

Analyses quantitatives et temporelles de la nosémose chez les abeilles au Québec



Tanya Copley, étudiante à la maîtrise
Université McGill, Département de sciences végétales
Sainte-Anne-de-Bellevue

Collaborateurs :

Pierre Giovannazo, M.Sc., candidat au doctorat en sciences vétérinaires à l'Université de Montréal, chercheur en apiculture, CRSAD, Deschambault et chargé de cours à l'Université Laval, Québec
Suha Jabaji, Université McGill, Sainte-Anne-de-Bellevue

*Ce projet de recherche a été rendu possible grâce au soutien financier
du ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation*



La nosémose est une maladie des abeilles domestiques causée par deux espèces microsporidies, soit *Nosema ceranae* et *Nosema apis*. Au Canada, ces deux parasites sont la troisième cause de pertes d'abeilles (1). Les changements saisonniers de *N. apis* sont bien connus (2, 3), mais ceux de *N. ceranae* sont moins bien compris.

Le but de ces études était de mieux comprendre les changements saisonniers des deux espèces et ainsi de trouver les différents moyens de transmission de ces parasites. Quatre ruches ont été débutées en juillet 2008 au Centre de recherche en sciences animales de Deschambault (CRSAD). Des échantillons d'abeilles et des déchets au fond des ruches ont été prélevés pendant 8 mois, entre juillet 2009 et juillet 2010. Des analyses moléculaires, duplex qPCR, pour identifier et quantifier les deux espèces de nosémose, ont été réalisées sur les intestins des abeilles, sur quatre glandes et sur les déchets au fond de la ruche dans chaque ruche, pendant 8 mois. Des analyses des fèces ont aussi été effectuées en avril 2010. Les résultats montrent que le *N. ceranae* est l'espèce dominante et que le *N. apis* devient de moins en moins commun.

Les deux espèces ont aussi été identifiées dans les quatre glandes examinées, des résultats qui démontrent que la transmission des espèces peut arriver de plusieurs manières et que les deux espèces de *Nosema* peuvent contaminer le miel et le pollen. Elles ont aussi été identifiées dans les déchets au fond des ruches et dans les fèces. Des corrélations modérées ont été trouvées entre les taux d'infection dans les déchets et dans les intestins. Ces résultats suggèrent que des abeilles n'ont pas nécessairement besoin d'être échantillonnées pour déterminer si une ruche est infectée et que les ruches devraient être nettoyées pour diminuer les chances de transmission des parasites.

1. CAPA Statement on Honey Bee Losses in Canada in 2009.
<http://capabees.com/main/files/pdf/2009winterloss.pdf>
2. Bailey, L. (1955). The Epidemiology and Control of *Nosema* Disease of the Honey Bee. *Ann. Appl. Biol.* 43(3):379-389.
3. Fries, I. (2010). *Nosema ceranae* in European honey bees (*Apis mellifera*). *J. Invertebr. Pathol.* 103:S73-S79.



ATELIER 2 - Procédure de diagnostic de la nosérose

(Résumé de documents du ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec)

Tanya Copley, étudiante à la maîtrise
Université McGill, Département de sciences végétales
Sainte-Anne-de-Bellevue



Atelier présenté par :

Pierre Giovannazo, M.Sc., candidat au doctorat en sciences vétérinaires à l'Université de Montréal, chercheur en apiculture, CRSAD, Deschambault et chargé de cours à l'Université Laval, Québec

