

# DÉTECTION DU VIRUS DES AILES DÉFORMÉES DANS LES COLONIES D'ABEILLES LOCALES *APIS MELLIFERA* *INTERMISSA* EN ALGÉRIE

N. Adjlane, N. Haddad<sup>1</sup>, S. Doumandji<sup>2</sup>

Département de biologie, faculté des sciences, université de Boumerdès, Algérie

<sup>1</sup> National Center for Agriculture Research and Extension, Bee Research Unit, P.O. Box 639,  
Baq'a 19381, Jordan

<sup>2</sup> École nationale supérieure agronomique El Harrach, Algérie  
adjlanenoureddine@hotmail.com

(Received 7 March 2013 - Accepted 20 March 2014)

## RÉSUMÉ

*L'abeille mellifère est menacée par de nombreux agents pathogènes. Parmi ceux-ci le virus des ailes déformées (DWV) est l'un des plus prévalents et pourrait être responsable de mortalités de colonies. En Algérie, aucune étude n'a été faite pour déterminer la présence de ce virus. L'objectif de ce travail était d'évaluer l'influence du DWV sur les mortalités des colonies d'abeilles, et sa relation avec l'acarien parasite des abeilles *Varroa destructor*. L'étude a été réalisée dans un rucher situé dans la région de Blida au centre de l'Algérie. La présence du virus DWV a été révélée dans les colonies d'abeilles locales *Apis mellifera intermissa* par la technique de PCR. Au total 42 % des échantillons récoltés dans le rucher étaient infectés par ce virus.*

**Mots-clés:** abeille mellifère, DWV, *Varroa destructor*, mortalité, prévalence, infestation

## ABSTRACT

*Honey bees are threatened by many viruses. The deformed wing virus (DWV) is the most prevalent and is proposed by many authors to be involved in colony losses. In Algeria, no study was carried out to determine the presence of this virus. The objective of this study was to evaluate the influence of the DWV on bee colony mortalities, and its relationship with the parasitic mite *Varroa destructor*. The study was conducted in an apiary located in the central region of Algeria. The presence of deformed wing virus in honey bee colonies *Apis mellifera intermissa* in Algeria was detected by PCR. In total, 42% of the bee samples collected in the apiary were found positive for DWV.*

**Keywords:** honey bee, DWV, *Varroa destructor*, mortality, prevalence, infestation

## INTRODUCTION

L'abeille est un élément indispensable de l'équilibre environnemental dans le monde, notamment pour son rôle dans la pollinisation de très nombreuses espèces de plantes.

Elle présente aussi d'autres intérêts comme la production du miel, de la propolis, de la gelée royale et de la cire. Il est à souligner qu'au cours de ces dernières années, des affaiblissements du cheptel apicole ont été recensés dans de nombreux pays. Ce phénomène se traduit par une mortalité hivernale de colonies d'abeilles supérieure à la normale ainsi que des pertes de population en cours d'année. Cet affaiblissement est connu sous le nom de "Colony Collapse Disorder" (CCD) aux Etats-Unis. À cause de ce phénomène, la profession apicole estime entre 20 % et 30 % la baisse de la production mondiale du miel entre les années 1997 et 2009 (Genersch *et al.*, 2010). Plusieurs études ont été menées sur les causes de ces affaiblissements et incriminent une diversité d'agents pathogènes (Boucher & Desjardin, 2005; Ellis & Munn, 2005; Oldroyd, 2007; Burgett *et al.*, 2009; Currie *et al.*, 2010; Guzman-Novoa *et al.*, 2010; Neumann & Carreck, 2010; Copley & Jabaji, 2012). En Algérie, des phénomènes de mortalités anormales des abeilles locales, de disparitions de butineuses sont souvent signalés par les apiculteurs. Cinq maladies des abeilles figurent sur la liste des maladies animales à déclaration obligatoire fixée par décret exécutif n° 95-66 du 22 février 1995. Ce sont: la varroase, les loques américaines et européennes, la nosémosse et l'acariose des abeilles. Mis à part quelques travaux de recherches sur le *Varroa* (Achou, 2007; Adjlane, 2010; Belaid & Doumandji, 2010; Adjlane *et al.*, 2011) ou d'autres sur la nosémosse et la loque américaine (Adjlane *et al.*, 2012a; Adjlane *et al.*, 2012b), les études sur les maladies virales dans les ruchers en Algérie sont aujourd'hui inexistantes. Une seule étude a été réalisée par Loucif – Ayad et Haddad sur la détection de ce virus en Algérie (Loucif-Ayad *et al.*, 2013).

