

Projet NS0315CO

**Des pesticides dans les ruches d'abeilles mellifères des provinces maritimes :
les niveaux de résidus et leurs interactions avec les acariens *Varroa* et *Nosema*
dans le stress des colonies**

Demandeur

Association des Apiculteurs de Nouvelle-Écosse

RAPPORT FINAL V2

Soumis à :

**Association des Apiculteurs de Nouvelle-Écosse
Agri-Futures Nova Scotia
Université de Dalhousie**

Préparé par :

**Chris Cutler, Ph.D.
Maître de Conférences
Département des Sciences de l'Environnement
Faculté d'Agriculture
Université de Dalhousie**

16 December 2013

1. CONTEXTE

Les abeilles, *Apis mellifera*, sont une composante essentielle de l'agriculture mondiale et canadienne. Les provinces maritimes possèdent une riche histoire de l'apiculture et les apiculteurs dans notre région apportent des contributions essentielles au service de pollinisation au Canada atlantique. Cependant, les apiculteurs sont continuellement confrontés à des pertes d'hivernage élevées et inacceptables. Les acariens *Varroa*, l'agent pathogène *Nosema* et les pesticides sont considérés comme les principales menaces auxquelles sont exposées les abeilles. Bien que de nombreux apiculteurs surveillent le *Varroa* et le *Nosema* dans leurs ruches, nous savons peu de choses sur les charges de pesticides dans les ruches dans les opérations canadiennes, ou si les résidus de pesticides peuvent agir par ajout ou par synergie avec les facteurs de stress pathogènes et parasites pour compromettre la santé de la colonie. Ce projet a entrepris une approche pan-Maritime, et a proposé de répondre aux questions suivantes :

- 1. Quels sont les niveaux de pesticides présents dans les rayons des ruches (cire d'abeille) ?**
Des échantillons seront prélevés dans des ruches représentatives en Nouvelle-Écosse, au Nouveau-Brunswick et sur l'Île-du-Prince-Édouard.
- 2. Existe-t-il une relation entre les charges de pesticides dans la ruche et la présence du *Varroa* ou du *Nosema* ?** Lors du prélèvement d'échantillons de rayons et d'abeilles, nous allons déterminer les niveaux d'infestation par *Varroa* et *Nosema* dans les ruches elles-mêmes, permettant ainsi des analyses de corrélation entre ces variables.
- 3. Est-ce que les effets des pesticides à des concentrations sublétales agissent par ajout ou par synergie avec le *Nosema* pour compromettre la santé des colonies ?** Nous allons exposer ici les abeilles en captivité à rien (témoin), au *Nosema*, au pesticide, ou au *Nosema* + pesticide, et déterminer les effets sur la longévité et l'apprentissage/mémoire.

Des problèmes logistiques nous ont empêchés d'atteindre le troisième objectif. Voir la section sur les *Déviations par rapport à la Proposition* pour en connaître les raisons. Comme alternative, et en fonction de nos résultats sur les résidus de pesticides, nous avons mené des expériences pour déterminer : **comment des doses réalistes d'amitraze (Apivar) ont une incidence sur l'apprentissage et la rétention mnémonique de l'abeille mellifère et les niveaux d'octopamine ?**

2. MÉTHODES ET MATÉRIELS

2.1 Résidus de pesticides dans les ruches d'abeilles maritimes.

De la cire d'abeille (rayon) a été recueillie dans des ruches dans des ruchers représentatifs en Nouvelle-Écosse, au Nouveau-Brunswick et sur l'Île-du-Prince-Édouard. La cire d'abeille recueillie provenait de trois ruches sélectionnées au hasard dans chaque rucher et regroupée pour faire un seul échantillon de chaque rucher. Les échantillons ont été prélevés en été et en automne. Les échantillons ont été conservés à moins 20°C et envoyés au Dr Roger Simonds (Laboratoire National des Sciences du Département d'Agriculture des États-Unis en Caroline du Nord) afin de les soumettre à un dépistage d'une grande variété de pesticides.

2.2 Charges de pesticides dans la ruche et Incidence de l'acarien *Varroa* et du *Nosema*

Les abeilles ont été recueillies à partir de colonies utilisées dans l'étude des résidus de pesticides. Environ 200 abeilles ouvrières de la zone du couvain de chaque ruche ont été recueillies dans des bocaux et congelées. Dans le laboratoire, 250 ml d'eau distillée ont été ajoutés à chaque bocal, les contenus ont été agités au vortex dans un agitateur rotateur Labline pendant 5 minutes à 130 tours par minute, et les contenus ont été versés à travers un écran en plastique dans un bac en plastique blanc afin de séparer les abeilles des acariens, qui ont tous deux été comptés afin d'obtenir un indice de l'intensité de l'infection par acarien par échantillon.

