative strategy in central Europe for the control of *Varroa destructor* in honey bee colonies. *Swiss bee Research Centre*: 1–21.
- Imdorf A., Ruoff K., Fluri P. 2010. Le développement des colonies chez l'abeille mellifère. *Agroscope Liebefeld-Posieux* 68: 43-48.
- Institut de la statistique du Québec. 2015. URL: [http://www.stat.gouv.qc.ca/statistiques/agriculture/apiculture-miel/tableau\\_h1.htm](http://www.stat.gouv.qc.ca/statistiques/agriculture/apiculture-miel/tableau_h1.htm). Consulté le 18 mars 2015.
- Jean-Prost P., Le Conte Y. 2005. *Apiculture : Connaître l'abeille, Conduire le rucher*. Paris : Tec & Doc.

- Von Frisch K. 2011. Vie et mœurs des abeilles. Paris, France : Albin Michel.
- Laidlaw H.H. 2008. "Chapter 23: Production of queens and package bees". In *Hive and the Honey bee*. Hamilton, Illinois : Dadant & Sons, inc.
- Le Conte Y., Trouiller J., Masson C., Chappe B. 1990. Identification of a Brood Pheromone in Honeybees 77 (11): 334-336.
- Leoncini I., Le Conte Y., Costagliola G., Plettner E., Toth AL., Wang M., Bécard J-M., Huang Z., Crauser D., Slessor KN., Robinson GE. 2004. Regulation of behavioral maturation by a primer pheromone produced by adult worker honey bees. *Proceeding of the National academy of Sciences of the United States of America* 101 (50): 17559–17564.
- Liebig, G. 1998. Mehr bringt nicht unbedingt mehr. Zur Bildung und Entwicklung von Jungvölkern, D. Bienen J. 6 (1): 4-7.
- Liebig, G. 1999. Wenn aus eins zwei werden. Der Vermehrungsakt und seine Folgen, *Bienenpflege* (6): 189-191.
- Moisan-de-Serres, J., Bourgouin, F. Lebeau, M-O. 2014. Pollinisateurs et plantes mellifères : Guide d'identification et de gestion. Le Centre de Référence en Agriculture et Agroalimentaire du Québec (CRAAQ). Québec.
- Pankiw T., Page R., Fondrk MK. 1998. Brood pheromone stimulates pollen foraging in honey bees (*Apis mellifera*). *Behavioral Ecology* 44: 193–198
- Pernal, S.F., Clay, H. 2015. *Maladies et organismes nuisibles de l'abeille domestique*, 3e édition Canada: Association canadienne des professionnels de l'apiculture, Beaverlodge, Alberta.
- Peyvel C. 2002. Experience and Use of Package Bees Imported From Overseas Countries. *Apiacta* 3: 1-4
- Roger., Bishop., Kenzie M., H. 2008. Préparation et examen d'échantillons d'abeilles pour la détection de spores de *Nosema*.
- Schmid-Hempel P. 1987. Efficient nectar collecting by honey bees. *Journal of Animal Ecology* 56(1): 209–218.
- Seeley TD., Camazine S., Sneyd J. 1991. Collective decision-making in honey bees: how colonies choose among nectar sources. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 28: 277–290.
- Seeley TD., Visscher PK. 1985. Survival of honeybees in cold climates: the critical timing of colony growth and reproduction. *Ecological Entomology* 10: 81–88.
- Smart MD., Sheppard WS. 2012. *Nosema ceranae* in age cohorts of the western honey bee (*Apis mellifera*). *Journal of Invertebrate Pathology* 109 (1): 148–151.
- Storch, H. 2013. *Au trou de vol* (4eme édition). Bruxelles: éditions européennes apicole.
- Vickery MV., Levac B. 2005. Les paquets d'abeilles. Le Centre de Référence en Agriculture et Agroalimentaire du Québec (CRAAQ): 1–11.
- Winston ML. 1987. *The biology of the Honey Bee*. Cambridge, Massachusetts : Harvard University Press.

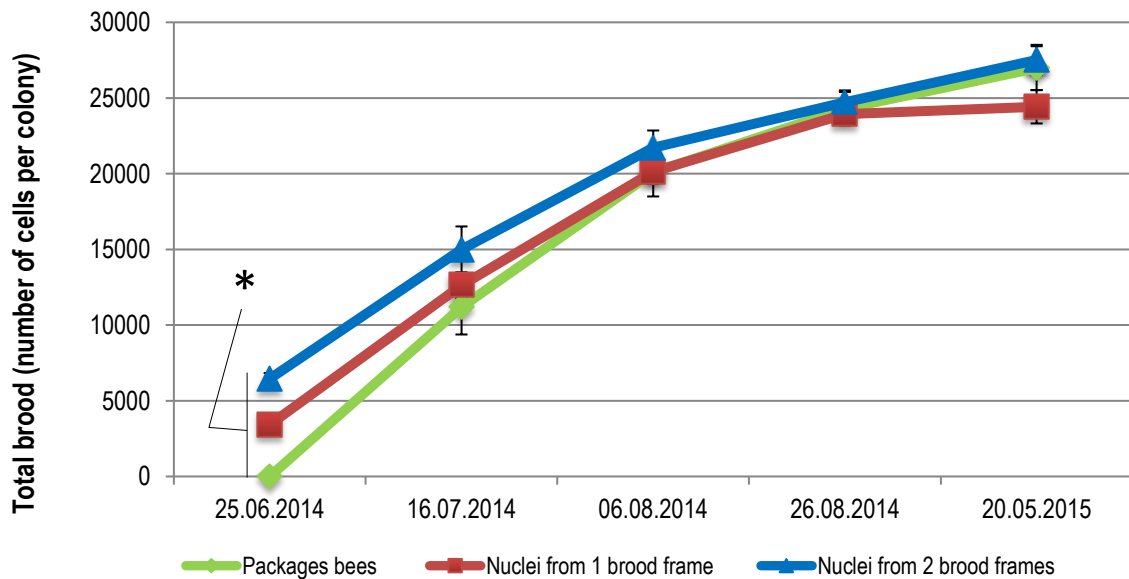
- Winston M.L.. 2008. "Chapter 3: The honey bee colony: life history". In the Hive and the Honey bee. Hamilton, Illinois : Dadant & Sons, inc.
- Winston L., Fergusson A. 1985. The effect of worker loss on temporal caste structure in colonies of the honeybee (*Apis mellifera* L.). Canadian Journal of Zoology 63: 777-780
- Zemene M., Bogale B., Derso S., Belete S., Melaku S., Hailu H. 2015. A review on varroa mites of honey bees. Journal of Entomology 8: 150–159.



# Appendices

Table 1: Experimental design.

Mother colonies				Nuclei		
Groups	Abbreviation	n		Groups	Abbreviation	n
Mother colonies used for package bees	MCB	5	→	Package bees	PB	8
Mother colonies used for 1 brood frame nuclei	MC1BF	5	→	1 brood frame	1BF	15
Mother colonies used for 2 brood frames nuclei	MC2BF	5	→	2 brood frames	2BF	15
Control mother colonies	C	5				



\* Represents a significantly difference between 3 methods (Tukey Kramer Grouping test:  $p < 0.05$ )

Figure 8: Nuclei brood surface (± standard error) in relation to production method

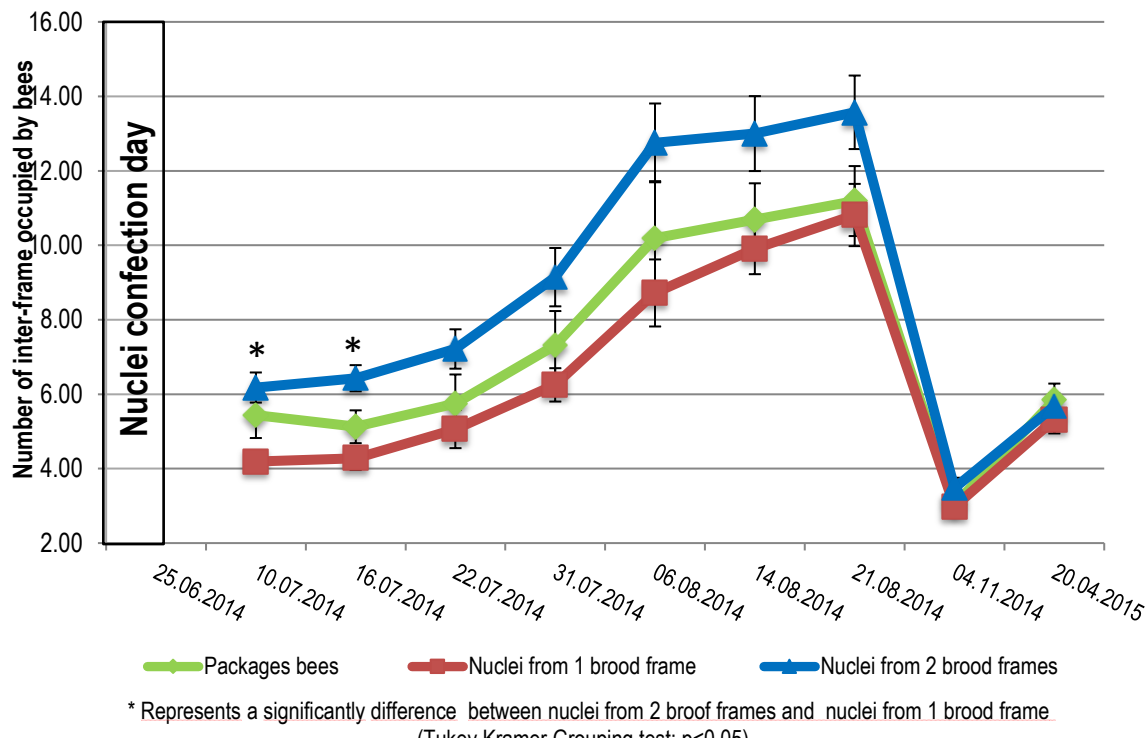


Figure 9: Nuclei inter-frames occupied by bees ( $\pm$ standard error) in relation to production method.