Les virus sont des parasites intracellulaires obligatoires. Ils utilisent la machinerie cellulaire de l'hôte pour se répliquer et peuvent de ce fait causer des dommages. Ils sont composés uniquement d'acides nucléiques entourés par une capsidie protéique. Chez l'abeille, environ 18 virus sont connus jusqu'à présent. À l'exception du virus filamenteux (FV, *Filamentous virus*) qui est un virus à génome ADN, tous les virus de l'abeille domestique identifiés à ce jour sont des virus à ARN simple brin positif et à capsidie non enveloppée. La présence de virus et leurs relations avec la mortalité des abeilles sont un sujet de préoccupation qui est à l'étude partout dans le monde (Benjeddou *et al.*, 2001; Grabensteiner *et al.*, 2000; Bakonyi *et al.*, 2002; Tentcheva *et al.*, 2004; Chen *et al.*, 2005; Yue & Genersch, 2005; Chantawannakul *et al.*, 2006; Chen & Siede, 2007; Teixeira *et al.*, 2008; Genersch & Aubert, 2010). Le virus des ailes déformées (DWV) est le virus le plus souvent cité dans les recherches effectuées (Tentcheva *et al.*, 2004; Antunez *et al.*, 2004; Berenyi *et al.*, 2006; Cox-Foster *et al.*, 2007; Gisder *et al.*, 2010; Martin *et al.*, 2010; Zioni *et al.*, 2011). Ce virus a été initialement isolé à partir des abeilles adultes au Japon sur des colonies infestées par *Varroa destructor* (Ball, 1985). C'est aujourd'hui le virus le plus prévalent dans les ruchers et sa présence est souvent mise en cause dans les phénomènes de mortalités observées (Kajobe *et al.*, 2010; Mockel *et al.*, 2011; Hongxia *et al.*, 2012). Le nom donné au virus provient du symptôme caractéristique des ailes déformées ou peu développées chez les abeilles nouvellement écloses à partir de colonies infectées (Ball, 1993). Le virus des ailes déformées infecte les œufs, larves, nymphes et abeilles adultes (Allen & Ball, 1996). Ce même virus peut être détecté dans toutes les parties du corps de l'abeille (Chen *et al.*, 2004; Yue & Genersch, 2005). Les nourrices infectées transmettent le virus aux jeunes larves par le biais de la gelée larvaire (Ball, 1988). Les abeilles adultes s'infectent par les échanges trophallactiques (Bowen-Walker *et al.*, 1999; Nordstrom *et al.*, 1999). La question se pose sur la présence de ce virus en Algérie, sa relation avec les mortalités enregistrées et son action en présence de l'acarien *V. destructor* dans les colonies. Pour répondre à ces interrogations, nous avons tenté

de diagnostiquer ce virus pour la première fois en Algérie. Les échantillons ont été collectés dans un rucher situé au centre de l'Algérie.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

### Lieu d'étude

L'échantillonnage a été réalisé dans un rucher situé dans la région de Bougara près de Blida à la fin de la saison hivernale (janvier). La région de Blida est considérée comme l'une des principales régions mellifères de la plaine de la Mitidja.

### Matériel biologique

Le rucher d'étude était constitué au départ de 45 colonies. Il a subi de lourdes pertes durant l'hiver 2011-2012. De ce fait, à la fin de l'hiver, il restait uniquement 19 colonies. Le matériel biologique utilisé dans la présente étude est représenté par des abeilles ouvrières adultes d'*Apis mellifera intermissa* d'âges indéterminés. Les colonies ont été traitées contre la varroase dès juin 2011 avec de l'amitrazé appliquée en gouttes, en deux applications séparées par un intervalle de temps d'une semaine. Le mélange utilisé pour le traitement est de 100 g de Taktic avec 1 litre d'huile végétale.

### Prélèvement des échantillons

Les échantillons d'abeilles adultes ont été prélevés au hasard à l'intérieur des colonies. Ils ont été transportés dans des sachets en matière plastique sur de la glace et stockés à -25 ° C jusqu'à leur utilisation.

### Méthode expérimentale d'estimation du taux d'infestation du couvain par *Varroa*

Un échantillon de 100 cellules du couvain naissant ont été ouvertes, ceci afin de déterminer le taux d'infestation du couvain. C'est une méthode qui exige une bonne connaissance du *Varroa* et de ses formes immatures.

Le taux d'infestation du couvain (T.i.c.) est déterminé par l'équation suivante :

$$\text{T.i.c. (\%)} = \frac{\text{Nombre de cellules infestées par } \textit{Varroa}}{\text{Nombre de cellules ouvertes}} \times 100$$

### Méthode expérimentale d'estimation du taux d'infestation des abeilles par *Varroa*

Deux cadres de couvain prélevés dans chaque colonie ont été secoués au dessus d'un film en matière plastique puis les abeilles ont été placées dans un pot en verre. Après ajout d'alcool le contenu du pot a été agité vigoureusement pendant une minute. Ensuite, le contenu du pot a été versé sur un double tamis. Le premier tamis laisse passer les varroas seulement sans les abeilles tandis que le second empêche les varroas de passer. Les abeilles

ont été abondamment rincées puis les varroas présents dans le second tamis ont été comptabilisés selon la méthode de l'OIE (OIE, 2005).

$$\text{T.i.a. (\%)} = \frac{\text{Nombre de } Varroa \text{ phorétiques trouvés}}{\text{Nombre d'abeilles prélevées}} \times 100$$