Les mêmes abeilles ouvrières utilisées pour examiner les charges d'acariens *Varroa* ont été examinées pour détecter la présence de *Nosema*. Les abdomens d'abeilles de 50 individus par échantillon ont été écrasés et mis en suspension dans 50 ml d'eau distillée. L'estimation de la charge de *Nosema* a été réalisée avec un microscope et un hémocytomètre à un grossissement de 400 x.

Les dénombrements de *Varroa* ont été normalisés et exprimés en "Varroa par abeille" pour expliquer les nombres contradictoires d'abeilles dans chaque échantillon. Les différences entre les niveaux d'acariens *Varroa* ont été évaluées grâce à l'analyse de la variance en utilisant un logiciel statistique Minitab (Minitab Inc.). Les moyennes ont été séparées par un test de Tukey ($\alpha = 0,05$).

Le *Nosema* est habituellement mesuré par le nombre moyen de spores par abeille. On sait que deux espèces de *Nosema* affectent les abeilles mellifères dans cette région : le *Nosema apis* et le *Nosema ceranae*. Tous deux sont généralement trouvés ensemble. Dans la mesure où les symptômes et les traitements sont similaires, et que la différenciation par microscopie seule n'est pas fiable, les deux sont dénommés ci-après "Nosema". Les différences entre les taux d'infection ont été évalués par l'analyse de la variance en utilisant un logiciel statistique Minitab (Minitab Inc.). Les moyennes ont été séparées par un test de Tukey ($\alpha = 0,05$).

Des corrélations ont été menées afin de déterminer s'il y avait des relations entre la concentration de pesticides dans la cire d'abeille et de l'incidence de *Varroa* et *Nosema*. Des corrélations ont été effectuées pour les échantillons prélevés au début de la saison, et plus tard dans la saison. Car un certain nombre d'échantillons positifs sont tenus de procéder à une véritable analyse, nous nous sommes concentrés uniquement sur les pesticides qui ont été trouvés dans plus de 15 % des cours, dont les suivantes: 2,4 DMPF (Amitraze métabolite); coumaphos et son oxon; fluvalinate; et vinclozoline.

2.2 Effet de l'Amitraze sur l'apprentissage et la mémoire des abeilles mellifères

L'Amitraze (Apivar®) est utilisé comme un acaricide pour contrôler l'acarien *Varroa*. L'analyse des résidus de pesticides a constaté que l'amitraze est couramment utilisé dans les ruchers de l'étude des provinces Maritimes (Tableau 1), et en tant que nouveau produit, on s'attend à ce que son utilisation augmente dans les années à venir.

Des abeilles butineuses âgées ont été recueillies dans un bocal Mason d'une ruche à l'aide d'un aspirateur à main modifié. Les abeilles étaient anesthésiées par le froid et se sont vues administrées par voie topique (1µl) d'amitraze dissous dans de l'acétone à l'une des 5 concentrations : 0 (contrôle acétone), 600, 6 000, 60 000 et 600 000 ppb. La concentration la

plus faible (600 ppb) est équivalente à une dose au 95ème centile d'amitrazé retrouvée dans toutes les abeilles examinées (y compris les non-détections) dans une étude approfondie des résidus de pesticides dans les colonies d'abeilles mellifères aux États-Unis et dans certaines parties du Canada menées par Mullin et al. (2010)¹. Le traitement le plus élevé que nous avons utilisé (600 000 ppb) était équivalent à une dose au 95ème centile uniquement pour les détections positives retrouvées chez les abeilles par Mullin et al. (2010). Les abeilles ont ensuite été maintenues dans une chambre noire à 25°C pendant 24 heures.

Vingt-quatre heures après l'exposition, les abeilles ont été utilisées dans les bioessais de réflexe d'extension du proboscis (PER) pour tester les effets de l'exposition à l'acaricide à la fois sur l'apprentissage et sur la rétention mnémotique à court terme. Pour tester la capacité d'apprentissage, les abeilles étaient anesthésiées par le froid et attachées individuellement dans des embouts de pipette garnis, exposant uniquement leur tête et leurs antennes. Les abeilles ont ensuite subi 6 séances de conditionnement à 3 mn d'intervalle. Chaque session de conditionnement se composait d'une exposition de 3s à de l'air parfumé (senteur de romarin) suivie d'une stimulation de 4s des antennes par une gouttelette de 30% de saccharose. Si le proboscis était étendu, l'abeille était autorisée à boire pendant 2s. La présence de l'extension du proboscis lors de l'exposition au parfum était enregistré et a indiqué une activité d'apprentissage.