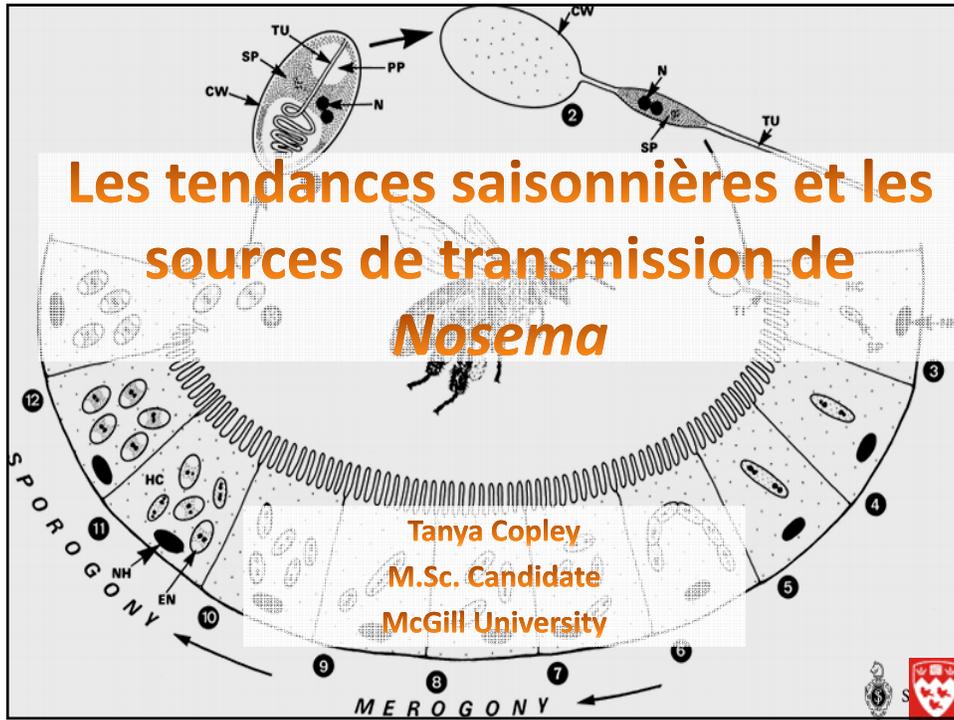
*Ce projet de recherche a été rendu possible grâce au soutien financier
du ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation*



Biologie : La nosérose est une condition contagieuse causée par deux espèces de champignon microscopique : *Nosema apis* et *Nosema ceranae*. La contamination se fait par ingestion. *Nosema* se développe dans le système digestif et cause des dommages aux intestins qui résultent en de la diarrhée chez l'abeille. De nombreuses particules infectieuses sont alors excrétées dans les déjections fécales, contaminant ainsi rapidement l'environnement de la ruche lorsque l'abeille y est confinée (hivernage) et propageant dès lors le problème. Cette forme de nosérose est habituellement causée par *Nosema apis*. En ce qui a trait à l'infection causée par *Nosema ceranae*, l'abeille pourrait être affectée en tout temps de l'année et le désordre digestif ne serait pas toujours présent.

Dépistage : Un échantillon d'une centaine d'abeilles est prélevé dans la ruche ou le rucher (échantillon composite). Il doit s'agir d'abeilles les plus âgées (au moins 8 jours) prélevées sur le pas de vol ou à l'entrée de la ruche, donc des butineuses. On doit prélever les abeilles sur la planche d'envol, idéalement des butineuses, car il s'agit d'abeilles plus âgées et assurément infectées si la condition est présente. L'analyse de jeunes abeilles prélevées sur le couvain pourrait fort bien ne pas révéler un problème de nosérose, car les spores ne se seraient pas encore développées. Le prélèvement composite fait au niveau du rucher doit être réparti sur un nombre représentatif de ruches. Les abeilles prélevées peuvent être conservées dans l'alcool 70 % ou réfrigérées/congelées depuis le prélèvement jusqu'à la réception au laboratoire.

Résultat de l'analyse : Si aucune spore n'est visualisée, le résultat est « NON DÉTECTÉ ». Si des spores sont visualisées, le résultat est « POSITIF » et on y accolera le nombre estimé de spores/abeille. La limite de détection de la méthode est de 50 000 spores/abeille. Pour un résultat positif, une interprétation automatique apparaîtra au rapport, soit : « Dans le cas d'un échantillon composite, la quantification du résultat positif (nombre de spores/abeille) peut inclure un biais qui rend difficile l'interprétation clinique du résultat au niveau de la ruche. »



La nosemeose est la troisième cause de perte d'abeilles au Canada

[CAPA Statement on Honey Bee Losses in Canada in 2009]

