

EFFET DU *VARROA DESTRUCTOR* SUR LA MORPHOMETRIE ALAIRE ET SUR LES COMPOSANTS DU SYSTEME IMMUNITAIRE DE L'ABEILLE OUVRIERE *APIS MELLIFERA INTERMISSA*

Messaouda Belaid et Salaheddine Doumandji¹

Département de Biologie, Faculté des Sciences, Université M'Hamed Bougara, Boumerdes, Algérie

¹Département de Zoologie Agricole et Forestière, Ecole Nationale Supérieure Agronomique El Harrach, Alger, Algérie
belaidfo@yahoo.fr

(Received 21 November 2009 - Accepted 11 March 2010)

RESUME

Le Varroa destructor constitue réellement l'un des ennemis majeurs des abeilles. Il a été détecté en Algérie en 1981, dans la coopérative apicole d'Oum Theboul El Kala (est de l'Algérie). Actuellement, ce parasite s'est propagé dans tous le pays. Afin d'étudier l'impact de Varroa destructor sur la morphométrie alaire et sur les composants du système immunitaire de l'abeille, des échantillons d'abeilles ouvrières nourrices, saines et parasitées ont été collectés des ruchers de la coopérative apicole de Oued Aissi (Tizi-Ouzou), située au nord de l'Algérie. Ce parasite a affecté d'une façon significative la longueur et la largeur de l'aile antérieure, les angles 31, 33 et 34. Aucun effet significatif ($P > 0,05$) n'a été détecté pour les angles 32, 35 et 36. L'effet immunopathogène de Varroa destructor sur les abeilles nourrices se traduit par une diminution significative ($P = 0,001$) du nombre total des hémocytes (THC), l'une des mesures du composant du système immunitaire, le plus couramment employée.

Mots clés: *Apis mellifera intermissa*, morphométrie alaire, *Varroa destructor*, système immunitaire, hémocytes, nord de l'Algérie

ABSTRACT

Varroa destructor is a major enemy of honeybees. It was found in Algeria in 1981 in the apiary Oum Theboul El Kala (East Algeria). This parasite spread rapidly from there. In order to study the impact of the Varroa destructor on wing morphometry and the immune system components of the honeybee, samples of healthy worker honeybees and parasitized nurses were collected from the apiary of Oued Aissi (Tizi-Ouzou) located in the North of Algeria. This parasite significantly affected the length and the width of the fore wings, the angles 31, 33 and 34. No significant effect ($P > 0,05$) was detected for the angles 32, 35 and 36. The immune pathogen effect of the Varroa destructor on the nurse honeybees was expressed by a significant reduction ($P = 0,001$) in the total number of hemocytes (THC),

which is one of the most frequently used measures for immune system components.

Keywords: *Apis mellifera intermissa*, wing morphometry, *Varroa destructor*, immune system, hemocytes, Northern Algeria

INTRODUCTION

Le *Varroa destructor*, auparavant nommé *Varroa jacobsoni* Oud (Anderson & Trueman, 2000 ; Achou & Rouibi, 2009) est un ectoparasite hématophage des adultes et des immatures de l'abeille, *Apis mellifera* (Colin *et al.*, 1997). Cet acarien sévit à l'échelon international. En Algérie, la varroase est signalée pour la première fois à l'est du pays, en juin 1981, dans un rucher de la coopérative apicole d'Oum Teboul, près d'El Kala, Est de l'Algérie. Actuellement, ce parasite s'est propagé rapidement dans tout le pays.

Chez les abeilles adultes, le *Varroa* parasite davantage les nourrices que les autres ouvrières et évite les ouvrières de moins de 2 jours (Le Conte & Arnold, 1987). La préférence de cet acarien pour les abeilles nourrices a pour effet direct d'optimiser la probabilité des *Varroas* femelles de rencontrer une cellule hôte pour s'y reproduire (Kraus *et al.*, 1986; Le Conte & Arnold, 1987).

La virulence de la varroatose semble pouvoir s'expliquer par les conditions de développement très favorables que le *Varroa* rencontre dans les colonies d'*Apis mellifera*. Outre les facteurs trophiques qu'il prélève dans l'hémolymphe de l'abeille, le *Varroa* y trouve sa température optimale de développement. Son thermopréférendum est en effet exactement compris dans les limites de température du couvain (Le Conte & Arnold, 1987).