La rétention mnémotique a été testée 1 heure et 2 heures après les sessions de conditionnement. Aucune récompense de saccharose n'était présentée. Des abeilles ont été exposées à la senteur de romarin et la présence ou l'absence de l'extension du proboscis était enregistrée.

2.3 Effet de l'Amitrazé sur les concentrations d'octopamine dans l'hémolymphe des abeilles mellifères

L'octopamine est souvent considérée comme l'équivalent chez l'insecte de la noradrénaline. Elle agit comme un neuromodulateur, neurotransmetteur et neurohormone et elle est connue pour être impliquée dans les réactions de lutte ou de fuite, dans l'agressivité, et surtout, dans l'apprentissage et la mémoire chez les abeilles mellifères et autres insectes. Les récepteurs de l'octopamine sont considérés comme la principale cible pour le mode d'action de l'amitrazé. Pour cette raison, l'octopamine a été mesurée par un indicateur secondaire du potentiel de l'amitrazé à influencer sur l'apprentissage et la mémoire des abeilles.

Des abeilles ont été collectées, traitées et conservées pendant 24 heures comme indiqué à la section 2.2. Après 24 heures, les abeilles étaient anesthésiées par le froid et 10µL d'hémolymphe ont été prélevés des têtes de 5 à 10 abeilles par reproduction du traitement à l'aide de tubes capillaires étirés à la flamme. L'hémolymphe a été recueillie dans 20 µL d'acide perchlorique 0,1 M sur de la glace. Cela a ensuite été porté à un volume de 40 µL en utilisant de l'acide perchlorique 0,1M refroidi. Ces solutions ont été centrifugées à 13 000 tr/min pendant 5 min en utilisant une centrifugeuse réfrigérée. Le surnageant a ensuite été recueilli et conservé dans des flacons à scintillation ambrés à -20°C jusqu'à l'analyse.

¹ Mullin CA, Frazier M, Frazier JL, Ashcraft S, Simonds R, vanEngelsdorp D and Pettis JS, Niveaux élevés d'acaricides et de substances agrochimiques dans les ruchers nord-américain : Implications pour la santé des abeilles mellifères. PLoS ONE 5:e9754 (2010).

L'analyse a été effectuée par CLHP-UV à 224 nm en utilisant une colonne C-18 et une phase mobile constituée d'un mélange de 7:03 vol/vol d'acide citrique 0,02 M et de dihydrogénophosphate de sodium 0,02 M à pH 3,0. Les échantillons ont subi une filtration et une dilution quatre fois lors de la phase mobile avant l'injection dans une boucle d'échantillonnage de 50 µL. La phase mobile a été exécutée à un débit de 2,0 mL/min. Le pic de vérification a été effectué à l'aide d'octopamine synthétique ainsi que de synéphrine, qui a été utilisée comme standard interne pour la quantification précise des concentrations d'octopamine.

3. RÉSULTATS

Les évaluations de l'acarien *Varroa* et du *Nosema* ont été réalisées sur 90 des 93 échantillons. Les 3 échantillons restant n'ont pas été prélevés, car les ruches affectées étaient mortes, peuplées de mâles ou manquantes. Sur les 90 échantillons, 43 contenaient des acariens *Varroa* et 56 étaient positifs pour *Nosema*. Seuls 22 échantillons ont été touchés par les deux.

3.1 Acariens *Varroa*

Il y avait une différence significative dans les taux de parasitisme entre les prélèvements d'été et d'automne ($F_{1,41} = 8,01$; $P = 0,007$). Les échantillons de l'été n'ont pas été aussi fortement parasités que les échantillons prélevés à l'automne. Seules 36,7% des ruches d'été présentaient des acariens *Varroa*. Parmi celles-ci, le nombre moyen d'acariens par abeille était 0,0323 ($\pm 0,0086$). Les taux de parasitisme ont augmenté par la suite à 63,6% avec une moyenne de 0,1220 ($\pm 0,0312$) acariens/abeille.