<p><i>N. apis</i> Zander 1909 Facile à contrôler En général n'est pas un problème</p>	<p><i>N. ceranae</i> Fries 1996 Virulent Moins bien compris</p>
--	--

Nosema spores
Photo taken by Dr Huihan Chen
Magnification 600x

Spécificité tissulaire

Glandes hypopharyngiennes-
Utilisées pour faire du gelée royale
N. ceranae



Glandes mandibulaires-
Utilisées pour faire du « bee bread » et la cire
Reine- sécrète des phéromones
Pas observé

Glandes de venin-
Utilisés pour la défense
Pas observé



Glandes salivaires thoraciques- Utilisés pour faire du miel
N. ceranae



TGI- emplacement principal

Sources

- Nourriture
 - Pollen, miel, eau
- Matériaux de ruche
 - Cire, fèces
- Débris au fond de la ruche?

Miel

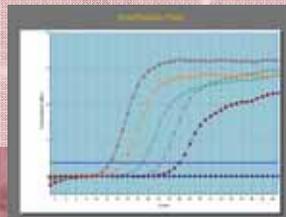
Pollen



Fèces

Détection and Quantification

- Méthode traditionnelle- comptage des spores
- Multiplex quantitative PCR (qPCR)
 - Distingue les deux espèces
- Les deux méthodes **tuent des abeilles**



è

- I. Il y a des changements saisonniers des taux d'infection des deux espèces de *Nosema*
- II. Les glandes contiennent des spores de *Nosema*
- III. Les débris au fond de la ruche contiennent des spores de *Nosema*



Objectif 1

- Déterminer les tendances saisonnières des deux espèces de *Nosema*

Échantillonnages



- Échantillonnage au Centre de recherche en sciences animales de Deschambault (CRSAD)
 - Abeilles adultes
 - Débris au fond de la ruche
- Échantillonnage entre mai 2008 et juillet 2010
 - 6 ruches/mois
 - Infections naturelles



Deschambault, Qc



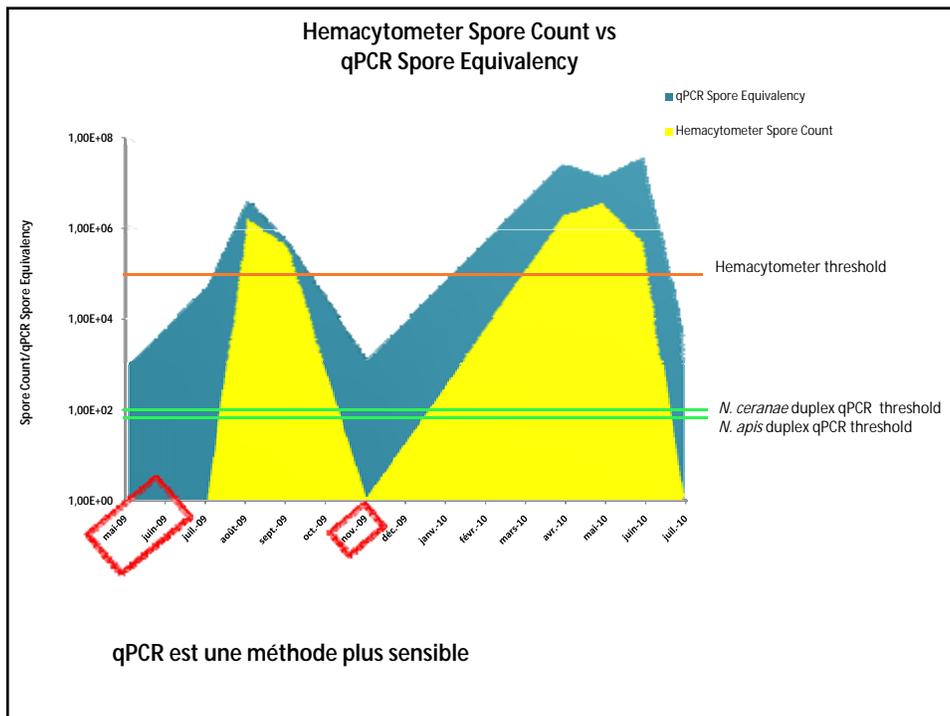
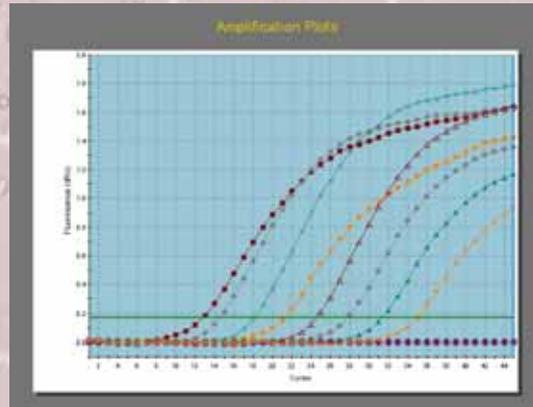
Adultes