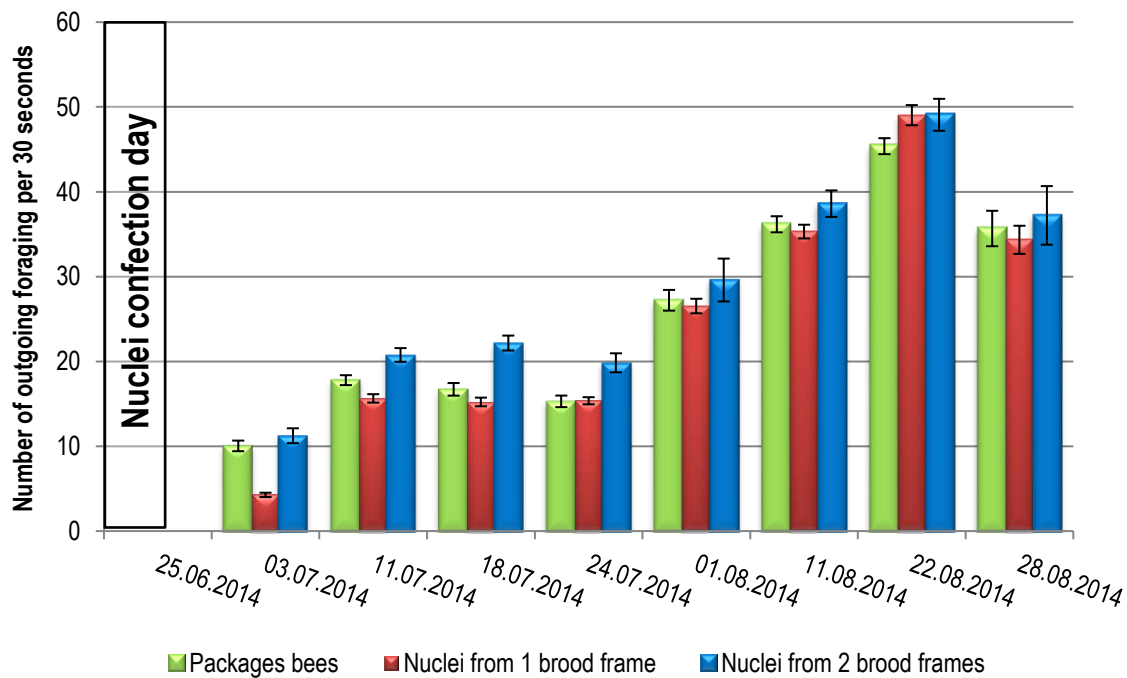
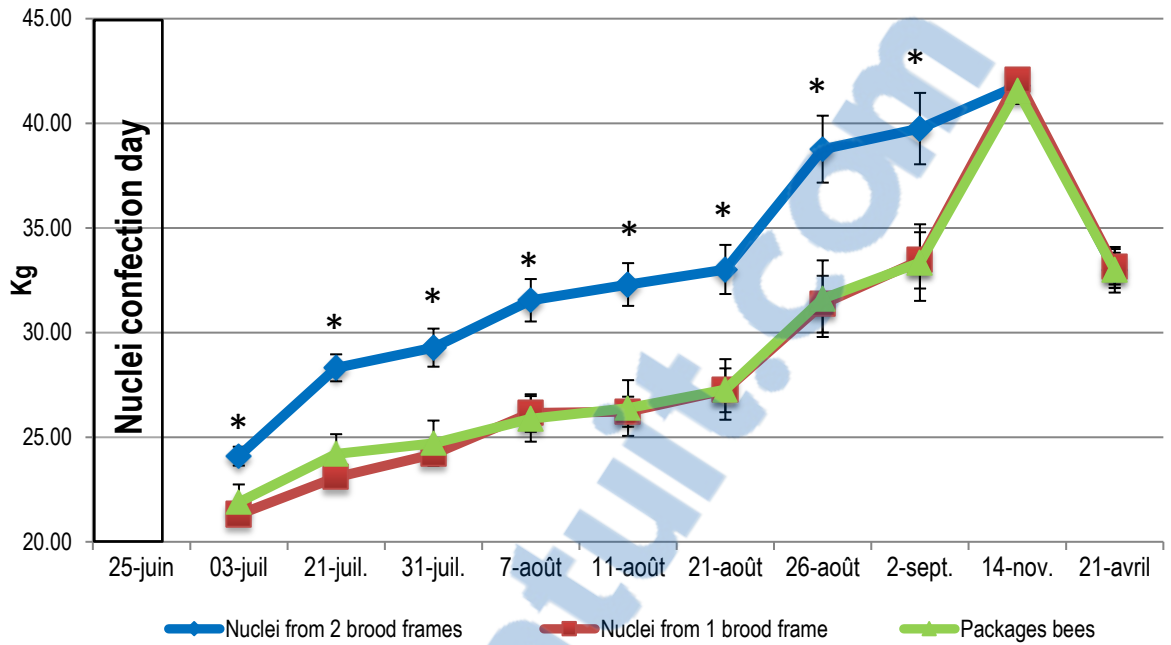
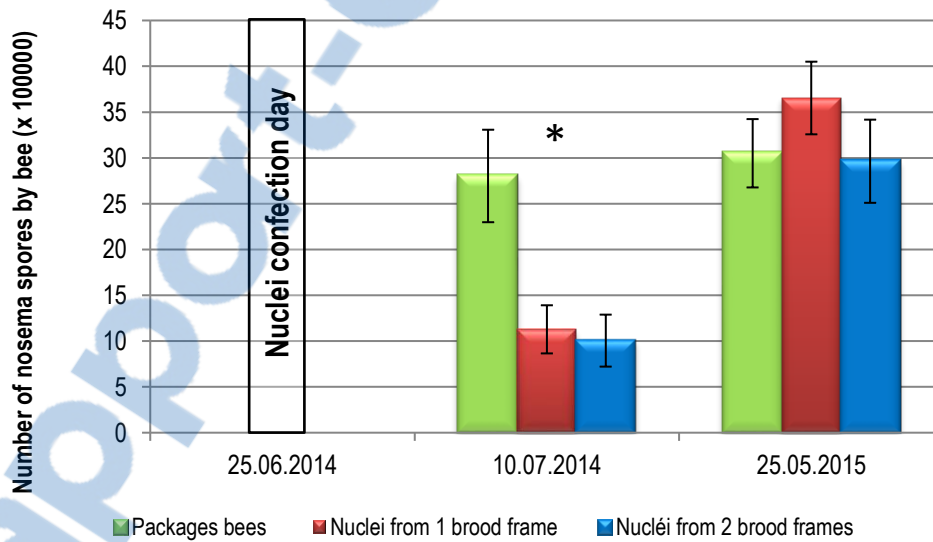


Figure 10: Nuclei foraging activity ( $\pm$  standard error) in relation to production method.



Represents a significantly difference between nuclei from 2 brood frames and others methods (Tukey Kramer Grouping test:  $p < 0.05$ )

Figure 11: Nuclei weight ( $\pm$  standard error) in relation to production method.



\* Represents a significantly difference between package s bees and others methods (Tukey Kramer Grouping test:  $p < 0.05$ )

Figure 12: Nuclei nosema infection rate ( $\pm$  standard error) in relation to production method.

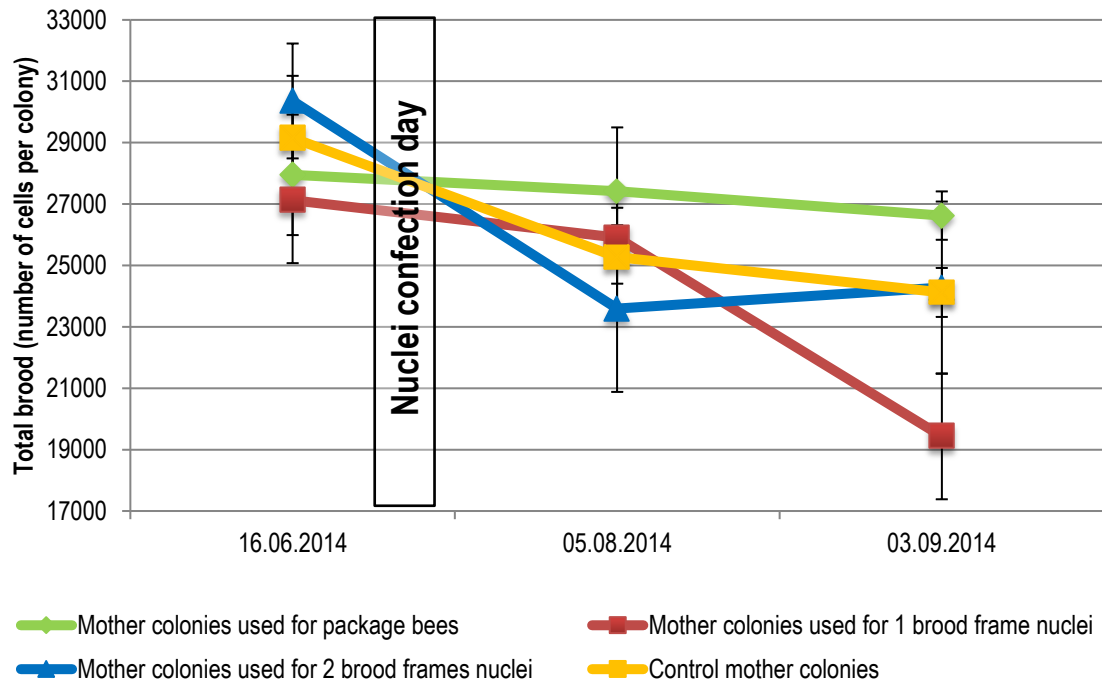


Figure 13: Mother colonies brood surface ( $\pm$  standard error) in relation to nuclei making method.

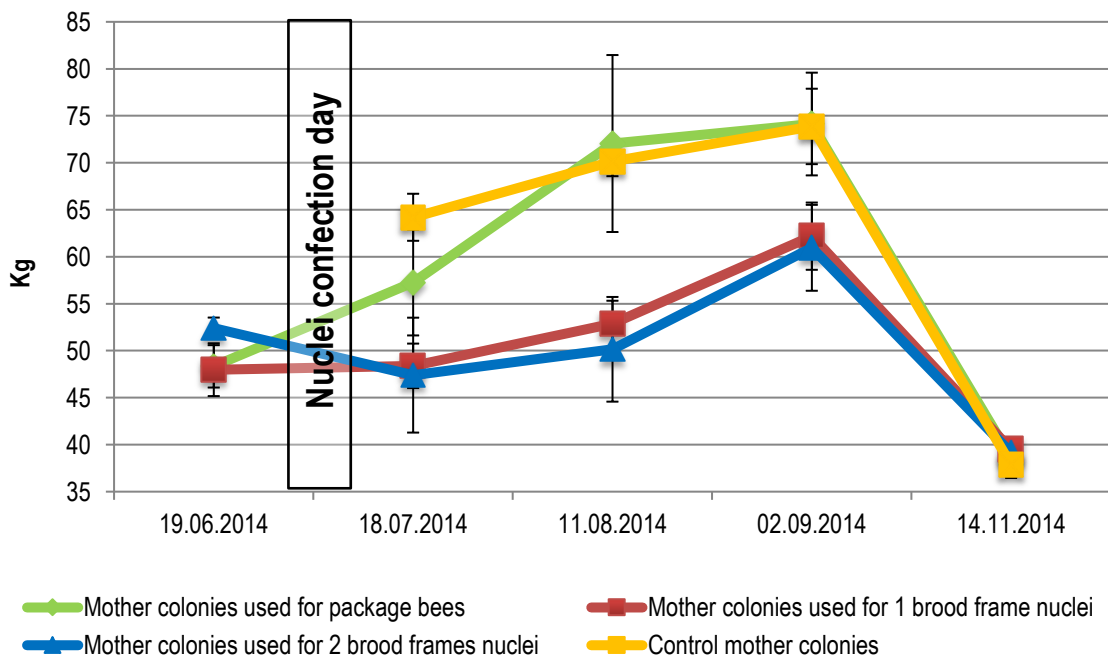


Figure 14: Mother colonies weight ( $\pm$  standard error) in relation to nuclei making method.