### Méthodologie de détection du virus DWV

Pour l'analyse des virus, 10 à 12 abeilles ont été prises au hasard au sein de chaque échantillon et placées dans des sacs stériles en matière plastique avec 10 ml d'un tampon phosphate (PBS). Les abeilles ont été broyées durant 2 minutes à grande vitesse dans un mélangeur. L'homogénat a été centrifugé à 1500g par minute pendant 10 minutes. Le surnageant a été récupéré et centrifugé à nouveau à 12.000g durant 15 minutes. Une quantité de 140 µl du surnageant a été prélevée en vue de l'extraction de l'ARN viral. L'ARN a été extrait en utilisant le kit NucleoSpin® RNA II (MACHEREY-NAGEL) selon les indications du fabricant. La transcription inverse de l'ARN et l'amplification de l'ADN ont été effectuées en une seule étape par la méthode RT-PCR avec le kit RT-PCR kit (Qiagen) conformément aux recommandations du fabricant. Les amorces utilisées pour amplifier le virus recherché sont présentées dans le Tableau 1. Le programme de RT-PCR comprenait une étape de transcription inverse à 50°C pendant 30 minutes, suivie par une phase d'activation initiale de la polymérase à 95°C pendant 15 minutes puis par 40 cycles à 94°C pendant 1 minute, à 55°C durant 1 min, et à 72°C pendant 1 minute. Une étape d'extension à 72°C pendant 10 minutes a complété le dernier cycle. Les produits ont été visualisés par électrophorèse dans un gel d'agarose à 0,6 % (poids / volume) en présence de bromure d'éthidium (Gauthier *et al.*, 2007).

**TABLEAU 1**

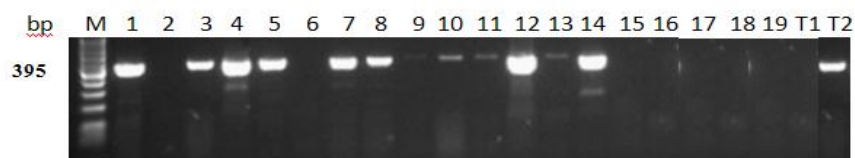
#### Primers Utilisés dans la Détection du DWV

Primers	Séquences	Longueur (pb)	Référence
DWV 1	TTTGCAAGATGCTGTATGTG	395	Tentcheva <i>et al.</i> (2004)
DWV2	GTCGTGCAGCTCGATAGGAT		

DWV 1 et 2: les amorces (primers) utilisées au cours de la présente étude; chaque amorce est une courte séquence d'ADN simple brin de 20 bases environ  
pb: paires de bases

### RÉSULTATS ET DISCUSSION

Les taux d'infection des colonies étudiées par le virus de DWV sont portés dans la Figure 1 et le Tableau 2. Sur l'ensemble des 19 ruches, 8 sont caractérisées par la présence du virus DWV, soit 42,1 % des échantillons positifs. Les virus des abeilles provoquent généralement des infections qui ne produisent pas de symptômes apparents.



**Figure 1. Recherche de virus DWV dans les échantillons d'abeilles par électrophorèse sur gel.**

bp: paires de bases, M: marqueur moléculaire, T1: témoin négatif, T2: témoin positif, 1,2.....19: Échantillons d'abeilles

**TABLEAU 2**

**Détection du Virus DWV dans les Échantillons d'Abeilles Adultes, et Évaluation du Taux d'Infestation des Abeilles Adultes et du Couvain**

N° des Colonies	Présence de DWV	Taux d'infestation par le <i>Varroa</i> Phorétique	Taux d'infestation par le <i>Varroa</i> dans le couvain
1	+	3,58	7
2	-	4,65	12
3	+	2,80	15
4	+	3,67	9
5	+	5,35	11
6	-	3,35	9
7	+	4,66	12
8	+	3,25	10
9	-	4,90	13
10	+	7,55	7
11	-	5,60	3
12	+	6,45	12
13	-	7,85	14
14	+	8,1	16
15	-	3,26	13
16	-	2,85	13
17	-	5,10	9
18	-	2,05	8
19	-	6,85	7

Haddad *et al.* (2008) indiquent à travers une étude que le DWV est le virus le plus commun responsable des pertes de colonies en Jordanie. Le même constat est fait dans d'autres pays par plusieurs études (Topley *et al.*, 2005; Antúnez *et al.*, 2004; Berenyi *et al.*, 2006). En Suisse, le DWV semble être le virus le plus prévalent. Il est présent dans tous les ruchers (13/13 soit 100%) selon Dainat *et al.* (2008) et 65% des colonies analysées en 2004