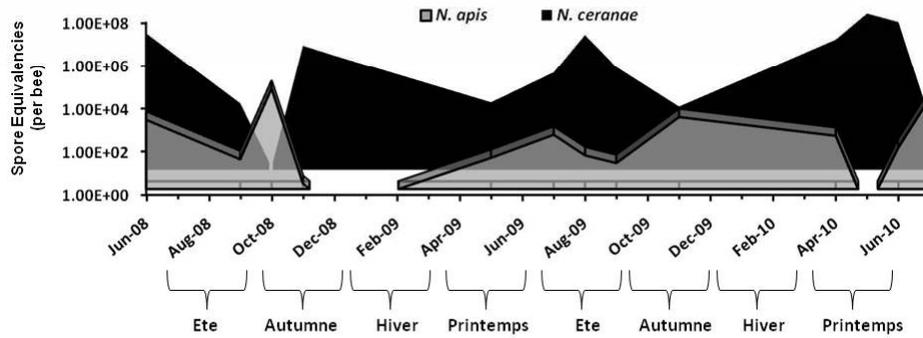
Débris

qPCR

Avec l'ADN et la fluorescence on peut quantifier combien de spores sont présents dans un échantillon



Tendances saisonnières



Nosema ceranae est plus répandue
Les tendances saisonnières des deux espèces sont différentes