Plusieurs études sur les effets du parasitisme par *Varroa*, indiquent que les abeilles ouvrières infestées montrent une réduction du poids à l'émergence (Schneider & Drescher, 1987). Les ailes et l'abdomen sont diminués (Marcangeli *et al.*, 1992; Colin *et al.*, 1997). Les acini des glandes hypopharyngiennes sont atrophiés et la longévité est plus courte (Schneider & Drescher, 1987). Un effet du parasitisme par *Varroa destructor* sur le succès reproductif des faux bourdons (Buchler, 2003) et des anomalies dans le comportement de vol sont également notés (Kralj & Fuchs, 2003).

Du point de vue physiologique, les abeilles parasitées montrent des réductions du volume de l'hémolymphe et en protéine (Weinberg & Madel, 1985). Le nombre d'hémocytes, l'une des mesures du composant du système immunitaire les plus couramment employées (Bocher, 2007), est réduit (Weinands & Madel, 1988). La taille des cellules des corps gras adipeux est diminuée (Colin *et al.*, 1997) ainsi que les peptides antimicrobiens, éléments clés de l'immunité humorale (Gregory *et al.*, 2005; Yang & Cox-Foster, 2005) réduisant, par là même, les défenses immunitaires cellulaires et humorales.

Les colonies d'abeilles parasitées sont affaiblies par l'acarien et peuvent être contaminées par des infections secondaires, virus et bactéries, qui accélèrent leur extinction et les font disparaître en deux ou trois ans, parfois moins (Le Conte, 1990).

Afin de mettre au point des méthodes de lutte spécifique, une étude poussée sur l'interaction hôte (abeille), parasite (*Varroa*) s'avère primordiale.

Le présent travail est axé sur 2 volets :

- Le premier volet consiste à étudier l'effet du parasitisme par *Varroa destructor* sur la morphométrie alaire de l'abeille ouvrière nourrice, *Apis mellifera intermissa*.
- Le deuxième volet a pour but de déterminer l'impact de cet ectoparasite sur les composants du système immunitaire de l'abeille ouvrière nourrice, *Apis mellifera intermissa*, par l'évaluation du nombre total des hémocytes.

MATERIEL ET METHODES

Cette expérimentation s'est déroulée au début de l'été dans le rucher d'expérimentation de la coopérative apicole de Oued Aissi, située au nord de l'Algérie. Cette région se trouve dans l'étage bioclimatique subhumide. Elle est caractérisée par un été chaud et humide et un hiver pluvieux. Les potentialités pollinifères et nectarifères avoisinant le rucher sont importantes. A titre d'exemple, on cite: *Hedysarum coronarium*, *Inula viscosa*, *Medicago sp*, *Daucus carotta*, *Trifolium sp* et surtout l'eucalyptus.

Les abeilles nourrices sont prélevées à l'intérieur de 2 colonies, l'une saine et l'autre parasitée (1 parasite/abeille), lorsqu'elles sont en train de s'occuper des larves, c'est-à-dire qu'elles ont la tête dans des cellules de couvain (Leoncini, 2002).

Pour cette étude, on a retenu 8 paramètres morphométriques de l'aile antérieure droite des abeilles ouvrières saines (n=10) et parasitées (n=10) à savoir : la longueur et la largeur de l'aile antérieure et 6 angles des nervures ou veines de l'aile antérieure 31, 32, 33, 34, 35 et 36. Ces caractères sont utilisés par Mattu et Verma (1984). La longueur et la largeur de l'aile antérieure sont prises à l'aide d'un stéréomicroscope équipé d'un micromètre oculaire. Quant aux angles, ils sont déterminés par projection des ailes sur un écran.

Pour l'étude des composants du système immunitaire (hémocytes), on a prélevé 1µl d'hémolymphe au moyen d'un micro-capillaire, préalablement calibré, introduit à travers la membrane intersegmentaire entre le troisième et le quatrième tergite des abeilles vivantes, maintenues au froid (4° C) pendant 10 minutes, puis immobilisées sur une boîte de pétri (Leoncini, 2002). Le nombre total des hémocytes (THC) a été compté à l'aide d'une cellule hématimétrique, la cellule de Malassez, sur l'hémolymphe non dilué des abeilles nourrices saines (n=7) et parasitées (n=7).