La Nouvelle-Écosse a présenté le plus haut niveau d'infestation par les acariens avec 86,1% des ruches contribuant ainsi à un taux de parasitisme moyen de 0,1028 ($\pm 0,0220$) acariens/abeille ($F_{2,40} = 3,52$; $P = 0,039$). Cela représentait 10 fois la quantité d'acariens *Varroa* au Nouveau-Brunswick et à l'Île-du-Prince-Édouard. Il y avait moins de ruches infestées sur l'Île-du-Prince-Édouard PEI (36,7%) et parmi celles-ci le niveau moyen de parasitisme était significativement inférieur à celui de la Nouvelle-Écosse avec seulement 0,0070 ($\pm 0,0016$) acariens/abeille. Les ruches du Nouveau-Brunswick avaient 0,0089 acariens/abeille. Ce n'était pas significativement différent de la Nouvelle-Écosse ou de l'Île-du-Prince-Édouard, mais il convient de noter que seule une ruche (3,7%) du Nouveau-Brunswick a donné un résultat de test positif pour l'acarien *Varroa*. Cet échantillon ne contenait que 2 acariens.

Pour tester les différences entre tous les emplacements des ruchers, les nombres moyens d'acariens/abeille ont été regroupés pour tous les 3 échantillons de ruches à chaque rucher afin de donner une représentation globale de l'intensité de l'infection au sein de chaque rucher. Toutes les ruches de chaque emplacement n'ont pas donné un résultat de test positif mais chacune a tout de même contribué à l'indice d'intensité de l'infection moyenne globale pour chaque rucher. L'intensité de l'infection variait considérablement entre les sites avec jusqu'à 0,2224 ($\pm 0,0892$) acariens/abeille sur un site et aucun sur d'autres sites ($F_{19,70} = 3.86$; $P < 0,001$).

3.2 *Nosema*

Il y a eu plus de ruches avec un résultat positif à *Nosema* en été (75%) qu'en automne (33,3%). Toutefois, les niveaux d'intensité d'infection moyens n'étaient pas significativement différents entre les ruches infectées des prélèvements de l'été et de l'automne. Les prélèvements d'été avaient en moyenne 2 483 333 (\pm 457 550) de spores/abeille par rapport aux 1 934 091 (\pm 947 324) de spores/abeille en automne ($F_{1,54} = 0.28$; $P = 0.599$).

Le Nouveau-Brunswick a présenté le plus haut niveau d'infestation avec 81,5% de ruches infectées et présentait l'intensité d'infection moyenne la plus élevée : 3 452 273 (\pm 781 409) de spores/abeille. La Nouvelle-Écosse avait la charge la plus faible de *Nosema* avec seulement 44,4% des ruches contribuant ainsi à une moyenne de 1 065 625 (\pm 298 205) de spores/abeille, presque sensiblement moins que l'intensité de l'infection du Nouveau-Brunswick ($F_{2,53} = 3,06$; $P = 0,055$). L'Île-du-Prince-Édouard avait un niveau intermédiaire de 2 223 611 (\pm 721 029) de spores/abeille dans 60% des ruches.

Comme pour le *Varroa*, l'intensité de l'infection a été évaluée par rucher, avec des échantillons groupés à chaque emplacement utilisé pour déterminer l'infestation globale par rucher. Les charges de *Nosema* ont varié significativement entre les sites avec jusqu'à 7 920 000 (\pm 1 650 000) de spores/abeille sur un site et d'autres n'en présentaient aucune ($F_{19,70} = 6.70$; $P < 0,001$).

3.3 Cire d'abeille

Trente-et-un échantillons groupés (les ruches provenant d'un seul site ont été mises en commun) ont été criblés pour obtenir une liste complète de 174 pesticides et produits de dégradation. Dix-sept résidus de pesticides ont été identifiés (Tableau 1). Tous les échantillons contenaient au moins 2 résidus différents et un échantillon présentait jusqu'à 8 résidus. Les plus courants étaient les acaricides : le coumaphos et le fluvalinate, couramment employés contre le *Varroa*, à des concentrations allant jusqu'à 3 390 et 328 ppb respectivement. L'oxone de Coumaphos, un métabolite de coumaphos a également été trouvé dans 67,7% des échantillons avec une détection maximale de 107 ppb. Le métabolite de l'acaricide amitraze, 2,4 diméthylphénylformamide (2,4-DMPF) a été détecté dans 61,3% des échantillons avec une détection maximum de 39 300 ppb. La vinclozoline, un fongicide, a été détecté dans 35,5% des échantillons. Tous les autres résidus détectés étaient disséminés dans tous les autres échantillons.