d'après Berthoud *et al.* (2005). Une étude réalisée en 2006 par Grabensteiner *et al.* (2007) fait remarquer que parmi les ruchers ayant subi des pertes importantes, le virus ABPV (Acute Bee Paralysis Virus, responsable de la paralysie aiguë des abeilles) est détecté dans 60 % des colonies fortement atteintes, alors que le DWV est présent dans presque toutes les colonies. Par contre sur 60 échantillons provenant de colonies ayant bien hiverné, aucune ne comporte de virus ABPV et 13 présentent une légère infestation par le DWV. Le même constat est signalé en France par le rapport de Tentcheva *et al.* (2004) qui ont montré que 97 des ruchers étudiés étaient infectés par le DWV. Toutes ces études sont confirmées récemment par Martin *et al.* (2012). Ces auteurs signalent que l'association entre le virus et *Varroa destructor* est responsable de la mort de milliers de colonies au niveau de la région de Hawaï. *Varroa destructor* est un acarien parasite qui se nourrit sur les abeilles autant à l'état de nymphes qu'à celui d'adultes. Il peut servir de vecteur pour transmettre le virus (Bailey & Ball, 1991; Bowen-Walker *et al.*, 1999). Le virus peut être transmis horizontalement lorsque l'acarien se nourrit sur une abeille non infectée (Bowen-Walker *et al.*, 1999). Le second mode de transmission virale est vertical. En effet, quand une reine est contaminée par le DWV, celui-ci est localisé dans ses ovaires et sa spermathèque. Dans ce cas la reine peut pondre des œufs infestés. Le virus peut également se transmettre verticalement depuis la reine infectée vers les larves par contact direct (Chen *et al.*, 2006; De Miranda & Fries, 2008).

L'analyse du taux d'infestation des colonies par le *Varroa* son association avec le virus DWV. En ce qui concerne l'infestation des colonies par la varroase, toutes les colonies sont infestées par *Varroa* à des taux différents. Le taux d'infestation par le *Varroa* phorétique varie entre 2,5 et 7,9 % avec une moyenne pour l'ensemble des colonies de 4,5 %. Lors de la phase phorétique, pour se nourrir la femelle adulte de *V. destructor* réalise régulièrement des ponctions d'hémolymphe sur l'hôte qu'elle parasite. Lors du premier cycle de reproduction, la phase phorétique est obligatoire pour permettre la maturation de l'appareil reproducteur de la jeune femelle *Varroa*. Akimov *et al.* (1988) indiquent que suite à la période phorétique, la première ponte chez *Varroa* débute 5 à 14 jours après la sortie de la jeune femelle de l'alvéole du couvain où elle est née. À partir du second cycle de reproduction, la phase de phorésie ne semble plus obligatoire (De Ruijter, 1987).

À propos de l'infestation des acariens dans le couvain, le taux varie entre 3 et 16 % avec une moyenne d'infestation de 10,9 %. Ritter *et al.* (1984) soulignent que, dans les colonies fortement infestées par *Varroa*, les ouvrières abandonnent le couvain âgé et fortement infesté et par conséquent le couvain périt en raison d'un refroidissement provoqué par une réduction de la force de la colonie. Selon deux études indépendantes, la production du couvain et la population d'abeilles ont été comparées entre colonies infestées ou non par *Varroa* (Downey & Winston, 2001; Maurilhas, 2002). Les résultats obtenus mentionnent que les colonies fortement infestées par *Varroa* avaient moins de couvains et d'abeilles, ce qui correspond à un affaiblissement général. Ces taux élevés d'infestation enregistrés au cours de la présente étude peuvent être expliqués par le mauvais choix du traitement utilisé par l'apiculteur. L'amitraz en goutte est un produit non homologué, il est caractérisé par son efficacité très faible (Adjlane, 2009).

La comparaison des taux d'infestation par les acariens sur les abeilles entre les colonies avec ou sans DWV montre que les ruches contaminées par le virus présentent un taux plus élevé soit 5,04 % contre 4,46 %. L'analyse de la variance entre les deux groupes ne montre aucune différence significative ( $P = 0,21$ ; Tab. 3). Pour ce qui est du taux d'infestation

du couvain, le groupe des colonies infestées par le DWV enregistre le pourcentage le plus élevé soit 11 % contre 10,1 % pour les colonies non infestées. L'ANOVA ne montre aucune différence significative entre les deux groupes ( $p = 0,56$ ; Tab. 4).

Selon Chen *et al.* (2005) l'observation d'une corrélation positive entre le niveau d'infestation par *Varroa destructor* et le niveau de concentration virale chez les abeilles infestées suggérerait que *Varroa destructor* joue, outre son rôle de vecteur, celui d'activateur de la réplication virale chez l'abeille. Le parasitisme engendrerait une baisse de l'immunité de l'abeille, ce qui favoriserait la réplication virale.

Dans les colonies d'abeilles, l'association entre le DWV avec l'infestation des acariens est largement signalée (Bailey *et al.*, 1981; Ball & Allen, 1988; Chen *et al.*, 2004). La mortalité causée par le DWV est souvent rapportée comme étant associée à des taux d'infestation élevés par *Varroa destructor* (Martin *et al.*, 1998; Nordstrom, 2000; Martin, 2001; Santillan – Galicia *et al.*, 2008; Martin *et al.*, 2010). En présence de *Varroa*, DWV provoque des symptômes distinctifs, tels que des malformations des ailes, le gonflement de l'abdomen, la réduction de la taille de l'abeille émergente, la paralysie, et éventuellement la mortalité des abeilles (Bailey & Ball, 1991; Bowen –Walker *et al.*, 1999). Des particules virales sont notamment présentes dans les glandes salivaires de l'acarien (Cicero & Sammaturo, 2010). Ce phénomène est mis en évidence pour le DWV (Bowen-Walker *et al.*, 1999).