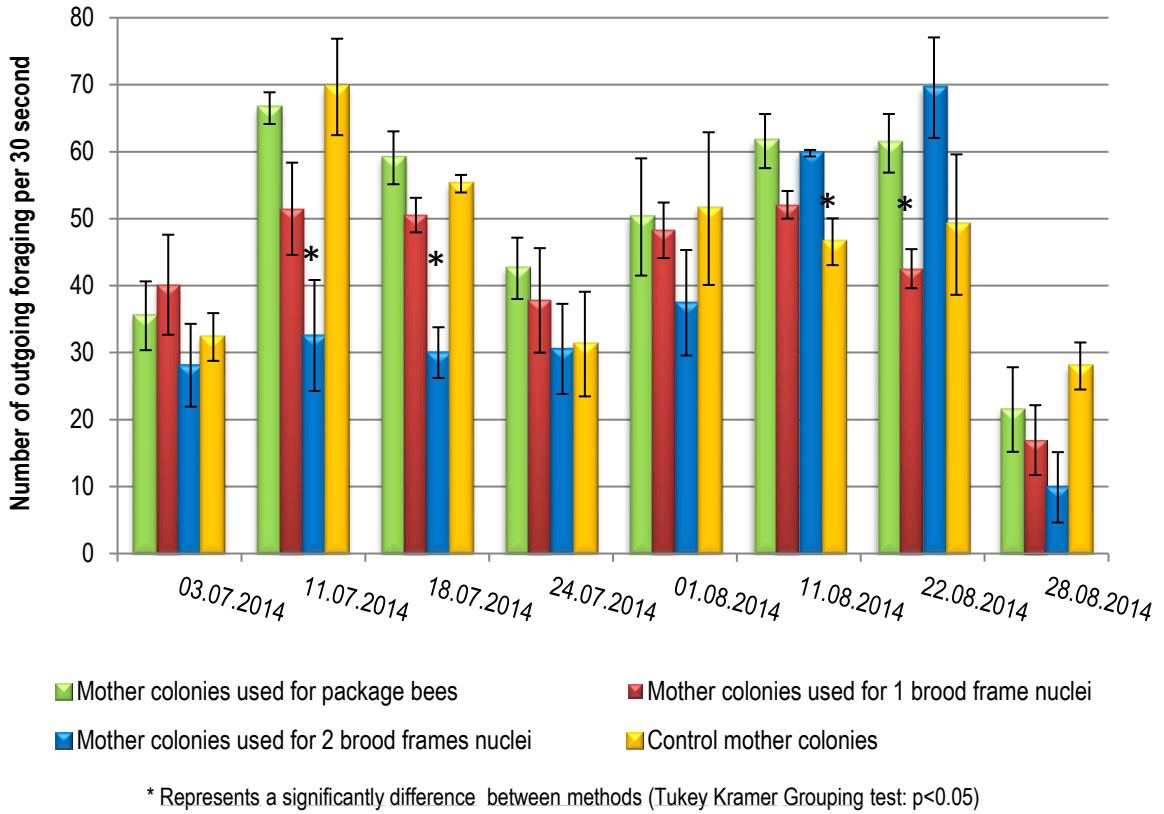


Figure 15: Mother colonies foraging activity (± standard error) in relation to nuclei making method.

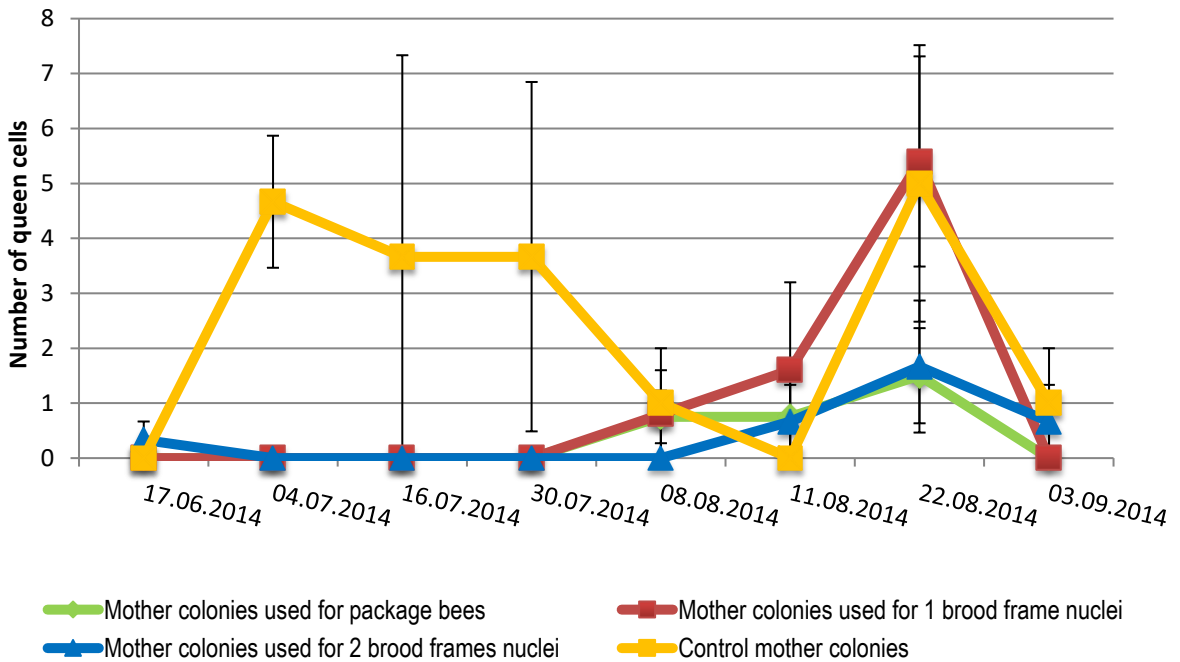
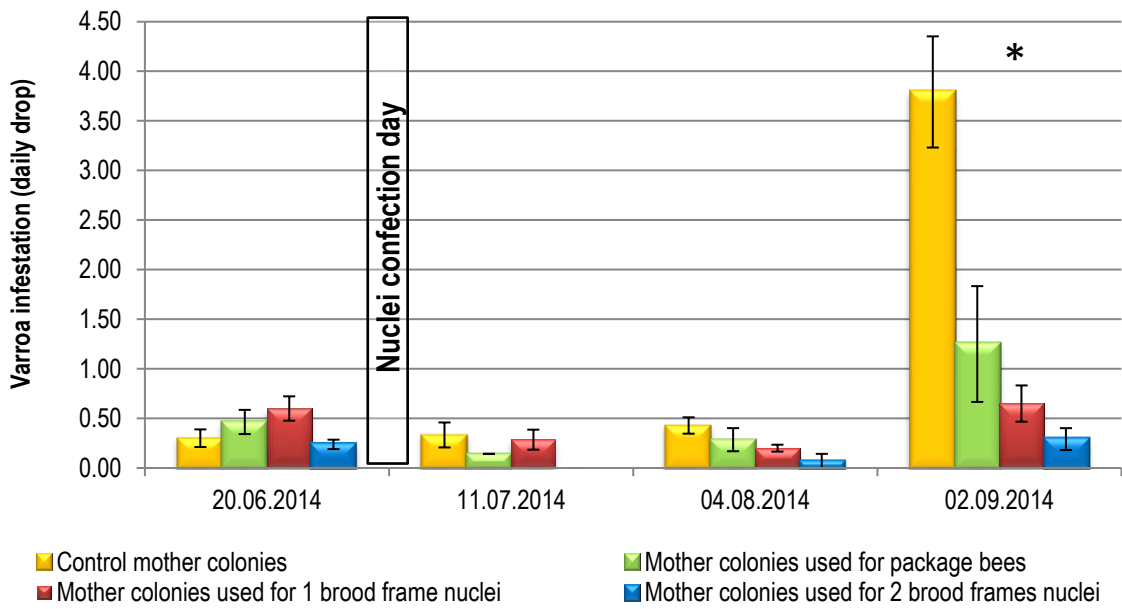


Figure 16: Mother colonies swarming control (± standard error) in relation to nuclei making method.



\* Represents a significantly difference between mother colonies and control colonies (Tukey Kramer Grouping test:  $p < 0.05$ )

Figure 17: Varroa mite infestation ( $\pm$  standard error) in mother colonies in relation to nuclei making method.

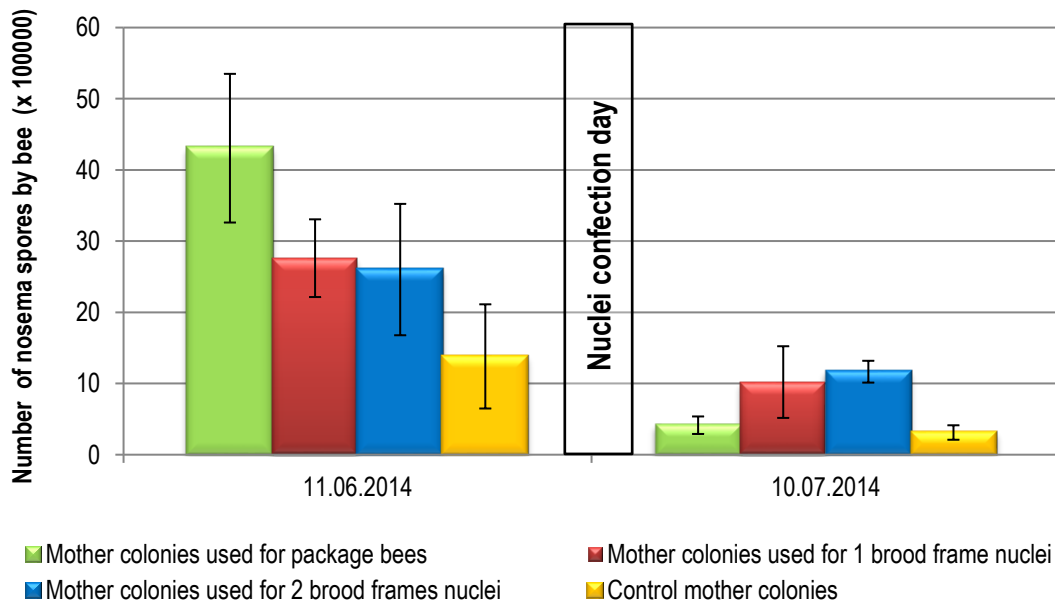


Figure 18: Nosema infection rate ( $\pm$  standard error) in mother colonies in relation to nuclei making method.