Pour les échantillons prélevés au début de l'été, il ya une corrélation positive significative entre la concentration de fluvalinate, et l'apparition de *Nosema* dans les ruches de ceux même cour (Tableau 2). Tous les autres corrélations entre la concentration de pesticides et *Varroa* ou niveaux *Nosema* n'étaient pas significatives. Il n'y avait pas de corrélation entre les niveaux de l'acarien *Varroa* et *Nosema* ($R = -0.229$, $P = 0.33$).

Pour les échantillons prélevés à l'automne, il y avait une corrélation positive significative entre la concentration de 2,4 DMPF détecté dans les ruches et les niveaux de *Nosema* (Tableau 2). Cette relation n'était pas apparente dans le début de l'échantillonnage . Il n'y avait pas de corrélation entre les niveaux de *Varroa* et des pesticides. Comme dans l'été, il n'y avait pas de corrélation entre les niveaux de l'acarien *Varroa* et *Nosema* automne ($R = -0.043$, $P = 0.88$).

On ignore pourquoi de fortes concentrations de fluvalinate et 2,4 DMPF ont été corrélés avec les niveaux de *Nosema* en été et à l'automne, respectivement. Des niveaux élevés de ces

acaricides éventuellement causés les abeilles à être plus sensibles aux *Nosema* à ces périodes de l'année. Cependant, on pourrait s'attendre à des corrélations similaires avec les autres acaricides, si cela semble être une explication probable.

3.4 Apprentissage et mémoire

Les abeilles mellifères traitées avec cinq concentrations différentes d'amitrazé ont été évaluées à la fois pour l'apprentissage et la rétention mnémotique. L'apprentissage de l'abeille variait de 92,9% pour le traitement à l'amitrazé de 60 000 ppb, à 97,7%, pour le traitement à l'amitrazé de 6 000 ppb (Fig. 1). Aucun des traitements n'était significativement différent ($P > 0.05$).

1 heure et 2 heures après les séances de conditionnement, les mêmes abeilles ont été testées pour évaluer leur capacité à retenir ce qu'elles avaient appris. La rétention mnémotique après 1 heure variait de 92,9% pour le témoin, à 97,6% pour le traitement d'amitrazé de 6 000 ppb (Fig. 2). Après 2 heures, la rétention mnémotique variait de 91,8% pour 6 000 ppb à 94,6% pour 600 ppb d'amitrazé (Fig. 3). La rétention mnémotique n'a pas changé dans la plupart des traitements entre 1 à 2 heures post-conditionnement. Elle n'a que légèrement diminué pour les traitements à l'amitrazé de 6 000 et 600 000 ppb. Aucune différence de la rétention mnémotique n'a été statistiquement significative ($P > 0,05$).

Tableau 1. Résidus de pesticides (ppb) détectés dans la cire d'abeille provenant de ruches d'abeilles mellifères des Provinces maritimes, 2011.

Pesticide ¹	Échantillons positifs	Fréquence (%)	Moyenne	Max	ESM	LOD (ppb)
1-Naphthol	1	3.2	28	28.0	---	10
2,4 DMPF (Métabolite d'amitrazé)	19	61.3	9196.6	39,300.0	2109.8	4
Acétamipride	2	6.5	10.6	12.6	2.1	8
Boscalide	3	9.7	161.7	271.0	71.5	4
Carbendazime (MBC)	3	9.7	30.8	45.4	7.4	5
Chlorothalonil	1	3.2	71.3	71.3	---	1
Coumaphos	31	100.0	495.4	3390.0	135.6	1
Oxone de coumaphos	21	67.7	44.8	313.0	15.2	1
Cyperméthrine	1	3.2	17.8	17.8	---	4
Fluvalinate	31	100.0	113.6	328.0	14.6	1
Paradichlorobenzène	3	9.7	2660.7	7150.0	2246.0	10
Pyraclostrobine	4	12.9	30.7	46.0	6.1	15
Pyriméthanol	2	6.5	9.2	11.6	2.4	3
Tétraméthrine	1	3.2	7.7	7.7	---	10
Thiabendazole	1	3.2	1.8	1.8	---	1
THPI	1	3.2	297.0	297.0	---	50
Vinclozoline	11	35.5	2.8	10.8	0.9	1

¹ 174 résidus ou métabolites de pesticides ont été criblés. Seuls ceux qui ont été détectés ont été mentionnés.