- Déterminer si les glandes et les débris contiennent des spores de *Nosema*

Hypopharyngeal Glands



Salivary Glands



Bottom Board Debris

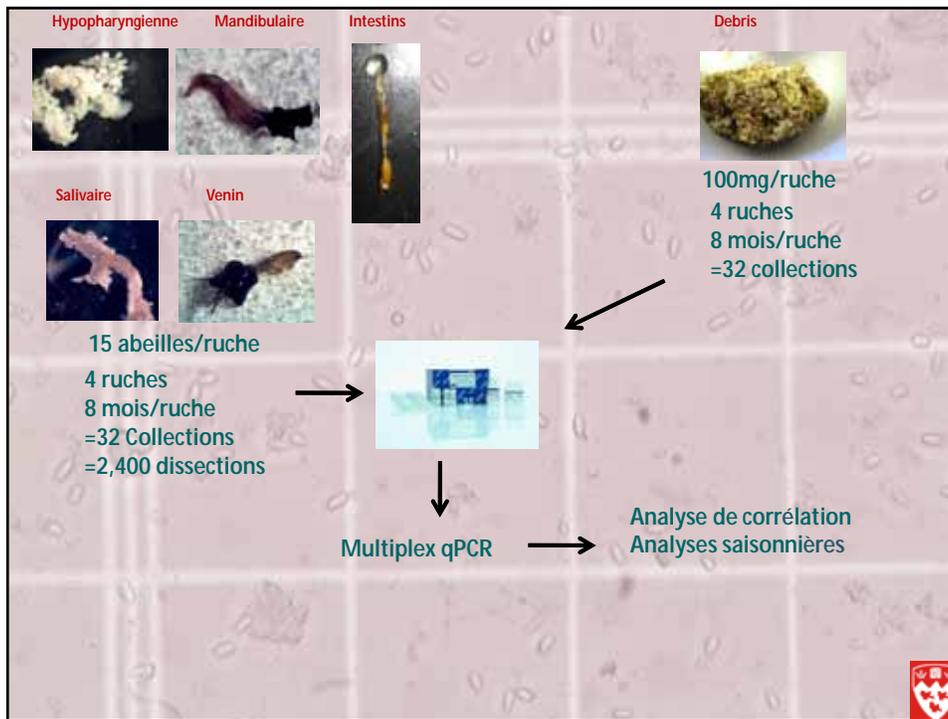


Mandibular Glands



Varroa Sac & Glands





Results

- *N. ceranae* et *N. apis* ont été détectés dans tous les tissus et le débris

	<i>N. ceranae</i>	<i>N. apis</i>	Co-infections	Total Infecté
Glandes hypopharyngiennes	11	1	15	27
Glandes mandibulaires	6	1	17	23
Glandes salivaires	7	0	17	24
Glandes venin	12	1	16	29
Intestins	11	2	19	32
Débris	13	4	13	30

- Déterminer si les taux d'infections dans les glandes et le débris sont corrélés avec les taux d'infections des ruches

Glandes hypopharyngiennes



Glandes salivaires



Débris



Glandes mandibulaires

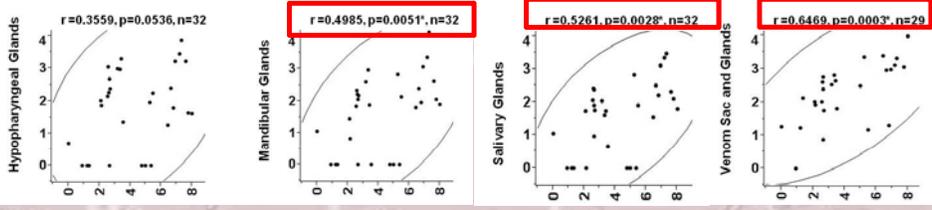


Glandes venin



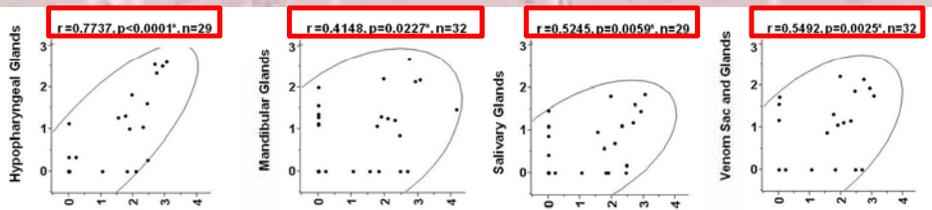
Glandes

N. ceranae



Taux d'infection dans les intestins

N. apis

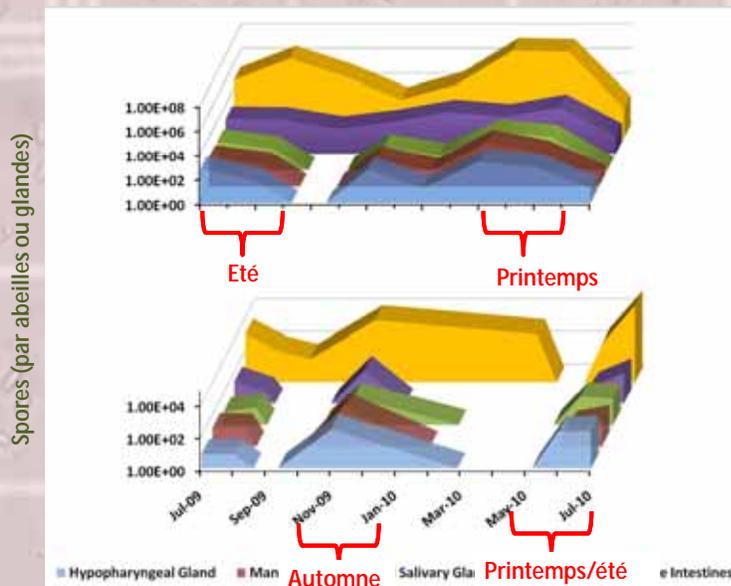


Taux d'infection dans les intestins

Data Log(x+1)