## **Chapitre 3: Conclusion générale**





Les travaux de recherche réalisés dans le cadre de ce projet de maîtrise ont permis d'acquérir des informations primordiales sur la confection de nucléi au Québec dans la perspective d'optimiser leur production afin de répondre aux problématiques que rencontre l'industrie apicole actuellement. Dans un premier temps, ce projet a permis de comparer l'efficacité de trois méthodes de confection de nucléi par l'évaluation de leur force durant une année, suivant leur confection, grâce au suivi de plusieurs paramètres : le poids, la surface de couvain, l'activité des butineuses et le nombre d'inter-cadres occupés par les abeilles. Par ailleurs, un suivi sanitaire de ces nucléi a permis de surveiller leur taux d'infestation en varroa et nosémose. Dans un deuxième temps, en parallèle à l'évaluation de la force et de l'aspect sanitaire des nucléi, nous avons réalisé un suivi du développement, du comportement d'essaimage et de l'aspect sanitaire des colonies mères en comparaison à des ruches témoins pour connaître l'impact occasionné par les prélèvements d'abeilles et de couvain effectués sur ces ruches pour la fabrication de nucléi.

La première hypothèse de recherche énonçant que la méthode de confection de nucléi influence son développement ultérieur a été en partie confirmée. En lien à cette hypothèse, deux prédictions avaient été établies. La première étant que plus la quantité de couvain introduite dans les nucléi est grande, plus rapide sera son développement. Cette prédiction avait été formulée en sachant qu'il est recommandé aux apiculteurs de produire des nucléi avec peu de couvain tôt au printemps et de confectionner des nucléi avec plus de couvain à la fin de l'été pour que ceux-ci aient suffisamment de temps pour se développer avant l'hivernage. La quantité de couvain aurait donc une influence sur le développement ultérieur des nucléi (Bahl, 2014; Boucher & al., 2011; Desjardins & al., 2006). Dans le cadre de notre projet, très peu de différences de développement ont été observées entre nos trois méthodes de confection de nucléi. Cependant, les nucléi dans lesquelles on a introduit deux cadres de couvain (représentant la plus grande quantité de couvain introduite dans un nucléus pour notre projet) détenait une population d'abeilles légèrement plus élevée que les deux autres méthodes durant les premières semaines après leur confection, ainsi ces nucléi avaient plus de butineuses disponibles pour la récolte de pollen et de nectar. Aucune hausse à miel n'a été installée sur les nucléi, le stockage des provisions s'est donc effectué dans les hausses à couvain des nucléi et de ce fait le poids des provisions ne pouvait pas être dissocié du poids de la colonie. Ainsi, le poids de ces nucléi était statistiquement supérieur aux autres nucléi durant toute la saison apicole 2014. La quantité de couvain que l'on a apporté a donc eu une influence sur le développement de nos nucléi mais uniquement durant les premières semaines après leur confection.

Liebig (1998) est, à notre connaissance, le seul à avoir travaillé sur la dynamique des populations en comparant des nucléi à un et deux cadres de couvain. Dans le cadre de son étude, la population d'abeilles des nucléi à deux cadres de couvain a évolué plus rapidement durant les premiers mois que les nucléi à un

cadre de couvain mais les deux méthodes possédaient la même population d'abeilles lors de leur entrée en hivernage (Imdorf & al., 2010; Liebig, 1998). Nous avons obtenu des résultats similaires à ceux de Liebig pour les nucléi confectionnés à partir de couvain; toutefois dans notre étude, nous avons aussi réalisé une comparaison avec des nucléi confectionnés à partir d'un paquet d'abeilles. Les paquets d'abeilles ont eu un développement similaire aux deux autres méthodes. De plus, à leur entrée en hivernage ainsi qu'au printemps suivant, leur force était identique aux nucléi confectionnés avec des cadres de couvain.

La deuxième prédiction établie en lien avec notre hypothèse concernant les nucléi touchait à l'aspect sanitaire des colonies, car les paquets d'abeilles représenteraient un avantage sur le plan sanitaire par rapport aux nucléi confectionnés avec des cadres de couvain (Colin & Gonzales-Lopez, 1986; Büchler & al., 2013). En effet, en prélevant uniquement des abeilles pour former une nouvelle colonie, on peut réduire considérablement l'infestation en varroa car 70 à 80 % de ces acariens se trouvent dans les cellules de couvain, chez des colonies populeuses. L'infestation en nosémose peut elle aussi être réduite avec l'usage des paquets d'abeilles car contrairement à des essaims sur cadres, le matériel apicole potentiellement contaminé par des spores n'est pas introduit dans la nouvelle colonie (Shimanuki & al., 2008 ; Pernal & Clay, 2015).

Dans le cadre de notre étude, toutefois, cette prédiction n'a pas pu être confirmée. Nous croyons que plusieurs raisons sont en cause. Concernant l'infestation en varroa, le taux d'infestation a toujours été inférieur à un (1) varroa tombé par jour chez l'ensemble de nos nucléi lors de nos dépistages avec la méthode par chute naturelle. L'infestation en varroa étant très faible dans nos ruches mères au moment de la confection des nucléi. Les nucléi n'étaient donc pas suffisamment infectés pour dévoiler l'avantage au niveau sanitaire de produire des paquets d'abeilles. Mais cette conclusion nous permet d'affirmer que l'infestation en varroa n'a eu aucune influence sur le développement de nos nucléi. Par ailleurs, l'infestation en nosémose était significativement supérieure chez nos paquets d'abeilles par rapport aux nucléi sur cadres en juillet 2014. En effet, les paquets d'abeilles contenaient davantage d'abeilles âgées qui sont potentiellement plus infectées en nosémose que les jeunes abeilles (Shimanuki & al., 2008; Pernal & Clay, 2015). En mai 2015, soit presque un an après la confection des nucléi, l'infestation en nosémose des paquets d'abeilles était similaire aux nucléi sur cadres. L'usage des paquets d'abeilles n'a pas permis une réduction de l'infestation en nosémose par rapport aux nucléi sur cadres, ainsi les résultats obtenus dans le cadre de notre étude ne confirment pas la deuxième prédiction que nous avons émise.

La deuxième hypothèse de recherche formulée concernait les colonies mères. Elle stipulait que les prélèvements de couvain et d'abeilles effectués sur les ruches mères pour la conception de nucléi influenceraient leur force ultérieure. En lien avec cette hypothèse, deux prédictions ont été évoquées. La première étant que plus la quantité de couvain prélevée dans les colonies mères est grande, plus l'impact sur leur développement ultérieur et sur leur état sanitaire sera marqué. Cette prédiction avait été énoncée en sachant que la rapidité du développement de la population d'une colonie dépend en grande partie de sa production en couvain (Winston, 1987 ; Liebig, 1996 ; Imdorf & al., 1996). Aussi, le fait de retirer du couvain ou des abeilles d'une colonie, retire une partie des varroas ou des spores de nosémoses présentes dans les abeilles et le couvain de cette colonie et permet donc de réduire son infestation (Imdorf & al., 2003).

Dans le cadre de notre projet, cette prédiction en lien avec la deuxième hypothèse a été en partie confirmée. Les colonies mères dans lesquelles nous avons effectué des prélèvements d'abeilles ou de couvain dans des quantités différentes (trois kg d'abeilles, trois cadres de couvain ou six cadres de couvain) n'ont pas montré de différence de force majeure. En effet, l'ensemble des colonies mères, peu importe le type de prélèvement effectué, ainsi que les ruches témoins, ont présenté des mesures de poids et de surfaces de couvain similaires. Seules les colonies mères dans lesquelles nous avons prélevé six cadres de couvain ont montré une différence d'activité des butineuses significativement plus faible au cours du premier mois après les prélèvements par rapport aux autres ruches mères et aux ruches témoins.

Dans l'Ouest Canadien, Punnett et Winston (1989) avaient déjà étudié l'impact biologique de plusieurs combinaisons de prélèvements sur des colonies mères et ils ont constaté que celles-ci ne différaient pas significativement des colonies contrôles dans lesquelles aucun prélèvement n'avait été effectué à la fin de la saison apicole. Semblablement à notre étude, ils ont aussi soulevé le fait que le prélèvement d'une grande quantité de couvain (six cadres de couvain) pour faire des nucléi entraîne une activité des butineuses plus faible durant plusieurs mois car la colonie investie plus d'énergie dans l'élevage du couvain que dans la recherche de nourriture (Farrar, 1968 ; Punnett & Winston, 1989). Dans notre cas, cette constatation sur l'affaiblissement de l'activité des butineuses a subsisté seulement un mois après avoir effectué les prélèvements de six cadres de couvain dans les colonies mères.

La première prédiction évoquée concerne aussi l'impact sur l'aspect sanitaire des colonies mères. En effet, les infestations en nosémose et varroa devaient hypothétiquement être réduites dans les colonies mères par les prélèvements d'abeilles ou de couvain. Pour l'infestation en varroa, la prédiction s'est avérée fondée car l'infestation en varroa des colonies mères était significativement inférieure aux colonies contrôles.

Nous avons observé cette différence uniquement à la fin de l'été car c'est à cette période que la ponte de la reine ralentie, entraînant une réduction de la surface de couvain. La véritable infestation en varroa peut alors être détectée dans la ruche. Cependant, pour l'infestation en nosérose notre prédiction n'a pas été confirmée, car les colonies mères et les ruches contrôles n'ont pas montré de différence significative sur l'infestation en nosérose après avoir effectué les prélèvements d'abeilles ou de couvain. Néanmoins, ces prélèvements ont permis de réduire l'infestation en varroa des ruches.

Une deuxième prédiction en lien avec l'hypothèse des ruches mères avait été établie, soit que plus la quantité de couvain prélevé dans la ruche mère est grande moins le comportement d'essaimage y sera exprimé. L'essaimage naturel est un comportement observé uniquement à la fin du printemps et au début de l'été dans des colonies populeuses (Seeley & al., 2006), ainsi ce comportement devrait être minimisé dans les colonies dont la population a été affaiblie par des prélèvements d'abeilles ou de couvain (Imdorf & al., 2010 ; Liebig, 1999). Dans le cadre de notre étude, aucune différence statistique sur le comportement d'essaimage entre les ruches mères et les ruches témoins n'a pu être observée. Cependant, nos résultats montrent tout de même que les colonies mères ont une très forte tendance à produire moins de cellules royales que les colonies témoins et donc elles auraient moins tendance à essaimer.

En conclusion, les trois méthodes de confection de nucléi testées n'ont pas dévoilé de différence majeure sur leur développement et sur leur infestation en varroa, mais l'infestation en nosérose a révélé une différence significative entre les paquets d'abeilles et les nucléi sur cadres. De plus, concernant les différents prélèvements d'abeilles ou de couvain effectués sur les ruches mères en comparaison aux ruches témoins, nos résultats ont démontré peu de différences sur le développement et le taux d'infestation en nosérose. Finalement, cette étude a permis de confirmer les avantages pour un apiculteur de produire des nucléi avec ses propres colonies car cela permet de réduire l'infestation en varroa des colonies et d'affaiblir leur comportement d'essaimage. Enfin, en réflexion sur l'intégralité de cette étude, nous pouvons affirmer que le meilleur potentiel de multiplication est la méthode des nucléi confectionnés avec un cadre de couvain. En 2015, les contrats de pollinisation au Québec stipulaient que la valeur d'une ruche d'au moins huit cadres d'abeilles était de 125 dollars minimum. Le prix de location augmente en fonction de la quantité d'abeilles présente dans la ruche louée (FAQ, 2015). Ainsi, il est intéressant pour un apiculteur qui utilise ses ruches pour des services de pollinisation de produire six nucléi à un cadre de couvain à partir d'une seule ruche mère pour doubler ses gains de location l'année suivant la production des nucléi.