Tableau 2. Coefficients de corrélation de Pearson (*R*) et les valeurs *P* pour les corrélations de concentration de pesticides avec *Varroa* et *Nosema* niveaux de représentation mètres ruches / abeilles en Nouvelle-Écosse, du Nouveau-Brunswick, et de l'Île-du-Prince-Édouard. Des corrélations significatives ($P < 0.05$) sont indiquées en caractères gras.

Pesticide	Échantillons Jun-Juil		Échantillons Sept-Oct	
	<i>Varroa</i>	<i>Nosema</i>	<i>Varroa</i>	<i>Nosema</i>
2,4 DMPF	<i>R</i> = -0.129 <i>P</i> = 0.59	<i>R</i> = -0.129 <i>P</i> = 0.59	<i>R</i> = -0.292 <i>P</i> = 0.29	<i>R</i> = 0.783 <i>P</i> = 0.001
Coumaphos	<i>R</i> = -0.018 <i>P</i> = 0.94	<i>R</i> = -0.094 <i>P</i> = 0.70	<i>R</i> = 0.399 <i>P</i> = 0.14	<i>R</i> = -0.035 <i>P</i> = 0.90
Fluvalinate	<i>R</i> = 0.198 <i>P</i> = 0.40	<i>R</i> = 0.613 <i>P</i> = 0.004	<i>R</i> = 0.131 <i>P</i> = 0.64	<i>R</i> = -0.114 <i>P</i> = 0.69
Vinclozolin	<i>R</i> = -0.107 <i>P</i> = 0.65	<i>R</i> = -0.003 <i>P</i> = 0.99	<i>R</i> = -0.444 <i>P</i> = 0.10	<i>R</i> = 0.461 <i>P</i> = 0.08

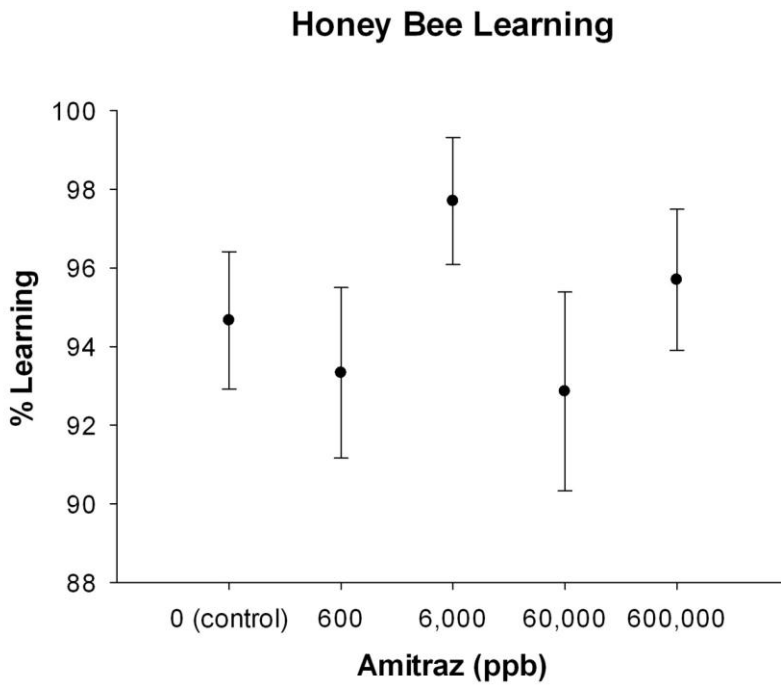


Fig. 1. Pourcentage d'apprentissage (\pm ESM) chez des abeilles mellifères traitées à l'amitraz lors des bioessais de réflexe d'extension du proboscis (PER).