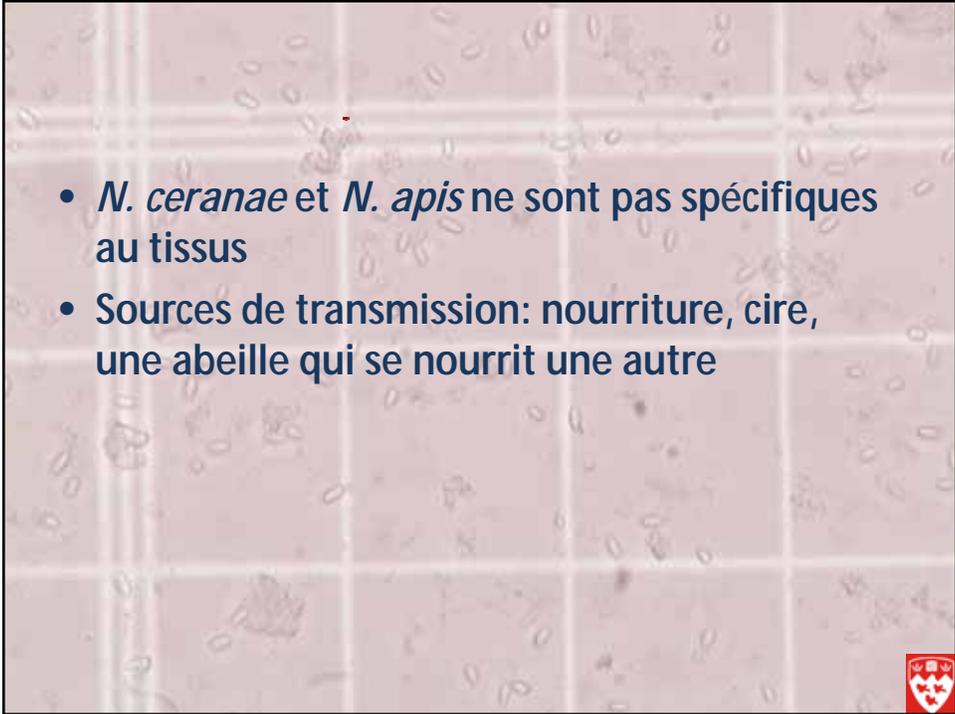
Tendances saisonnières



N. ceranae