## Bibliographie

- Abrol DP. 2012. Honeybee and Crop Pollination. In: Pollination Biology: Biodiversity Conservation and Agricultural Production. 85–108.
- Agence canadienne d'inspection des aliments. 2013. Guide du producteur d'abeilles domestiques norme nationale de biosécurité à la ferme pour l'industrie apicole. Biosécurité animale: 14–62.
- Agriculture et Agroalimentaire Canada. 2011. Bleuets canadiens. URL: [http://publications.gc.ca/collections/collection\\_2011/agr/A15-11509-2011-fra.pdf](http://publications.gc.ca/collections/collection_2011/agr/A15-11509-2011-fra.pdf). Consulté le 14 mars 2015
- Aizen MA., Harder LD. 2009. The Global Stock of Domesticated Honey Bees Is Growing Slower Than Agricultural Demand for Pollination. *Current Biology* 19 (11): 915–918.
- Allen-Wardell G., Bernhardt P., Bitner R., Burquez A., Buchmann S., Cane J., Cox PA., Dalton V., Feinsinger P., Ingram M., Inouye D., Jones CE., Kennedy K., Kevan P., Koopowitz H., Medellin-Morales S., Nabhan GP., Pavlik B., Tepedino V., Walker S. 1998. The potential Consequences of Pollinator Declines on the Conservation Biodiversity and Stability of Food Crop Yields. *Conservation Biology* 12 (1): 8–17.
- Ambrose JT. 2008. "Chapter 14 : Management for honey production". In the *Hive and the Honey bee*. Hamilton, Illinois : Dadant & Sons, inc.
- Amdam G V., Page RE. 2010. The developmental genetics and physiology of honeybee societies. *Animal Behaviour* 79 (5): 973–980.
- Anderson DL., Trueman JWH. 2000. *Varroa jacobsoni* (Acari: Varroidae) is more than one species. *Experimental and Applied Acarology* 24:165–189.
- Antúnez K., Martín-Hernández R., Prieto L., Meana A., Zunino P., Higes M. 2009. Immune suppression in the honey bee (*Apis mellifera*) following infection by *Nosema ceranae* (*Microsporidia*). *Environmental Microbiology* 11 (9): 2284–2290.
- Association des producteurs de canneberges du Québec. 2014. URL : <http://www.notrecanneberge.com/Industrie/Infos/profil.html>. Consulté le 14 mars 2015
- Bacandritsos N., Granato A., Budge G., Papanastasiou I., Roinioti E., Caldon M., Falcaro C., Gallina A., Mutinelli F. 2010. Sudden deaths and colony population decline in Greek honey bee colonies. *Journal of Invertebrate Pathology* 105(3): 335–340.
- Bahl S. 2014. Résumé présentation journée champêtre apicole 2014. CRAAQ Journée Champêtre en apiculture: 28–29.
- Bahreini R., Currie RW. 2015. The effect of queen pheromone status on *Varroa* mite removal from honey bee

- colonies with different grooming ability. *Experimental and Applied Acarology* 66: 383–397.
- Bauer DM., Wing IS. 2010. Economic consequences of pollinator declines: A synthesis. *Agricultural and Resource Economics Review* 39 (3): 368–383.
- Bekic B., Jelocnik M., Subic J. 2014. Honey bee colony collapse disorder (*Apis mellifera* L.)-Possible causes. *Scientific papers Series Management, Economic Engineering in Agriculture and Rural Development* 14 (2):13–18.
- Belzile L. 2015. La productivité apicole et les services de pollinisation. *Institut de recherche et de développement en agroenvironnement (IRDA)*: 1-3
- Belzile L., Li J. 2014. La croissance de l'industrie apicole québécoise : une fausse joie ? *Institut de recherche et de développement en agroenvironnement (IRDA.)*: 1-3
- Berry J. 2008. Package time. *Bee culture* April:43–45.
- Bertrand E. 1977. *La conduite du rucher*. Lausanne : Payot, Paris : La maison rustique.
- Biesmeijer JC., Roberts SPM., Reemer M., Ohlemüller R., Edwards M., Peeters T., Schaffers AP., Potts SG., Kleukers R., Thomas CD., Settele J., Kunin WE. 2006. Parallel Declines in Pollinators and Insect-Pollinated Plants in Britain and the Netherlands. *Science* 313 (5785): 351–354.
- Botías C., Martín-Hernández R., Días J., García-Palencia P., Matabuena M., Juarranz Á., Barrios L., Meana A., Nanetti A., Higes M. 2012. The effect of induced queen replacement on *Nosema spp.* infection in honey bee (*Apis mellifera iberiensis*) colonies. *Environmental Microbiology* 14 (4): 845–859.
- Boucher C. 2010. L'apiculture et son contexte sanitaire au Québec. *Centre de référence en agriculture et agroalimentaire du Québec (CRAAQ)*. *Colloque en apiculture*:1–3.
- Boucher C., Desjardins F., Giovenazzo P., Marceau J., Pettigrew A., Tremblay H., Tremblay N. 2011. *Gestion optimale du rucher 2<sup>ème</sup> édition*. Québec : Centre de référence en agriculture et agroalimentaire du Québec.(CRAAQ)
- Boucher C., Eccles L., Head K., Jordan C., Kozak P., Lafrenière R., Moran J., Nasr M., Ostermann D., Pernal S., Van P., Wilson G. 2012. Statement on honey bee wintering losses in Canada. *Canadian Association of Professional Apiculturists (CAPA)*: 1-5
- Boucher C., Eccles L., Head K., Jordan C., Kozak P., Lafrenière R., Chris M., Moran J., Nasr M. 2013. CAPA Statement on Honey Bee Wintering Losses in Canada. *Canadian Association of Professional Apiculturists (CAPA)*: 1-5
- Brittain C., Williams N., Kremen C., Klein A. 2013. Synergistic effects of non-*Apis* bees and honey bees for pollination services. *Proceedings. Biological sciences / The Royal Society* 280 (1754): 1–7.
- Bruneau E. 2012. Les clés de la colonie. *Abeille et compagnie* 147 (2): 1–4.
- Büchler R., Andonov S., Bienefeld K., Costa C., Kezic N., Kryger P., Spivak M., Uzunov A., Wilde J., Hatjina F. 2013. Standard methods for rearing and selection of *Apis mellifera* queens. *Journal of Apicultural*

Research 52 (1): 1–29.

Canadian Honey Council. 2010. URL : [http://www.honeycouncil.ca/cdn\\_apiculture\\_overview.php](http://www.honeycouncil.ca/cdn_apiculture_overview.php). Consulté le 11 août 2014.

Cantwell G. 1970. Standard methods for counting *nosema* spores. American Bee Journal 110:222–223.

Carreck N., Neumann P. 2010. Honey bee colony losses. Journal of Apicultural Research 49 (1): 1–6.

Castel DB. 1912. "Chapter 2 : The pollen supply". In The behavior of the honey bee in pollen collecting. Washington : Government Printing Office.

Chagnon M., Girard M., Leblanc H., H. 2007. Gestion et aménagement des pollinisateurs de la canneberge : Vers un rendement accru. Conseil pour le Développement de l'Agriculture du Québec (CDAQ): 1–118.

Chagnon M. 2008. Causes et effets du déclin mondial des pollinisateurs et les moyens d'y remédier. Fédération Canadienne de la Faune: 5–9.

Chapleau J. 1987. APICULTURE Production commerciale de reines abeilles. Centre de référence en agriculture et agroalimentaire du Québec (CRAAQ).

Chapleau J. 2010. L'élevage des reines abeilles. Québec: Centre de référence en agriculture et agroalimentaire du Québec (CRAAQ).

Chapleau J. 2012. Plan d'action visant à réduire les pertes anormales d'abeilles au Québec. Table de la filière apicole: 2–24.

Chauvin R. 1950. Les facteurs qui gouvernent la ponte chez la reine des abeilles. Station de recherches Apicoles, Bures-sur-Yvette.

Chauzat M., Laurent M., Rivière M-P., Saugeon C., Hendrikx P., Ribiere-Chabert M. 2014. A pan-European epidemiological study on honeybee colony losses 2012-2013. Epilobee. Commission Européenne: 1–32.

Chen Y., Evans JD., Smith IB., Pettis JS. 2008. *Nosema ceranae* is a long-present and wide-spread microsporidian infection of the European honey bee (*Apis mellifera*) in the United States. Journal of Invertebrate Pathology 97:186–188.

Cobey SW. 2007. Comparison studies of instrumentally inseminated and naturally mated honey bee queens and factors affecting their performance. Apidologie 38: 390–410.

Cobey SW., Sheppard WS., Tarpy DR. 2009. Chapter 4: Status of Breeding Practices and Genetic Diversity in Domestic U.S. Honey Bees. In: Honey Bee Colony Health: Challenges and sustainable solutions. 39–53.

Colin ME., Gonzales-Lopez MD. 1986. Traitement de la varroatose de l'abeille domestique : chimiothérapie, mesures adjuvantes et perspectives de lutte biologique. Scientific and Technical Review of the Office International des Epizooties 5 (3): 677–687.

COLOSS. 2008. URL : <http://www.coloss.org/coloss>. Consulté le 1 mars 2015.

- Copley TR., Chen H., Giovenazzo P., Houle E., Jabaji SH. 2012. Prevalence and seasonality of *Nosema* species in Québec honey bees. *The Canadian Entomologist* 144: 577–588.
- Cresswell JE., Desneux N., VanEngelsdorp D. 2012. Dietary traces of neonicotinoid pesticides as a cause of population declines in honey bees: an evaluation by Hill's epidemiological criteria. *Pest Management Science* 68 (6): 819–827.
- Currie RW., Pernal SF., Guzmán-Novoa E., A. 2010. Honey bee colony losses in Canada. *Journal of Apicultural Research* 49 (1): 104–106.
- Dainat B., Evans JD., Chen YP., Gauthier L., Neumann P. 2012. Predictive markers of honey bee colony collapse. *PLoS ONE* 7(2): 1–9.
- Darrach M., Page S. 2016. Statistical overview of the Canadian honey and bee industry and the economic contribution of honey bee pollination. Horticulture and Cross Sectoral Division Agriculture and Agri-Food Canada.
- Decourtye A., Devillers J., Cluzeau S., Charreton M., Pham-Delègue M-H. 2004. Effects of imidacloprid and deltamethrin on associative learning in honeybees under semi-field and laboratory conditions. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 57(3): 410–419.
- Delaplane KS., Dag A., Danka RG., Freitas BM., Garibaldi LA., Goodwin RM., Hormaza JI. 2013a. Standard methods for pollination research with *Apis mellifera*. *Journal of Apicultural Research* 52 (4): 1–28.
- Delaplane KS., Van Der Steen J., Guzman-Novoa E. 2013b. Standard methods for estimating strength parameters of *Apis mellifera* colonies. *Journal of Apicultural Research* 52 (4): 1–12.
- DeRoth L. 1980. Reproduction de L'abeille. *Revue L'abeille* 23: 3–5.
- Desai SD., Kumar S., Currie RW. 2015. Occurrence, detection, and quantification of economically important viruses in healthy and unhealthy honey bee (Hymenoptera: Apidae) colonies in Canada. *The Canadian Entomologist* 00: 1–14.
- Desai SD., Currie RW. 2015. Genetic diversity within honey bee colonies affects pathogen load and relative virus levels in honey bees, *Apis mellifera* L. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 69 (9): 1527–1541.
- Desjardins F., Boucher C. 1999. Santé de l'abeille au Québec en 1998. *Bulletin zoosanitaire* 22:1–3.
- Desjardins DMV., Gauvin Y., Houle E., Jacques D., Marceau J., Pettigrew A. 2006. Apiculture : Trousse d'information et de démarrage. Québec, Canada : Centre de référence en agriculture et agroalimentaire du Québec (CRAAQ).
- Dietemann V., Nazzi F., Martin SJ., Anderson DL., Locke B., Delaplane KS., Wauquiez Q., Tannahill C., Frey E., Ziegelmann B., Rosenkranz P., Ellis JD. 2013. Standard methods for *varroa* research. *Journal of Apicultural Research* 52 (1): 1–54.
- Dietz A. 2008. "Chapter 2: Honey bees of the world". In *the Hive and the Honey bee*. Hamilton, Illinois : Dadant & Sons, inc.