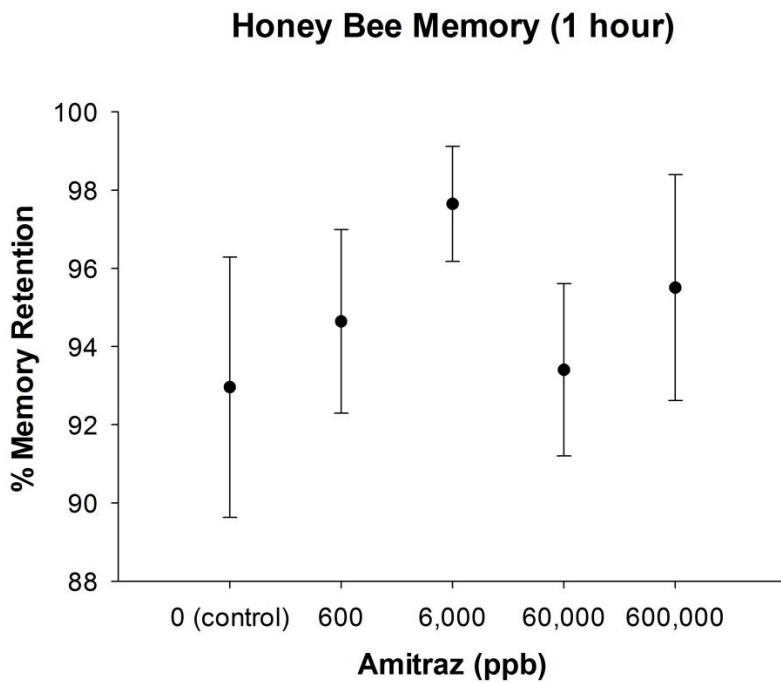


Fig. 2. Pourcentage de rétention mnémorique (\pm ESM) lors des bioessais de réflexe d'extension du proboscis (PER) 1 heure après le conditionnement chez des abeilles mellifères traitées à l'amitraz.

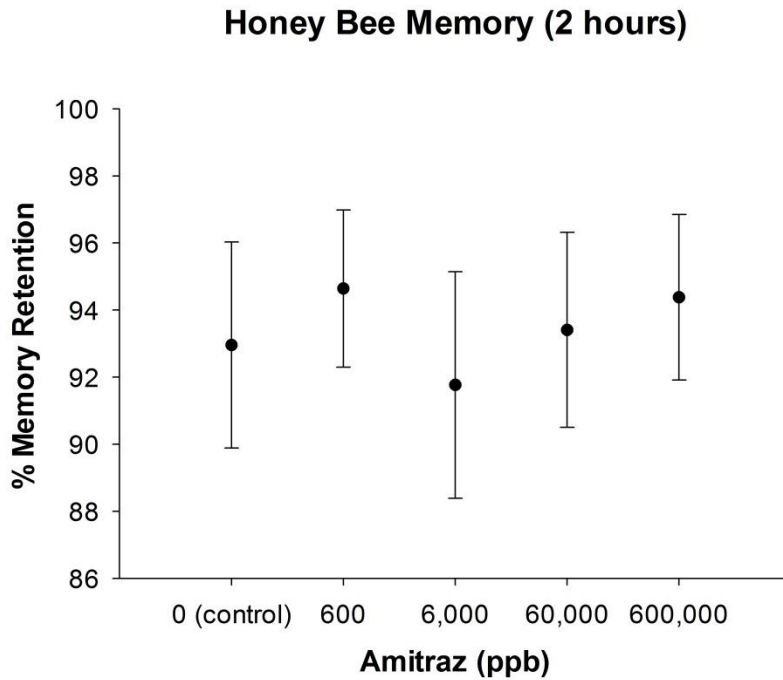


Fig. 3. Pourcentage de rétention mnémonique (\pm ESM) lors des bioessais de réflexe d'extension du proboscis (PER) 2 heures après le conditionnement chez des abeilles mellifères traitées à l'amitraz.

3.5 Concentrations en octopamine

L'hémolymphe d'abeille provenant de cinq traitements différents à l'amitraz a été recueillie et analysée. Une analyse de la variance à un facteur a révélé que le niveau d'octopamine était significativement affecté par le traitement à l'amitraz ($F_{4,45} = 2,83$; $P = 0,035$). Un test de séparation des moyennes de Tukey a montré que les abeilles traitées avec 600 ppb d'amitraz avaient des niveaux d'octopamine dans l'hémolymphe significativement plus élevés, à 319 ppb, que le traitement de contrôle, à 230 ppb. Tous les autres traitements n'étaient pas significativement différents (Fig. 4).

Ainsi, bien que le bioessai PER n'a pas détecté un effet statistiquement significatif de l'amitraz sur l'apprentissage et la rétention mnémonique de l'abeille mellifère, de faibles concentrations d'amitraz peuvent augmenter considérablement les titres d'octopamine. Des expériences supplémentaires sont nécessaires pour déterminer si oui ou non ces augmentations d'octopamine sont biologiquement significatives.