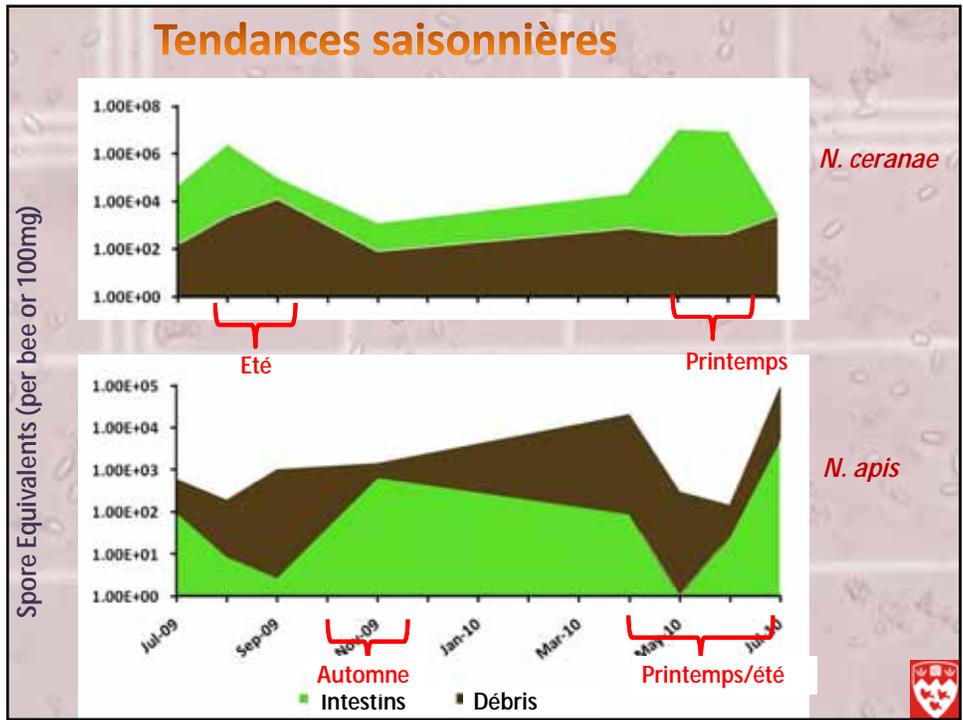
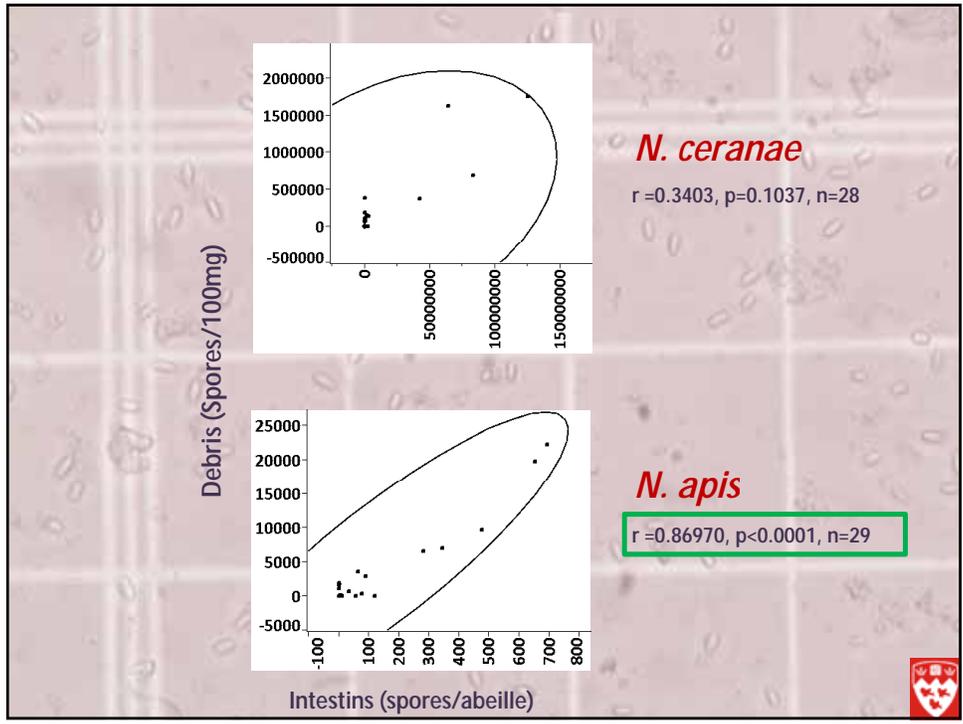
N. apis