Les valeurs moyennes ($\pm s$) des paramètres morphométriques et hémocytaires obtenues chez les abeilles saines et infestées par le *Varroa destructor* ont été comparées avec le test t de Student avec un seuil de signification de 5%.

RESULTATS ET DISCUSSION

Les résultats de l'effet de *Varroa destructor* sur la morphométrie alaire de l'abeille ouvrière nourrice sont représentés dans le Tableau 1.

L'exploitation du Tableau 1 montre que, parmi les 8 caractères de l'aile antérieure étudiée, 5 caractères sont affectés par le *Varroa destructor* à savoir la longueur et la largeur de l'aile antérieure, les angles 31, 33 et 34. Alors que 3 caractères seulement (les angles 32,35 et 36) n'ont subi aucun effet significatif.

TABLEAU 1

**Effet de *Varroa destructor* sur la Morphométrie Alaire de l'Abeille Ouvrière,
*Apis mellifera intermissa***

Paramètres	Abeilles saines (m±s)	Abeilles parasitées (m±s)	Signifiante
LAA	8,62±0,27	8,15±0,31	*
IAA	2,95±0,08	2,87±0,11	*
Angle 31	31,1±0,99	29,3±1,05	*
Angle 32	104,8±4,21	96,6±3,23	NS
Angle 33	95,5±3,97	92±3,33	*
Angle 34	21,9±2,02	18,8±1,03	*
Angle 35	90,1±1,52	89,2±1,75	NS
Angle 36	52,1±2,51	41,7±3,66	NS

m : moyenne, s: écart type, *différence significative, NS: différence non significative. LAA : Longueur de l'aile antérieure, IAA: largeur de l'aile antérieure. LAA et IAA sont mesurés en mm quant aux angles en degrés.

L'impact de *Varroa destructor* a été également étudié sur les composants du système immunitaire de l'abeille ouvrière nourrice, par l'évaluation du THC, dont les résultats sont représentés dans la Figure 1.

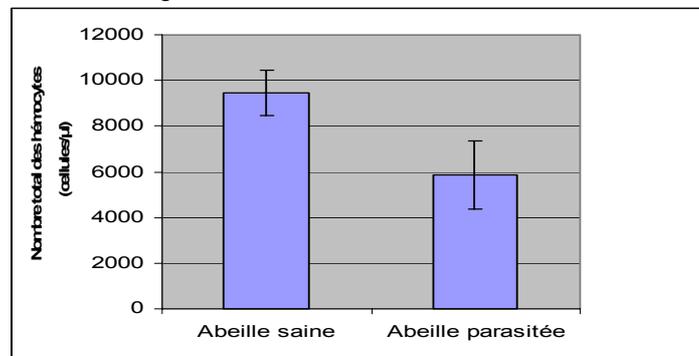


Figure 1. Effet de *Varroa destructor* sur le nombre total des hémocytes des abeilles ouvrières nourrices.

La comparaison des valeurs moyennes des paramètres hémocytaires montre que le *Varroa destructor* réduit de manière significative ($P=0,001$) le THC comparativement à la série saine. En effet, le nombre moyen des hémocytes comptés chez les ouvrières nourrices saines est de 9 452,85 cellules / μ l contre seulement 5 842,85. Donc, une perte de 38,19% d'hémocytes est enregistrée.

L'impact de *Varroa destructor* sur la morphométrie alaire et sur les composants du système immunitaire de l'abeille ouvrière a été observé pour la première fois sur *Apis mellifera intermissa* dont les principales caractéristiques ont été décrites par Ruttner (1968) et ultérieurement par Berkani *et al.* (2005) au Nord de l'Algérie. Les résultats obtenus montrent des différences significatives entre l'abeille saine et l'abeille infestée pour les paramètres morphométriques suivants: la longueur et la largeur de l'aile antérieure, les angles 31,33 et 34. Aucun effet significatif n'a été observé pour les angles 32, 35 et 36. Daly *et al.* (1988) ont observé un changement significatif non seulement au niveau de la taille de l'aile antérieure mais également au niveau des angles de la vénéation alaire suite au parasitisme par *Varroa destructor*. Yang et Cox-Foster (2005) rapportent que les lésions, les plus externes et les plus fréquentes, concernent les ailes. Ces lésions peuvent affecter jusqu'à 32% des abeilles (Marcangeli *et al.*, 1992).