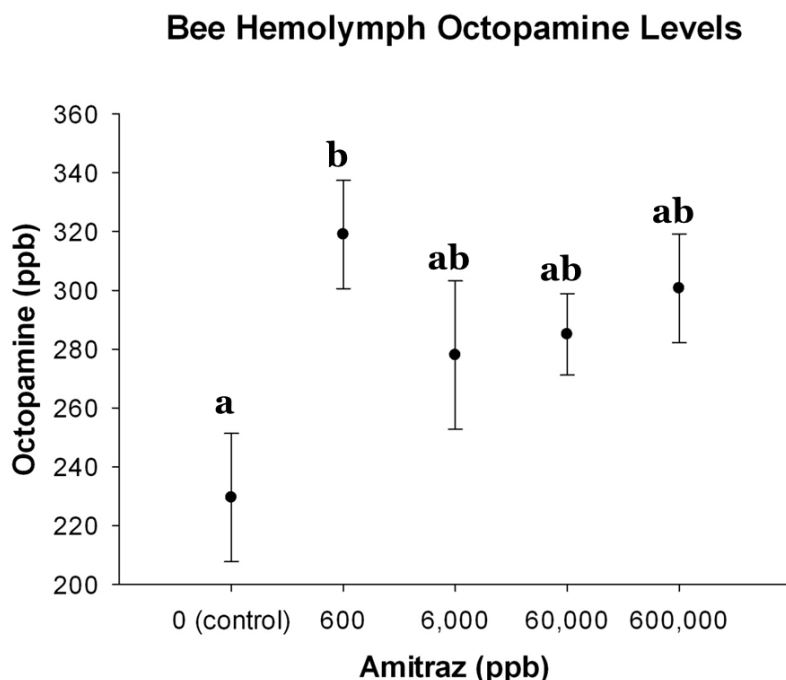


Fig. 4. Niveaux d'octopamine (\pm ESM) détectés dans l'hémolymphe d'abeilles mellifères traitées à l'amitraz.

4. DÉVIATIONS PAR RAPPORT À LA PROPOSITION

Plusieurs déviations ont eu lieu par rapport à la recherche proposée.

- i. Nous avons espéré obtenir une quarantaine d'échantillons de cire d'abeille pour l'analyse des résidus. Nous avons recueilli de nombreux échantillons nous-mêmes à partir de ruches avec la permission de ces apiculteurs. Pour d'autres, nous avons envoyé des trousse de prélèvement contenant des instructions et tout le matériel nécessaire pour recueillir des échantillons de cire et d'abeilles. Alors que de nombreux coopérateurs ont été conciliants, d'autres ne l'ont pas été, ce qui a entraîné un manque d'échantillons.
- ii. Nous avons espéré obtenir un étudiant MSc pour ce projet en mai 2011. Un candidat approprié n'a pas été trouvé jusqu'en mai 2012. Néanmoins, de nombreuses recherches ont été achevées en 2011 et il n'y a pas eu de retard dans l'ensemble du projet.
- iii. Nous avons initialement proposé de tester si le *Nosema* et les pesticides agissent par synergie sur l'apprentissage des abeille à travers des bioessais PER ou de tubes en T. Cependant, plusieurs problèmes ont été rencontrés lors de la conduite de ces expériences. Il était difficile d'obtenir et de maintenir un inoculum infesté de *Nosema* à forte puissance ; malgré l'aide de Jason Sproule et de Anthony Melathopoulos dans notre laboratoire, qui possèdent tous deux une vaste expérience de travail avec le *Nosema*. Afin de créer artificiellement cette population, des cadres de couvain ont été retirés de la ruche et ont éclos dans un incubateur. Des groupes d'abeilles ont ensuite été retirés et nourris avec une

solution de saccharose mélangée à un nouvel inoculum de *Nosema*. Au cours de la période d'incubation nécessaire pour le *Nosema*, une mortalité élevée, accompagnée de ressources limitées de la ruche (nouveaux cadres de jeune couvain), nous ont empêchés d'obtenir assez d'abeilles infectées pour maintenir un nouvel inoculum de *Nosema*. Nous avons décidé que les expériences d'apprentissage seraient poursuivies, mais qu'elles impliqueraient un seul pesticide (l'amitrazé, qui est de plus en plus largement utilisé par les apiculteurs et dont les effets potentiels sur l'apprentissage des abeilles n'ont pas été précédemment étudiés), au lieu d'une combinaison pesticide-parasite (voir section 2.2). En outre, dans la mesure où le mode d'action de l'amitrazé implique des interactions avec les récepteurs d'octopamine, l'octopamine de l'hémolymphe (connue pour être impliquée dans l'apprentissage et la mémoire chez les abeilles mellifères), l'octopamine a été mesurée comme une indication secondaire des effets potentiels de l'amitrazé sur la capacité d'apprentissage des abeilles mellifères.