- Dietz A., Hermann HR., Blum MS. 1979. The role of exogenous JH I, JH III and Anti-JH (precocene II) on queen induction of 4.5-day-old worker honey bee larvae. *Journal of Insect Physiology* 25: 503–512.
- Doublet V., Labarussias M., de Miranda JR., Moritz RFA., Paxton RJ. 2015. Bees under stress: sublethal doses of a neonicotinoid pesticide and pathogens interact to elevate honey bee mortality across the life cycle. *Environmental Microbiology* 17 (4): 969–983.
- Eckert CD., Winston ML., Ydenberg RC., H. 1994. The relationship between population size, amount of brood, and individual foraging behaviour in the honey bee, *Apis mellifera* L. *Oecologia* 97 (2): 248–255.
- Eilers EJ., Kremen C., Smith Greenleaf S., Garber AK., Klein A-M. 2011. Contribution of Pollinator-Mediated Crops to Nutrients in the Human Food Supply. *PLoS ONE* 6 (6): 1–6.
- Eiri DM., Suwannapong G., Endler M., Nieh JC. 2015. *Nosema ceranae* can infect honey bee larvae and reduces subsequent adult longevity. *PLoS ONE* 10 (1371):1–17.
- Ellis JD., Evans JD., Pettis J.2010. Colony losses, managed colony population decline, and Colony Collapse Disorder in the United States. *Journal of Apicultural Research* 49 (1): 134–136.
- Emsen B., Guzman-Novoa E., Hamiduzzaman MM., Eccles L., Lacey B., Ruiz-Pérez RA., Nasr M. 2015. Higher prevalence and levels of *Nosema ceranae* than *Nosema apis* infections in Canadian honey bee colonies. *Parasitology Research* 115 (1): 175–181.
- Emsen B., Guzman-Novoa E., Kelly PG. 2013. Honey production of honey bee (Hymenoptera: Apidae) colonies with high and low *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) infestation rates in eastern Canada. *The Canadian Entomologist* 146 (2): 236–240.
- Encyclopædia Britannica. 2006. URL: <http://www.britannica.com/animal/honeybee>. Consulté le 15 septembre 2015.
- Encyclopædia Britannica. 2013. URL: <https://media1.britannica.com/eb-media/73/102473-004-C473527C.jpg>. Consulté le 15 septembre 2015.
- Evans JD., Wheeler DE. 2001. Expression profiles during honeybee caste determination. *Genome biology* 2 (1): 1–6.
- FAO. 2000. Pollinisation un service écosystémique.1–2.
- Faure P. 2010. Une méthode efficace pour faire des essaims. Centre de référence en agriculture et agroalimentaire du Québec (CRAAQ). Colloque en apiculture: 1–4.
- Fédération des apiculteurs du Québec. 2010. Plan stratégique 2010-2015 du secteur apicole du Québec.
- Fédération des apiculteurs du Québec. 2014. URL : <http://www.apiculteursduquebec.com/statistiques.php>. Consulté le 15 août 2014.
- Fédération des Apiculteurs du Québec (FAQ). 2015. Contrat de pollinisation - Location de ruches.
- Feller-Demalsy M-J., Lamontagne Y. 1979. Analyse pollinique des miels du Québec. *Apidologie* 10 (4): 313–340.

- Fernandez N., Coineau Y. 2007. Maladies, parasites et autres ennemis de l'abeille mellifère.
- Fert G. 2014. L'élevage des reines. Paris : Editions Rustica.
- Fluri P., Pickhardt A., Cottier V., Charrière J. 2001. La pollinisation des plantes à fleurs par les abeilles - Biologie, Écologie, Économie. Agroscope Liebefeld-Posieux, Centre Suisse de recherche apicole: 1–27.
- Flury P. 1994. Réflexions des chercheurs en apiculture sur la régulation de la durée de vie des ouvrières. *Journal Suisse d'Apiculture* 91: 19-27.
- Free JB. 1967. Factor determining the collection of pollen by honeybee foragers. *Animal Behaviour* 15 (1): 134–144.
- Free JB. 1970. Insect pollination of crops. New York : Academic Press.
- Fries I., Martín R., Meana A., García-Palencia P., Higes M. 2006. Natural infections of *Nosema ceranae* in European honey bees. *Journal of Apicultural Research* 47 (3): 230–233.
- Fries I., Chauzat M., Chen Y., Doublet V., Genersch E., Gisder S., Higes M., Mc Mahon DP., Martín-Hernández R., Paxton RJ., Tanner G., Webster TC., Williams GR., Sophia F. 2013. Standard methods for *Nosema* research. *Journal of apicultural research* 52 (1): 1–28.
- Furgala B., McCutcheon DM. 2008. "Chapter 20: Wintering productive colonies". In the *Hive and the Honey bee*. Hamilton, Illinois : Dadant & Sons, inc.
- Gallai N., Salles JM., Settele J., Vaissière BE. 2009. Economic valuation of the vulnerability of world agriculture confronted with pollinator decline. *Ecological Economics* 68 (3): 810–821.
- Garibaldi LA., Steffan-Dewenter I., Winfree R., Aizen MA., Bommarco R., Cunningham SA., Kremen C., Carvalheiro LG. 2014. Wild pollinators enhance fruit set of crops regardless of honey bee abundance. *Science* 339: 1608–1611.
- Gary NE. 2008. "Chapter 8 : Activities and behavior of honey bees". In the *Hive and the Honey bee*. Hamilton, Illinois : Dadant & Sons, inc.
- Giovenazzo P. 1992. Stockage et hivernage des reines d'abeilles (*Apis mellifera* L.). *L'abeille* 13: 1–5.
- Giovenazzo P. 2009. Sélection génétique et qualités reproductives des reines abeilles (*Apis mellifera*) disponibles au Québec. Fédération des apiculteurs du Québec (FAQ).
- Giovenazzo P., Dubreuil P. 2011. Evaluation of spring organic treatments against *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) in honey bee *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) colonies in eastern Canada. *Experimental and Applied Acarology* 55: 65–76.
- Gómez-Moracho T., Bartolomé C., Bello X., Martín-Hernández R., Higes M., Maside X. 2015. Recent worldwide expansion of *Nosema ceranae* (Microsporidia) in *Apis mellifera* populations inferred from multilocus patterns of genetic variation. *Infection, Genetics and Evolution* 31: 87–94.
- Goulson D., Nicholls E., Botías C., Rotheray EL. 2015. Bee declines driven by combined stress from parasites,

- pesticides, and lack of flowers. *Science* 347 (6229): 1–9.
- Guzmán-Novoa E., Hamiduzzaman MM., Arechavaleta-Velasco M., Koleoglu G., Valizadeh P., Correa-Benítez A. 2010. *Nosema ceranae* parazited Africanized honey bees in Mexico since at least 2004. *Apidologie* 41 (2): 443–450.
- Harry H., Laidlaw Jr. 2008. "Chapter 23 : Production of queens and package bees". In the *Hive and the Honey bee*. Hamilton, Illinois : Dadant & Sons, inc.
- El Hassani AK., Dacher M., Gary V., Lambin M., Gauthier M., Armengaud C. 2008. Effects of Sublethal Doses of Acetamiprid and Thiamethoxam on the Behavior of the Honeybee (*Apis mellifera*). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 54 (4): 653–661.
- Haubruge E., Nguyen BK., Widart J., Thomé J., Depauw E. 2006. Le dépérissement de l'abeille domestique, *Apis mellifera* L., 1758 (Hymenoptera : Apidae) : faits et causes probables. *Notes fauniques de Gembloux* 59 (1): 3–21.
- Haydak MH. 1943. Larval food and development of caste in the honey bee. *Journal of economic entomology* 36 (5): 778-792.
- Haydak MH. 1970. Honey bee nutrition. *Annual review entomology* 15: 143-156
- Henry M., Béguin M., Requier F., Rollin O., Odoux J., Aupinel P., Aptel J., Tchamitchian S., Decourtye A. 2012. A common pesticide decreases foraging success and survival in honey bees. *Science* 336: 348–350.
- Henry M., Bertrand C., Le Féon V., Requier F., Odoux J-F., Aupinel P., Bretagnolle V., Decourtye A. 2014. Pesticide risk assessment in free-ranging bees is weather and landscape dependent. *Nature Communications* 5 (4359): 1–8.
- Herbert EW. 2008. "Chapter 6: Honey bee nutrition". In the *Hive and the Honey bee*. Hamilton, Illinois : Dadant & Sons, inc.
- Higes M., Martín-Hernández R., Botías C., Bailón EG., González-Porto A V., Barrios L., Del Nozal MJ., Bernal JL., Jiménez JJ., Palencia PG., Meana A. 2008. How natural infection by *Nosema ceranae* causes honeybee colony collapse. *Environmental Microbiology* 10 (10): 2659–2669.
- Hoehn P., Tschamtké T., Tylanakis JM., Steffan-Dewenter I. 2008. Functional group diversity of bee pollinators increases crop yield. *Proceedings of the Royal Society B* 275: 2283–2291.
- Huang W-F., Solter L., Aronstein K., Huang Z. 2015. Infectivity and virulence of *Nosema ceranae* and *Nosema apis* in commercially available North American honey bees. *Journal of Invertebrate Pathology* 124: 107–113.
- Human H., Brodschneider R., Dietemann V., Dively G., Ellis JD., Forsgren E., Fries I., Hatjina F., Hu F., Jensen AB., Köhler A., Magyar JP., Özkýrým A., Pirk CWW., Rose R., Strauss U., Tanner G., Tarpý DR., Van Der Steen JJM., Vaudo A., Vejsnæs F., Wilde J., Williams GR., Zheng H., Human H.,