Le *Varroa destructor* affecte également les composants du système immunitaire (hémocytes) de l'abeille ouvrière nourrice. Le système immunitaire, comme tout autre système de l'organisme, est sujet à la destruction et aux dysfonctionnements dus à des infections provoquées par différents agents pathogènes. Parmi les plus importants, notons les invasions parasitaires (*Varroa destructor*), le stress environnemental, les substances toxiques (pesticides) et la malnutrition (Glinski *et al.*, 2003). Dans le présent travail, l'effet de *Varroa* se traduit par une diminution significative du THC. Ces résultats sont similaires à ceux rapportés par Weinands et Madel (1988) suite au parasitisme par *Varroa destructor*. Une diminution du THC est également observée chez l'abeille nourrie avec le pollen substitué (Szymas & Jedruszuk, 2003), chez *Locusta migratoria migratorioides* (Orthoptera : Acrididae) infesté par *Beauveria bassiana* et *Metarhizium flavoviride* (Halouane *et al.*, 2001) et chez la larve de *Drosophila melanogaster* parasitée par *Asobara citri* (Moreau *et al.*, 2003). Par contre, plusieurs travaux ont rapporté une augmentation du THC à la suite de divers traitements. Les abeilles nourries avec un aliment non protéique (Szymas & Jedruszuk, 2003) et *Anastrepha obliqua* (Diptera, Tephridae) parasitée par la mouche de *Spondias lutea*, à la fin du 3ème stade larvaire (Silva *et al.*, 2002) ont connu une augmentation du THC. Quant à Papadopoulou-Karabela *et al.* (1993), ils n'ont pas trouvé de différence significative dans le THC des abeilles, artificiellement infectées par la bactérie, *Pseudomonas aeruginosae*.

Les modifications morphologiques peuvent être attribuées aux activités de nourrissage de *Varroa* (Colin *et al.*, 1997) qui engendrent un déficit en protéine (Weinberg & Madel, 1985) et une perte de la pression hydrostatique nécessaires pour maintenir la forme normale des ailes durant le développement (Daly *et al.*, 1988). Cette phase est particulièrement critique, car la larve et la pupa ne sont pas nourries durant toute la période du couvain operculé et le prélèvement d'hémolymphe par le parasite ne peut pas être compensé par l'hôte (Donzé, 1995). Plusieurs auteurs rapportent également que le virus des ailes déformées (DWV) peut être la cause des malformations des ailes (Gauthier *et al.*, 2008 ; Williams *et al.*, 2009).

Les pertes d'hémolymphe, survenues lors des prises de nourritures, répétées par les *Varroas* adultes ou immatures, particulièrement durant les premiers stades de l'ontogenèse, chez *Apis mellifera*, entraînent non seulement des modifications morphologiques mais également des changements du composant du système immunitaire (Gregory *et al.*, 2005; Yang & Cox-Foster, 2005). La perte des hémocytes peut être due aux enzymes lytiques, injectées dans l'hémolymphe d'abeille, par cet acararien. Cette perte peut déclencher, par la

suite la réplication du virus (Denholm, 1999). D'autres facteurs déprimeurs tels les bactéries et les champignons opportunistes sont également rapportés par Glinski *et al.* (2003) dont la présence complique la parasitose (Colin, 1982).

Les modifications morphologiques qui affectent les ailes (62,5% des caractères mesurés sont affectés) et la diminution de l'immunocompétence (environ 38,19% des hémocytes perdus dans ce cas) des abeilles devenues beaucoup plus sensibles aux différents organismes, présents naturellement dans la colonie, peuvent expliquer la mort de la colonie d'abeille en fin août.

CONCLUSION

Vu l'importance de l'abeille, du point de vue économique et écologique, sa préservation contre les maladies est primordiale. L'une de ces maladies les plus redoutables, et qui représente sans aucun doute le pire ennemi des abeilles, est la varroase, encore appelée varroase ou varroatose. Cette maladie parasitaire grave, très contagieuse, qui atteint les abeilles et le couvain et dont l'extension paraît encore inexorable, décime chaque année plusieurs milliers de colonies.