**TABLEAU 3**

**Recherche de Différence Significative par une ANOVA entre les Taux d'Infestation par des *Varroa* Phorétiques sur Deux Groupes d'Abeilles Infestées et Non Infestées**

Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F	Probabilité	Valeur critique pour F
Entre Groupes	0,75621146	1	0,75621146	0,21428969	0,64929641	4,45132169
A l'intérieur des Groupes	59,9916622	17	3,52892131			
Total	60,7478737	18				

Bowen-Walker *et al.* (1999) concluent à partir de données de terrain que l'acarien est un vecteur très efficace de ce virus. Une autre étude dans la nature démontre que les infections par le DWV dans les abeilles nouvellement émergentes sont fortement corrélées au parasitisme nymphal (Nordstrom, 2003). Les colonies contaminées par le DWV ne présentent en général aucun dommage apparent pendant une longue période. Mais le plus souvent, en relation avec d'autres infections, les colonies se développent très lentement ou périssent. C'est la combinaison avec *Varroa destructor* qui est la plus dangereuse pour les abeilles.

**TABLEAU 4**  
**Recherche de Différence Significative par une ANOVA entre les Taux d'Infestation par des *Varroa* du Couvain sur Deux Groupes d'Abeilles Infestées et Non Infestées**

Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F	Probabilité	Valeur critique pour F
Entre Groupes	3,83684211	1	3,83684211	0,34167792	0,56653965	4,45132169
A l'intérieur des Groupes	190,9	17	11,2294118			
Total	194,736842	18				

Dainat *et al.* (2008) rapportent que le DWV, qui effectue un changement d'hôte, c'est-à-dire qui passe du *Varroa* à l'abeille, devient plus virulent. Highfield *et al.* (2009), par contre rapportent qu'il n'y a aucune corrélation systématique entre le taux d'infestation parasitaire par le *Varroa* et la présence du virus DWV. Ces mêmes auteurs suggèrent qu'il ya un autre facteur non identifié qui pourrait agir en association avec le DWV pour réactiver ce virus en période hivernale ce qui entraînerait des mortalités de colonies. Le déclenchement d'une maladie dépend du nombre d'agents contagieux et de l'intensité avec laquelle ils se manifestent (Fluri *et al.*, 1998). Selon ces derniers auteurs, l'état pathologique d'une colonie résulte d'un déséquilibre entre d'une part la vitalité et la résistance aux infections de la colonie, et d'autre part, l'activité et la pression de l'infection exercée par l'agent pathogène. Les dommages causés par *Varroa* à l'abeille sont directement liés au niveau d'infestation du *Varroa* dans les colonies (Moretto & Mello, 2000). Une forte infestation provoque un affaiblissement de la colonie, ce qui constitue une porte d'entrée pour d'autres agents pathogènes.

#### CONCLUSION

La PCR (Polymerase Chain Reaction) utilisée au cours de la présente étude a mis en évidence la présence du virus DWV (Deformed Wing Virus) dans les colonies étudiées. Le rucher étudié a subi des pertes avoisinant 60 %, mortalités pouvant être expliquées par l'influence de ce virus. En conséquence une enquête épidémiologique sur le DWV et sur d'autres virus en relation avec le *Varroa* couvrant la majeure partie du pays apparaît nécessaire pour montrer la dynamique spatiale ou temporelle de la distribution du virus et rechercher si les mortalités observées en Algérie sont en lien avec la présence de *Varroa destructor* et la prévalence du DWV.

#### REFERENCES

- Achou, M. 2007. *Caractérisation morphométrique, biochimique et moléculaire des populations d'abeilles domestiques de l'Est algérien - Effets physiopathologiques de son parasite majeur Varroa destructor*. Thèse doctorat sci. natu., univ. Annaba, 414 p.
- Adjlane, N. 2009. Situation épidémiologique des colonies d'abeilles dans la région centre de l'Algérie : cas de la varroase. *1<sup>ères</sup> Journées Maghrébines Epidém. Anim.*, 9 -10 mai 2009, Univ. Saad Dahleb, Blida, p. 33.