- Brodtschneider R., Dietemann V., Dively G., Ellis JD., Forsgren E., Fries I., Hatjina F., Hu F., Jaffé R., Jensen B., Köhler A., Magyar JP., Özkýrým A., Pirk CWW., Rose R., Strauss U., Tanner G., Tarpý DR., Van Der Steen JJM., Vaudo A. 2013. Miscellaneous standard methods for *Apis mellifera* research. *Journal of Apicultural Research* 52 (4): 1–57.
- Imdorf A., Rickli M., Fluri P. 1996. Dynamique des populations d'abeilles. *Centre suisse de Recherches Apicoles*: 6–8.
- Imdorf A., Rickli M., Kilchenmann V., Bogdanov S., Wille H. 1998. Nitrogen and mineral constituents of honey bee worker brood during pollen shortage. *Apidologie* 29: 315–325.
- Imdorf A., Charrière J., Kilchenmann V., Bogdanov S., Fluri P. 2003. Alternative strategy in central Europe for the control of *Varroa destructor* in honey bee colonies. *Swiss bee Research Centre*: 1–21.
- Imdorf A., Ruoff K., Fluri P. 2010. Le développement des colonies chez l'abeille mellifère. *Agroscope Liebefeld-Posieux* 68: 43-48
- Institut de la statistique du Québec. 2014. Campagne apicole 2013.1–2.
- Institut de la statistique du Québec. 2015. URL: [http://www.stat.gouv.qc.ca/statistiques/agriculture/apiculture-miel/tableau\\_h1.htm](http://www.stat.gouv.qc.ca/statistiques/agriculture/apiculture-miel/tableau_h1.htm). Consulté le 18 mars 2015.
- Jean-Prost P. 1979. *L'apiculture*. Paris : J-B Baillière.
- Jean-Prost P., Le Conte Y. 2005. *Apiculture : Connaître l'abeille, Conduire le rucher*. Paris : Tec & Doc.
- Jeschke P., Nauen R., Schindler M., Elbert A. 2011. Overview of the status and global strategy for neonicotinoids. *Journal of agricultural and food chemistry* 59: 2897–2908.
- De Jong D., Morse RA., Eickwort GC. 1982. Mite pests of honey bees. *Annual review entomology* 27: 229–252.
- Kamakura M. 2011. Royalactin induces queen differentiation in honeybees. *Nature* 473 (26): 478–483.
- Katznelson H., Jamieson CA. 1952. Control of *nosema* disease of honeybees with fumagillin. *Science* 115 (2977): 70–71.
- Kempers M., Kozak P., Lafreniere R., Morris J., Pernal S., Sproule J., Van Westendorp P., Wilson G. 2015. Statement on honey bee wintering losses in Canada. *Canadian Association of Professional Apiculturists (CAPA)*.
- Kevan PG., Guzman E., Skinner A., Van Engelsdorp D. 2007. Colony collapse disorder in Canada: Do we have a problem? *HiveLights* 1: 14–16.
- Khoury DS., Myerscough MR., Barron AB. 2011. A quantitative model of honey bee colony population dynamics. *PLoS ONE* 6 (4): 2–7.
- Kievits J. 2009. A chacun sa méthode. *Abeille et compagnie* 129(2): 14–16.
- Klein A-M., Vaissière BE., Cane JH., Steffan-Dewenter I., Cunningham SA., Kremen C., Tscharntke T. 2007. Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. *Proceedings: Biological sciences*

274 (1608): 303–313.

- Klein AM., Mueller CM., Hoehn P., Kremen C. 2009. "Chapter 14: Understanding the role of species richness for pollination services". In *Biodiversity, Ecosystem Functioning, and Human Wellbeing: An Ecological and Economic Perspective*. New-York, Oxford University Press inc.
- Klein A-M., Brittain C., Hendrix SD., Thorp R., Williams N., Kremen C. 2012. Wild pollination services to California almond rely on semi-natural habitat. *Journal of Applied Ecology* 49: 723–732.
- Kozak P., Eccles L., Tam J., Kempers M., Rawn D. 2012. *Varroa Mite – Biology and Diagnosis*. Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs Ontario: 2–4.
- Kozak P. 2012. Rapport annuel de l'apiculteur provincial de l'Ontario – 2011. Ministère de l'Agriculture, de l'Alimentation et des Affaires Rurales de l'Ontario (MAARO).
- Krupke CH., Hunt GJ., Eitzer BD., Andino G., Given K. 2012. Multiple routes of pesticide exposure for honey bees living near agricultural fields. *PLoS ONE* 7 (1): 1–8.
- Leboeuf A. 2015. La nosémose sous un nouveau jour. *Journal L'abeille*: 1–4.
- Le Conte Y., Trouiller J., Masson C., Chappe B. 1990. Identification of a brood pheromone in honeybees. *Naturwissenschaften* 77 (11): 334-336.
- Le Conte Y., Ellis M., Ritter W., A. 2010. *Varroa* mites and honey bee health: can *Varroa* explain part of the colony losses? *Apidologie* 41 (3): 353–363.
- Lee K., Steinhauer N., Travis DA., Meixner MD., Deen J., Van Engelsdorp D. 2015. Honey bee surveillance: a tool for understanding and improving honey bee health. *Current Opinion in Insect Science* 10: 37–44.
- Leimar O., Hartfelder K., Laubichler MD., Page RE. 2012. Development and evolution of caste dimorphism in honeybees - a modeling approach. *Ecology and Evolution* 2 (12): 3098–3109.
- Leoncini I., Le Conte Y., Costagliola G., Plettner E., Toth AL., Wang M., Bécard J-M., Huang Z., Crauser D., Slessor KN., Robinson GE. 2004. Regulation of behavioral maturation by a primer pheromone produced by adult worker honey bees. *Proceeding of the National academy of Sciences of the United States of America* 101 (50): 17559–17564.
- Louveaux J. 1980. *Les abeilles et leur élevage*. Paris: Hachette.
- Louveaux J., Albisetti M., Delangue M., Theurkauff M. 1966. Les modalités de l'adaptation des abeilles (*Apis mellifica* L.) au milieu naturel. *Ann. Abeille* 9 (4): 323–350.
- MAPAQ.2011.Lanosémose.URL:[https://www.agrireseau.net/apiculture/documents/NOS%C3%89MOSE\\_%20description%202011.pdf](https://www.agrireseau.net/apiculture/documents/NOS%C3%89MOSE_%20description%202011.pdf). Consulté le 6 mars 2015.
- MAPAQ. 2014. Enquête sur la mortalité hivernale des colonies d'abeilles hiver 2013-2014. Réseau d'alerte et d'information zoosanitaire:1–8.
- Martin S. 1998. A population model for the ectoparasitic mite *Varroa jacobsoni* in honey bee (*Apis mellifera*) colonies. *Ecological Modelling* 109: 267–281.

- Martín-Hernández R., Meana A., Prieto L., Salvador AM., Garrido-Bailón E., Higes M. 2007. Outcome of colonization of *Apis mellifera* by *Nosema ceranae*. *Applied and Environmental Microbiology* 73 (20): 6331–6338.
- Massicotte E. 2007. Profil sectoriel de l'industrie horticole au Québec. MAPAQ:1–110.
- Massicotte E., Lemire P., Robitaille L., Roy A-M., Rioux M-C., Grand J-J. 2014. Profil sectoriel de l'industrie horticole au Québec. MAPAQ:1–110.
- McElheran B. 1990. National *Varroa* Survey. *Canadian Association of Professional Apiculturists (CAPA)* 21: 16–17.
- Meixner MD, Büchler R, Costa C, Francis RM, Hatjina F, Kryger P. 2014. Honey bee genotypes and the environment. *Journal of Apicultural Research* 53 (2): 183–7
- Mollier P., Sarazin M., Savini I. 2009. Le déclin des abeilles, un casse tête pour la recherche. *Inra Magazine* 9: 13–24.
- Morel E., Coussy B. 2015. Pollinisation en carotte porte-graine: Notions de base sur la conduite des colonies. FNAMS NTP 120: 2. (Picture Anonyme in FNAMS).
- Morgenthaler O. 1968. Les maladies infectieuses des ouvrières. In *Traité de Biologie de l'Abeille*, tome 4. Paris : Chauvin R.
- Morin S., Rioux M-C., Daigle S., Ouellet J., Bélanger S., Dufour S., Kimpton H., Ntibashoboye B., Robitaille J., Collet-Lafontaine M., Mongrain P. 2011. Monographie de l'industrie du bleuet au Québec. MAPAQ.
- Nasr M., Giovenazzo P., Hoover S., A. 2014. Statement on Honey Bee Wintering Losses in Canada. *Canadian Association of Professional Apiculturists (CAPA)*: 1–5.
- OIE. 2008. Nosémose des abeilles mellifères. In: *Manuel terrestre*. 448–453.
- Olivier V., Ribière M. 2006. Les virus infectant l'abeille *Apis mellifera*: le point sur leur classification. *Virologie* 10 (4): 267–278.
- Ollerton J., Winfree R., Tarrant S. 2011. How many flowering plants are pollinated by animals? *Oikos* 120 (321): 321–326.
- Page RE. 1980. The evolution of multiple mating behavior by honey bee queens (*Apis mellifera* L.). *Genetics* 96: 265–273.
- Page RE., Peng CY. 2001. Aging and development in social insects with emphasis on the honey bee, *Apis mellifera* L. *Evolution in Health and Disease* 36: 695–711.
- Pain J., Barbier M. 1963. Structure chimiques et propriétés biologiques de quelques substances identifiées chez l'abeille. *Insectes Sociaux* 10 (2): 129–142.
- Pankiw T., Page R., Fondrk MK. 1998. Brood pheromone stimulates pollen foraging in honey bees (*Apis mellifera*). *Behavioral Ecology* 44: 193–198.
- Pătruică S., Mot D. 2012. The effect of using prebiotic and probiotic products on intestinal micro-flora of the