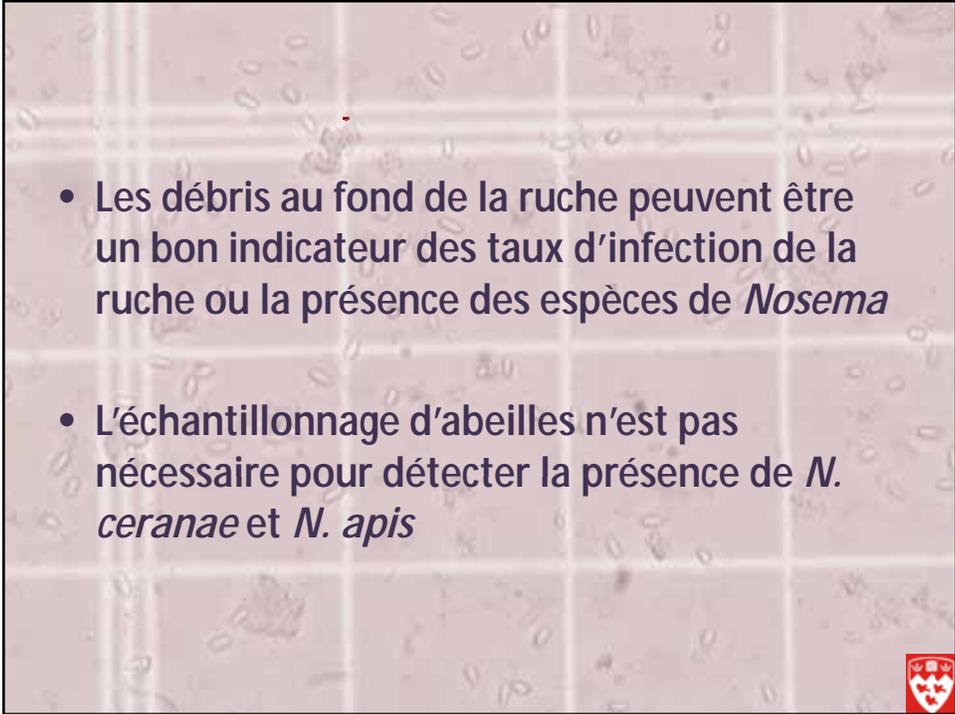


- 
- *N. ceranae* et *N. apis* ne sont pas spécifiques au tissu
 - Sources de transmission: nourriture, cire, une abeille qui se nourrit une autre
- 

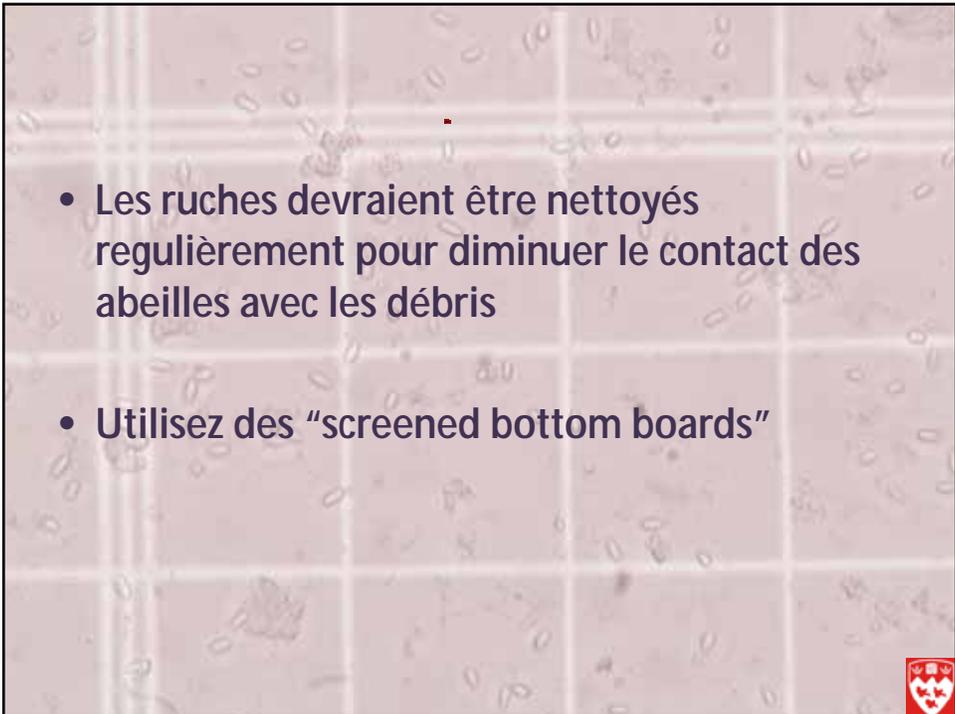


Débris



- 
- Les débris au fond de la ruche peuvent être un bon indicateur des taux d'infection de la ruche ou la présence des espèces de *Nosema*
 - L'échantillonnage d'abeilles n'est pas nécessaire pour détecter la présence de *N. ceranae* et *N. apis*



- 
- Les ruches devraient être nettoyés régulièrement pour diminuer le contact des abeilles avec les débris
 - Utilisez des "screened bottom boards"



- Dr. Suha Jabaji
- Tanya Copley
- CRSAD: Emile, Georges, Sylvain, Pierre