- Adjlane, N. 2010. Association of oxalic and lactic acid for *Varroa* control in Algeria. *First World Conference on Organic Beekeeping*, 27-29 août 2010, Sunny Beach, p. 52.
- Adjlane, N., Chahbar, N. et Maida, A. 2011. Évaluation des effets secondaires de l'acide oxalique sur l'abeille locale *Apis mellifera intermissa* : aspect biochimique. *XXI<sup>èmes</sup> Journées Nationales Biologie "de la molécule à l'écosystème"*, S.S.N.T., 17-20 décembre 2011, Hammamet, p. 9.
- Adjlane, N., Doumandji, S., Haddad, N. 2012a. La prévalence de la nosémose dans les colonies d'abeilles *Apis mellifera intermissa* dans la région médioséptentrionale de l'Algérie. *Lebanese Science Journal*, 13(1): 65-73.
- Adjlane, N., Doumandji, S., Haddad, N. 2012b. Situation de l'apiculture en Algérie: facteurs menaçant la survie des colonies d'abeilles locales *Apis mellifera intermissa*. *Cah. Agric.*, 21: 235-41. doi : 10.1684/agr.2012.0566.
- Akimov, I.A., Starovir, I.S., Yastrebtsov, A.V. and Gorgol, V.T. 1988. *The Varroa mite – the causative agent of varroaosis of bees. A morphological outline*. Nukova Dumka, Kiev, 118 p.
- Allen, M.F. and Ball, B.V. 1996. The incidence and world distribution of honey bee viruses. *Bee World*, 77: 141 - 162.
- Antúnez, K., Dassandro, B., Piccini, C., Corbella, E. and Zunino, P. 2004. *Paenibacillus* larvae spores in honey samples from Uruguay: a nationwide survey. *J. Invertebr. Pathol.*, 86: 56 – 58.
- Bailey, L. and Ball, B.V. 1991. *Honey Bee Pathology*. Academic Press, London, New York, 125 p.
- Bailey, L., Ball, B.V. and Perry, J.N. 1981. The prevalence of viruses of honey bees in Britain. *Ann. Appl. Biol.*, 97: 109 - 118.
- Bakonyi, T., Farkas, R., Szendrői, A., Dobos-Kovács, M. and Rusvai, M. 2002. Detection of acute bee paralysis virus by RT-PCR in honey bee and *Varroa destructor* field samples: rapid screening of representative Hungarian apiaries. *Apidologie*, 33: 63 – 74.
- Ball, B.V. 1985. Acute paralysis virus isolates from honey bee colonies infested with *Varroa jacobsoni*. *J. Apicult. Res.*, 24: 115 – 119.
- Ball, B.V. 1988. The incidence of acute paralysis virus in adult honey bee and mite populations. *In* : Present status of varroaosis in Europe and progress in the varroa mite control, R. Cavalloro, ed., pp. 95-98, E.E.C., Luxembourg.
- Ball, B.V. 1993. The damaging effects of *Varroa jacobsoni*, p. 9 – 16. *In*: Matheson, A., living *Varroa*, Ed. Internati. Bee Res. Associate, Cardiff, 325 p.
- Ball, B.V. and Allen, M.F. 1988. The prevalence of pathogens in honey bee (*Apis mellifera*) colonies infested with the parasitic mite *Varroa jacobsoni*. *Ann. Appl. Biol.*, 113: 237 – 244.
- Belaïd, M. et Doumandji, S. 2010. Effet du *Varroa destructor* sur la morphométrie alaire et sur les composants du système immunitaire de l'abeille ouvrière *Apis mellifera intermissa*. *Lebanese Science Journal*, 11: 45 – 53.
- Benjeddou, M., Leat, N., Allosopp, M. and Davison, S. 2001. Detection of acute paralysis virus and black queen cell virus from honeybees by reverse transcriptase PCR. *Appl. Environ. Microbiol.*, 67: 2384 - 2387.
- Berenyi, O., Bakonyi, T., Derakhshifar, I., Koglbberger, H. and Nowotny, N. 2006. Occurrence of six honeybee viruses in diseased Austrian apiaries. *Appl. Environ. Microbiol.*, 72: 2414 - 2420.

- Berthoud, H., Imdorf, A., Charrière, J.-D., Haueter, M. et Fluri, P. 2005. Les virus des abeilles. *Rev. Suisse Apicult.*, 126: 12 – 16.
- Boucher, C. et Desjardins, F. 2005. Santé de l'abeille: bilan 2004 et prévision 2005. *Bull. Zoosanitaire*, 44 : 1 - 4.
- Bowen-Walker, P.L., Martin, S.J. and Gunn, A. 1999. The transmission of deformed wing virus between honeybees (*Apis mellifera* L.) by the ectoparasitic mite *Varroa jacobsoni* Oud. *J. Invertebr. Pathol.*, 73: 101 – 106.
- Burgett, M., Randal, R. and Walter, T. 2009. Honey bee colony mortality in the Pacific Northwest (USA). *Am. Bee J.*, 149: 573 - 575.
- Chantawannakul, P., Ward, L., Booham, N. and Brown, M. 2006. A scientific note on the detection of honeybee viruses using real-time PCR (TaqMan) in *Varroa* mites collected from a Tai honeybee (*Apis mellifera*) apiary. *J. Invertebr. Pathol.*, 91: 69 – 73.
- Chen, Y.P., Pettis, J.-S., Evans, J.D., Kramer, M. and Feldlaufer, M.F. 2004. Transmission of Kashmir bee virus by the ectoparasitic mite *V. destructor*. *Apidologie*, 35: 441- 448.
- Chen, Y.P., Higgins, J.A. and Feldlaufer, M.F. 2005. Quantitative real-time reverse transcription-PCR analysis of deformed wing virus infection in the honeybee (*Apis mellifera* L.). *Appl. Environ. Microbiol.*, 71: 436 - 441.
- Chen, Y.P., Evans, J.D. and Feldlaufer, M.F. 2006. Horizontal and vertical transmission of viruses in the honeybee (*Apis mellifera*). *J. Invert. Pathol.*, 92: 152 – 159.
- Chen, Y.P. and Siede, E.R. 2007. Honey bee viruses. *Adv. Virus Res.*, 70: 33 - 80.
- Cicero, J.-M., Sammataro, D. 2010. The salivary glands of adult female *Varroa destructor* (Acari: Varroidae), an ectoparasite of the honey bee, *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). *Int. J. Acarol.*, 36: 377 - 386.
- Copley, T.-R. and Jabaji S.-H. 2012. Honeybee glands as possible infection reservoirs of *Nosema ceranae* and *Nosema apis* in naturally infected forager bees. *J. Appl. Microbiol.*, 112 (1): 1 - 7.
- Cox-Foster, D.L., Conlan, S., Holmes, E.C., Palacios, G., Evans, J.D. and Mortan, N.A. 2007. A metagenomic survey of microbes in honey bee colony collapse disorder. *Science*, 318: 283 - 287.
- Currie, R.W., Pernal, S.F. and Gusman-Novoa, E. 2010. Honey bee colony losses in Canada. *J. Apic. Res.*, 49 (1): 104 - 106.
- Dainat, B., Imdorf, A., Charrière, J.-D. et Neumann, P. 2008. Virus des abeilles : revue des connaissances actuelles. *Rev. Suisse Apicult.*, 1(2) : 8 – 13.
- De Miranda, J.R. and Fries, I., 2008. Venereal and vertical transmission of deformed wing virus in honeybees (*Apis mellifera* L.). *J. Invertebr. Pathol.*, 98: 184 – 189.
- De Ruijter, A. 1987. Reproduction of *Varroa jacobsoni* during successive brood cycles of the honey bee. *Apidologie*, 18: 321 – 326.
- Downey, D.L. and Winston, M.L. 2001. Honey bee colony mortality and productivity with single and dual infestations of parasitic mite species. *Apidologie*, 32: 567 -575.
- Ellis, J.D. and Munn, P.A. 2005. The worldwide health status of honey bees. *Bee World*, 86: 88 - 101.
- Fluri, P., Hermann, M., Imdorf, A., Buhmann, G. et Charrière, J.-D. 1998. *Santé et maladies des abeilles, connaissances de base*. Rapport du centre suisse de recherche apicole, Liebefeld, Berne, 29 p.
- Genersch, E., Evans, J.D. and Fries, I. 2010. Honey bee disease overview. *J. Invertebr. Pathol.*, 103: 2 – 4.