L'étude de la biologie du *Varroa*, de ses relations avec son hôte et également la connaissance des paramètres de l'environnement qui le place dans une situation optimale pour son développement et pour sa reproduction est une base de la mise au point de méthodes de lutte alternative.

REMERCIEMENTS

Nous remercions vivement Mr Achour Saoudi, gérant de la coopérative apicole d'Oued Aissi de Tizi Ouzou (CAO) et également Mme Assia Habbi, ingénieur agronome au niveau de CAO, de nous avoir offerts la possibilité d'accéder à leur rucher d'expérimentation et de collecter les échantillons d'abeilles. Nous tenons également à remercier Mr Arezki Mohammedi pour la documentation.

REFERENCES

- Achou, M. et Rouibi, A. 2009. Morphometrical study of parasitic bee mite *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) in Algeria. *Proceeding Apimondia*, 41st, 15-20 septembre, Montpellier, France.
- Anderson, D.L. and Trueman, J.W.H. 2000. *Varroa jacobsoni* is more than one species. *Exp. Appl. Acarol.*, 24: 165-189.
- Berkani, M.L., Ghalem, Z. et Benyoucef, M.T. 2005. Contribution à l'étude de l'homogénéité de la race locale, *Apis mellifera intermissa* dans les différentes régions du Nord de l'Algérie. *Annales de l'Institut National d'Agronomie d'El Harrach*, Alger, Algérie, 26(1-2) : 15-31.
- Bocher, A. 2007. *Défenses immunitaires et division du travail chez les fourmis*. Thèse de doctorat, Université Paris VI, pp. 126.
- Buchler, R. 2003. The effect of *Varroa destructor* parasitism on the mating success of honeybee drones. *Proceeding Apimondia*. XXXVIIIth. Slovenia, p. 624.

- Colin, M.E. 1982. La varroatose. *Point Vétérinaire*, 14(69) : 21-28.
- Colin, M.E., Fernandez, G.P. et Ben Hamida, T. 1997. Varroasis. *Options Méditerranéennes*, série B, (25) : 121- 142.
- Daly, H.V., De Jong, D. and Stone, N.D. 1988. Effect of parasitism by *Varroa jacobsoni* on morphometrics of Africanised worker honeybees. *Journal of Apicultural Research*, 27 (2): 126-130.
- Denholm, C.H. 1999. *Inducible honeybee virus associated with Varroa*. PhD Thesis Staffordshire, UK, 225p.
- Donzé, G. 1995. *Adaptations comportementales de l'acarien ectoparasite Varroa jacobsoni durant sa phase de reproduction dans les alvéoles operculées de l'abeille mellifère, Apis mellifera*. Thèse de Doctorat, Université de Neuchâtel, 159p.
- Gauthier, L., Fievet, J. and Bergoin, M. 2008. *The pitfalls of diagnosis interpretation in honeybee pathology: the case of deformed wing virus (DWW)*. 41th annual meeting of the society for invertebrate pathology and 9th international conference on *Bacillus thuringiensis* Incorporating Cost 862 Action: Bacterial toxins for insect control. Program and abstracts. 3-7 August University of Warwick, Coventry, UK p149.
- Glinski, Z., Bouczeka, K., Luft- Duptulaa, D., Srark, J. A. 2003. Trials to modulate humoral immune responses in the Bumble bee, *Bombus terrestris* (Apidae.). *Proceeding Apimondia, XXXVIIIth*, Slovenia, p. 230.
- Gregory, P.G., Evans, J.D., Rinderer, T. and De Guzman, L. 2005. Conditionnal immune gene of honeybees parasitized by *Varroa* mites. *Journal of Insect Science*, 5:7.
- Halouane, F., Benzara, A., Doumandji- Mitiche. B. et Bouhacein, M. 2001. Effet de deux entomopathogènes, *Beauveria bassiana* et *Metarhizium flavoviride* (Hyphomycetes, Deuteromycotina) sur l'hémogramme des larves de 5ème stade et des adultes de *Locusta migratoria migratorioides* (Orthoptera: Acrididae). *Journal of Orthoptera Research*, 10(2) : 331-334.
- Kralj, J. and Fuchs, S. 2003. Influence of *Varroa destructor* on flight behaviour of infested bees. *Proceeding Apimondia XXXVIIIth*, Slovenia, p. 480.
- Kraus, B., Koeniger, N., Fuchs, S. 1986. Unterscheidung zwischen Bienen-verschiedenen Alters durch *Varroa jacobsoni* Oud und Bevorzugung von Ammenbienen im Sommerbienenvolk. *Apidologie*. 17 (3): 257-266.
- Le Conte, Y. et Arnold, G. 1987. L'influence de l'âge des abeilles (*Apis mellifera* L) et de la chaleur sur le comportement de *Varroa jacobsoni* Oud. *Apidologie*, 18 (4) : 305-320.
- Le Conte, Y. 1990. *Contribution à l'étude des relations abeille-Varroa: approches comportementales, chimiques et génétiques*. Thèse de doctorat, Paris Sud, France, 199 p.
- Leoncini, I. 2002. *Pheromones et régulation sociale chez l'abeille Apis mellifera: Identification d'un inhibiteur du développement comportemental des ouvrières*. Thèse de doctorat, INRA Paris –Grignon, 254p.
- Marcangeli, J., Monetti, L. and Fernandez, N. 1992. Malformations produced by *Varroa jacobsoni* on *Apis mellifera* in the province of Buenos Aires, Argentina. *Apidologie*, 23 (5): 399-402.
- Mattu, V.K. et Verma, L.R. 1984. Morphometric studies on the Indian honeybee, *Apis cerana indica*. Effect of seasonal variations. *Apidologie*, 15(1): 63-74.
- Moreau, S.J.M., Eslin, P., Giordanengo, P. and Doury, G. 2003. Comparative study of the strategies evolved by two parasitoids of the genus *Asobara* to avoid the immune response of the host, *Drosophila melanogaster*. *Developmental and Comparative*