- honeybee (*Apis mellifera carpatica*). Bulletin of Entomological Research 102: 619–623.
- Pernal SF. 2007. Statement on Colony Collapse Disorder (CCD). Canadian Association of Professional Apiculturists (CAPA)
- Pernal SF. 2008. Statement on Honey Bees Losses in Canada. Canadian Association of Professional Apiculturists (CAPA)
- Pernal SF. 2009. Statement on Honey Bees Losses in Canada. Canadian Association of Professional Apiculturists (CAPA)
- Pernal SF. 2010. Statement on Honey Bees Losses in Canada. Canadian Association of Professional Apiculturists (CAPA)
- Pernal SF. 2011. Statement on Honey Bees Losses in Canada. Canadian Association of Professional Apiculturists (CAPA)
- Perron JM. 1998. Apiculture, biologie de l'abeille 2<sup>ème</sup> édition. Crochetière, France : Agronome, Conseil des productions végétales du Québec inc.
- Pesson P., Louveaux J. 1984. Pollinisation et productions végétales : ouvrage collectif. Paris : Institut national de la recherche agronomique.
- Pettis JS., VanEngelsdorp D., Johnson J., Dively G. 2012. Pesticide exposure in honey bees results in increased levels of the gut pathogen *Nosema*. Naturwissenschaften 99 (2): 153–158.
- Pettis JS., Delaplane KS. 2010. Coordinated responses to honey bee decline in the USA. Apidologie 41: 256–263.
- Peyvel C. 2002. Experience and Use of Package Bees Imported From Overseas Countries. Apiacta 3: 1-4
- Pisa LW., Amaral-Rogers V., Belzunces LP., Bonmatin JM., Downs CA., Goulson D., Kreuzweiser DP., Krupke C., Liess M., McField M., Morrissey CA., Noome DA., Settele J., Simon-Delso N., Stark JD., Van der Sluijs JP., Van Dyck H., Wiemers M. 2015. Effects of neonicotinoids and fipronil on non-target invertebrates. Environmental science and pollution research international 22: 68–102.
- Poirier I. 2010. La canneberge au Québec et au Centre de Québec. MAPAQ: 1–37.
- Potts SG., Roberts SPM., Dean R., Marris G., Brown M., Jones R., Settele J. 2009. Declines of managed honey bees and beekeepers in Europe. 49 (1): 15–22.
- Potts SG., Biesmeijer JC., Kremen C., Neumann P., Schweiger O., Kunin WE. 2010. Global pollinator declines: trends, impacts and drivers. Trends in Ecology & Evolution 25 (6): 345–353.
- Punnett EN., Winston ML. 1989. A comparison of package and nucleus production from honey bee (*Apis mellifera* L.) colonies. Apidologie 20 (6): 465–472.
- Raskin I., Ribnicky DM., Komarnytsky S., Ilic N., Poulev A., Borisjuk N., Brinker A., Moreno DA., Ripoll C., Yakoby N., O'Neal JM., Cornwell T., Pastor I., Fridlender B. 2002. Plants and human health in the twenty-first century. Trends in Biotechnology 20 (12): 522–531.

- Rath W. 1999. Co-adaptation of *Apis cerana* Fabr. and *Varroa Jacobsoni* Oud. *Apidologie* 30: 97–110.
- Raven P., Axelrod D. 1974. Angiosperm biogeography and past continental movements. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 61(3): 539–673.
- Riondet J. 2013. *Le rucher durable : Guide pratique de l'apiculteur d'aujourd'hui*. Paris : Les Éditions Ulmer.
- Rioux M-C., Desrochers F. 2009. Profil sectoriel de l'industrie horticole au Québec. *MAPAQ*: 1–111.
- Rioux M-C., Martins A. 2012. Profil sectoriel de l'industrie horticole au Québec. *MAPAQ*: 1–110.
- Roger., Bishop., Kenzie M., H. 2008. Préparation et examen d'échantillons d'abeilles pour la détection de spores de *Nosema*.
- Rosenkranz P., Aumeier P., Ziegelmann B. 2010. Biology and control of *Varroa destructor*. *Journal of Invertebrate Pathology* 103: 96–119.
- Rousseau A., Fournier V., Giovenazzo P. 2015. *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) drone sperm quality in relation to age, genetic line, and time of breeding. *The Canadian Entomologist* 147 (6): 702–711.
- Ruttner F. 1975. Races of bees . In "The Hive and the Honey Bee" Dadant & Sons, Hamilton IL: 19-38.
- Sammataro D., Gerson U., Needham G. 2000. Parasitic Mites of Honey bees : Life History, Implications, and Impact. *Annual Review Entomology* 3: 519–548.
- Samson-Robert O., Labrie G., Chagnon M., Fournier V. 2014. Neonicotinoid-Contaminated Puddles of Water Represent a Risk of Intoxication for Honey Bees. *PLoS ONE* 9 (12): 1–17.
- Schmid-Hempel P. 1987. Efficient nectar collecting by honeybees. *Journal of Animal Ecology* 56 (1): 209–218.
- Seeley TD., Camazine S., Sneyd J. 1991. Collective decision-making in honey bees: how colonies choose among nectar sources. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 28: 277–290.
- Seeley TD., Visscher PK., Passino KM. 2006. Group decision making in honey bee swarms. *American scientist* 94: 220–229.
- Seeley TD., Visscher PK. 1985. Survival of honeybees in cold climates: the critical timing of colony growth and reproduction. *Ecological Entomology* 10: 81–88.
- Shuel RW., Dixon SE. 1959. Studies in the mode of action of royal jelly in honeybee development. *Canadian Journal of Zoology* 37: 803–813.
- Shuel RW., Dixon SE. 1960. The early establishment of dimorphism in the female honeybee, *Apis mellifera* L. *Insectes Sociaux* 7 (3): 265–282.
- Simon-Delso N., Amaral-Rogers V., Belzunces LP., Bonmatin JM., Chagnon M., Downs C., Furlan L., Gibbons DW., Giorio C., Girolami V., Goulson D., Kreutzweiser DP., Krupke CH., Liess M., Long E., McField M., Mineau P., Mitchell EAD., Morrissey CA., Noome DA., Pisa L., Settele J., Stark JD., Tapparo A., Van Dyck H., Van Praagh J., Van der Sluijs JP., Whitehorn PR., Wiemers M. 2015. Systemic insecticides (neonicotinoids and fipronil): trends, uses, mode of action and metabolites. *Environmental science and pollution research international* 22 (1): 5–34.



- Van der Sluijs JP., Simon-Delso N., Goulson D., Maxim L., Bonmatin J-M., Belzunces LP. 2013. Neonicotinoids, bee disorders and the sustainability of pollinator services. *Current Opinion in Environmental Sustainability* 5: 293–305.
- Smart MD., Sheppard WS. 2012. *Nosema ceranae* in age cohorts of the western honey bee (*Apis mellifera*). *Journal of Invertebrate Pathology* 109 (1):148–151.
- Smith MR., Singh GM., Mozaffarian D., Myers SS. 2015. Effects of decreases of animal pollinators on human nutrition and global health: a modelling analysis. *The Lancet* 6736 (15): 1–9.
- Snodgrass RE., Erickson EH. 2008. "Chapter 4 : The anatomy of the honey bee". In *the Hive and the Honey bee*. Hamilton, Illinois : Dadant & Sons, inc.
- Southwick EE. 2008. "Chapter 5 : Physiology and social physiology of the honey bee". In *the Hive and the Honey bee*. Hamilton, Illinois : Dadant & Sons, inc.
- Southwick EE., Southwick L. 1992. Estimating the Economic Value of Honey Bees (Hymenoptera : Apidae) as Agricultural Pollinators in the United States. *Journal of Economic Entomology* 85 (3): 622–633.
- Spleen AM., Lengerich EJ., Rennich K., Caron D., Rose R., Pettis JS., Henson M., Wilkes JT., Wilson M., Stitzinger J., Lee K., Andree M., Snyder R., VanEngelsdorp D. 2013. A national survey of managed honey bee 2011-12 winter colony losses in the United States: results from the Bee Informed Partnership. *Journal of Apicultural Research* 52 (2): 44–53.
- Statistique Canada. 2014. URL : <http://www5.statcan.gc.ca/cansim/a26>. Consulté le 18 mars 2015.
- Table filière Apicole. 2005. Plan stratégique de développement 2005-2009.
- Testud F. 2014. Insecticides néonicotinoïdes. *Toxicologie pathologie* 9: 1–6.
- Thomann M., Imbert E., Devaux C., Cheptou P-O. 2013. Flowering plants under global pollinator decline. *Trends in Plant Science* 18 (7): 353–359.
- Traver BE., Fell RD. 2014. A scientific note: Survey for *Nosema spp.* in preserved *Apis spp.* *Apidologie* 46: 194–196.
- Tremblay N. 2007. Rapport sur l'assemblée générale de la CAPA et de la 66ième conférence du Conseil Canadien du Miel. Centre de Recherche en Science Animale de Deschambault (CRSAD).
- Tremblay N. 2008. Rapport de visite du Conseiller provincial en apiculture aux assemblées générales annuelles du Conseil Canadien du Miel et L'association Canadienne des Professionnels en Apiculture. Centre de Recherche en Science Animale de Deschambault (CRSAD).
- VanEngelsdorp D., Hayes J., Underwood R., Pettis J. 2010. A survey of honey bee colony losses in the United States, fall 2008 to spring 2009. *Journal of Apicultural Research* 49 (1): 7-14.
- VanEngelsdorp D., Meixner MD. 2010. A historical review of managed honey bee populations in Europe and the United States and the factors that may affect them. *Journal of Invertebrate Pathology* 103: 580–595.

- Vickery MV., Levac B. 2005. Les paquets d'abeilles. Centre de référence en agriculture et agroalimentaire du Québec\_(CRAAQ): 1–11.
- Von Frisch K. 2011. Vie et mœurs des abeilles. Paris, France : Albin Michel.
- Webster TC. 2005. Honey bee, *Apis mellifera* (Hymenoptera : Apidae). Encyclopedia of Entomology: 1099-1102
- Wells H., Wells PPH. 1983. Honey bee foraging ecology: Optimal diet, minimal uncertainty or individual constancy? The Journal of Animal Ecology 52 (3): 829–836.
- Wilkinson D., Smith GC. 2002. A model of the mite parasite, *Varroa destructor*, on honeybees (*Apis mellifera*) to investigate parameters important to mite population growth. Ecological Modelling 148 (3): 263–275.
- Williams GR., Shafer ABA., Rogers REL., Shutler D., Stewart DT. 2008. First detection of *Nosema ceranae*, a microsporidian parasite of European honey bees (*Apis mellifera*), in Canada and central USA. Journal of Invertebrate Pathology 97:189–192.
- Williams GR., Taryp DR., VanEngelsdorp D., Chauzat MP., Cox-Foster DL., Delaplane KS., Neumann P., Pettis JS., Rogers REL., Shutler D. 2010. Colony collapse disorder in context. BioEssays 32: 845–846.
- Winston ML. 1987. The biology of the Honey Bee. Cambridge, Massachusetts : Harvard University Press.
- Winston L., Fergusson A. 1985. The effect of worker loss on temporal caste structure in colonies of the honeybee (*Apis mellifera* L). Canadian Journal of Zoology 63: 777-780.
- Winston ML., Punnett EN. 1982. Factors determining temporal division of labor in honeybees. Canadian Journal of Zoology 60: 2947–2952.
- Woyke J. 1962. Natural and artificial insemination of queen honeybees. Bee World 43: 21–25.
- Woyke J. 1964. Causes of repeated mating flight by queen honeybees.pdf. Journal of Apicultural Research 3:17–23.
- Yang EC., Chuang YC., Chen YL., Chang LH. 2008. Abnormal foraging behavior induced by sublethal dosage of imidacloprid in the honey bee (Hymenoptera: Apidae). Journal of economic entomology 101 (6): 1743–1748.
- Yoshiyama M., Kimura K. 2011. Distribution of *Nosema ceranae* in the European honeybee, *Apis mellifera* in Japan. Journal of Invertebrate Pathology 106 (2): 263–267.
- Zemene M., Bogale B., Derso S., Belete S., Melaku S., Hailu H. 2015. A Review on *Varroa* Mites of Honey Bees. Journal of Entomology 8 (3):150–159.