- Genersch, E. and Aubert, M. 2010. Emerging and re-emerging viruses of the honey bee (*Apis mellifera* L.). *Vet. Res.*, 23: 41 - 54.
- Gisder, S., Mockel, N., Linde, A. and Genersch, E. 2010. A cell culture model for *Nosema ceranae* and *Nosema apis* allows new insights into the life cycle of these important honey bee-pathogenic microsporidia. *Environmental Microbiology*, 46: 1 – 10.
- Grabensteiner, E., Ritter, W., Carter, M.J., Davison, S., Pechhacker, H., Kolodziejek, J., Boecking, O., Derakhshifar, I., Moosbeckhofer, R., Liecek, E. and Nowotny, N. 2000. Sacbrood virus of the honeybee (*Apis mellifera*): Rapid identification and phylogenetic analysis using reverse transcription PCR. *Clin. Diag. Lab. Immun.*, 8: 93 - 104.
- Grabensteiner, E., Bakonyi, T., Ritter, W., Pechhacker, H. and Nowotny, N. 2007. Development of a multiplex RT-PCR for the simultaneous detection of three viruses of the honeybee (*Apis mellifera* L.): acute bee paralysis virus, black queen cell virus and Sacbrood virus. *J. Invertebr. Pathol.*, 94 (3): 222 – 225.
- Gauthier, L., Tentcheva, D., Toutnaire, M., Dainat, B., Cousserans, F., Colin, M.E. and Bergoin, M. 2007. Viral load estimation in asymptomatic honey bee colonies using the quantitative RT-PCR technique. *Apidologie*, 38: 426 - 435.
- Guzman-Novoa, E., Eccles, L., Calvete, Y., McGowen, J., Kelly, P.G. and Corra –Benitez, A. 2010. *Varroa destructor* is the main culprit for the death and reduced populations of overwintered honey bee (*Apis mellifera*) colonies in Ontario, Canada. *Apidologie*, 41: 443 - 450.
- Haddad, N., Brake, M., Megrade, H. and De Miranda, J. 2008. The First Detection of Honeybee Viral Diseases in Jordan using the PCR. *Jordan. J. Agr. Sci.*, 4: 57 – 61.
- Highfield, A.C., El Nagar, A., Mackinder, L.C.M., Noel, L., Hall, M.J., Martin, S.J. and Schroeder, D.C. 2009. Deformed wing virus implicated in overwintering honeybee colony losses. *Appl. Environ. Microbiol.*, 75: 7212 – 7220.
- Hongxia, A., Xun, Y. and Richou, H. 2012. Occurrence and prevalence of seven bee viruses in *Apis mellifera* and *Apis cerana* apiaries in China. *J. Invertebr. Pathol.*, 109: 160 – 164.
- Kajobe, R., Marris, G., Budge, G., Laurenson, L., Cordoni, G., Jones, B., Wilikins, S., Cuthebertson, A.G. and Brown, M.A. 2010. First molecular detection of a viral pathogen in Ugandan honey bees. *J. Invertebr. Pathol.*, 104 (2): 153 - 156.
- Loucif-Ayad, W., Chefrou, A., Algharibeh, M., Haddad, N. 2013. First detection of deformed 610 wing virus of honeybees in Algeria. *Phytoparasitica*, 41: 445–447.
- Martin, S.J. 2001. The role of *Varroa* and viral pathogens in the collapse of honeybee colonies: a modeling approach. *J. Appl. Ecol.*, 38: 1082 - 1093.
- Martin, S.J., Hogarth, A., Van Brenda, J. and Perette, J. 1998. A scientific note on *Varroa jacobsoni* Oudemans and the collapse of *Apis mellifera* L. colonies in the United Kingdom. *Apidologie*, 29: 369 – 370.
- Martin, S.J., Ball, B.V. and Carreck, N.L. 2010. Prevalence and persistence of deformed wing virus (DWV) in untreated or acaricide-treated *Varroa destructor* infested honey bees (*Apis mellifera*) colonies. *J. Apic. Res.*, 49: 72-79.
- Martin, S.J., Highfield, A.C., Bretell, L., Villalobos, E.M., Budge, G.E., Powell, M., Nikaido, S. and Schroeder, D.C. 2012. Global honey bee viral landscape altered by a parasitic mite. *Science*, 336: 1304 - 1306.