- Immunology*, 27: 273-282.
- Papadopoulou- Karabela, K., Iliadis, N. and Liakos, V.Q. 1993. Haemocyte changes in honeybee (*Apis mellifera* L) artificially infected by *Pseudomonas aeruginosae*. *Apidologie*, 24 (1): 81-86.
- Ruttner, F. 1968. *Les races d'abeilles*. In : *Traité de biologie de l'abeille*, tome I, Chauvin.R. éd., Masson et Cie, p. 27-44.
- Schneider, P. and Drescher, W. 1987. Einfluss der parasitierung durch die Milbe *Varroa Jacobsoni* auf das Schlupfgewicht, die Gewichtsentwicklung, die Entwicklung der Hypopharynxdrüsen und die Lebensdauer von *Apis mellifera*. *Apidologie*, 18 (1): 101- 110.
- Silva, J.E.B., Boleeli, I.C. and Simoes, Z.L.P. 2002. Hemocyte types and total and differential count in unparasitized and parasitized *Anastrepha obliqua* (Diptera, Tephritidae) larvae. *Brazilian Journal of Biology*, 62(4 a).
- Szymas, B. and Jedruszuk, A. 2003. The influence of different diets on hemocytes of adult worker honey bees, *Apis mellifera*. *Apidologie*, 34 (2): 97-102.
- Weinands, A. and Madel, G. 1988. Hemocytes of the honeybee, *Apis mellifera*, and their changes by varroaosis (Hymenoptera, Apidae). *Entomologia Generalis*, 14: 81-92.
- Weinberg, K.P. and Madel, G. 1985. The influence of the mite *Varroa jacobsoni* Oud on the protein concentration and the hemolymph volume of brood of worker bees and drones of the honey bee, *Apis mellifera* L. *Apidologie*, 16(4): 421-436.
- Williams, G.R., Rogers, R.E.L., Kalkstein, A.L., Taylor, B.A., Shutler, D., Ostiguy, N. 2009. Performed wing virus in western honeybees (*Apis mellifera*) from Atlantic Canada and the first description of an overtly infected emerging queen. *Journal of Invertebrate Pathology*, 101: 77-79.
- Yang, X. and Cox -Foster, D. 2005. Impact of an ectoparasite on the immunity and pathology of an invertebrate: Evidence for host immunosuppression and viral amplification. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 102(21): 7470-7475.