- Maurilhas, A.M. 2002. *Varroa destructor* infestation impact of *Apis mellifera carnica* capped worker brood production bee population and honey storage in a Mediterranean climate. *Apidologie*, 33: 271 – 281.
- Mockel, N., Gisder, S. and Genersch, E. 2011. Horizontal transmission of deformed wing virus: pathological consequences in adult bees (*Apis mellifera*) depend on the transmission route. *J. Gen. Virol.*, 2: 370 – 377.
- Moretto, G. and Mello, L.J. 2000. Resistance of africanized bees (*Apis mellifera* L.) as a cause of mortality of the mite *Varroa jacobsoni* Oud. in Brazil. *Am. Bee J.*, 140: 895 – 897.
- Neumann, P. and Carreck, N.L. 2010. Honey bee colony losses. *J. Apic. Res.*, 49: 1 - 6.
- Nordstrom, S. 2000. *Virus infections and Varroa mite infestations in honey bee colonies*. PhD thesis, Swedish Univ. Agricult. Sci., Uppsala, 187 p.
- Nordstrom, S. 2003. Distribution of deformed wing virus within honey bee (*Apis mellifera*) brood cells infested with the ectoparasitic mite *Varroa destructor*. *Exp. Appl. Acarol.*, 29: 293 - 302.
- Nordstrom, S. Fries, I., Aarhus, A., Hansen, H. and Korpela, S. 1999. Virus infections in Nordic honey bee colonies with no, low or severe *Varroa jacobsoni* infections. *Apidologie*, 30: 475 - 484.
- O.I.E. 2005. *Manuel des tests de diagnostic et des vaccins pour les animaux terrestres*. Éd. Organisation ond. santé anim., Paris, 1125 p.
- Oldroyd, B.P. 2007. What's killing American honey bees?. *PLoS. Biol.*, 5(6): 168 - 176.
- Ritter, W., Leclercq, E. et Koch, W. 1984. Observation des populations d'abeilles et de *Varroa* dans les colonies à différents niveaux d'infestation. *Apidologie*, 15: 389 – 400.
- Sanpa, S. and Chantawannakul, P. 2009. Survey of six bee viruses using RT-PCR in Northern Thailand. *J. Invertebr. Pathol.*, 100: 116 - 119.
- Santillan-Galicia, M.T., Carzanga, R., Ball, B.V. and Alderson, P.G. 2008. Immunolocalization of deformed wing virus particles within the mite *Varroa destructor*. *J. Gen. Virol.*, 89: 1685 - 1689.
- Teixeira, E.,W., Chen, Y.P., Message, D., Pettis, J.S. and Evans, J.D. 2008. Virus infections in Brazilian honey bees. *J. Invertebr. Pathol.*, 99: 117 - 119.
- Tentcheva, D., Gauthier, L., Jouve, S., Canabady-Rochelle, L., Dainat, B., Cisserans, F., Colin, M.E., Ball, B.V. and Bergoin, M. 2004. Polymerase chain reaction detection of deformed wing virus (DWV) in *Apis mellifera* and *Varroa destructor*. *Apidologie*, 35: 431 – 440.
- Topley, E., Davison, S., Leat, N. and Benjeddou, M. 2005. Detection of three honeybee viruses simultaneously by a single Multiplex Reverse Transcriptase PCR. *African J. Biotechnol.*, 4(7): 763 – 767.
- Yue, C. and Genersch, E. 2005. RT - PCR analysis of deformed wing virus in honeybees (*Apis mellifera*) and mites (*Varroa destructor*). *J. Gen. Virol.*, 86: 3419 - 3424.
- Zioni, N., Soroker, V. and Chejanosky, N. 2011. Replication of *Varroa destructor* virus 1 (VDV-1) and a *Varroa destructor* virus 1–deformed wing virus recombinant (VDV-1–DWV) in the head of the honey bee. *Virology*, 417: 106 – 112.