

Université de Montréal

Influence d'un supplément alimentaire sur le développement des colonies d'abeilles domestiques (*Apis mellifera*, Linnaeus 1758) au Québec

par
Georges Martin

Département de sciences cliniques
Faculté de médecine vétérinaire

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures et postdoctorales
en vue de l'obtention du grade de Maître ès sciences
en sciences vétérinaires
option sciences cliniques

Mars, 2009

© Georges Martin, 2009

Université de Montréal
Faculté des études supérieures et postdoctorales

Ce mémoire intitulé :
Influence d'un supplément alimentaire sur le développement des colonies
d'abeilles domestiques (*Apis mellifera*, Linnaeus 1758) au Québec

présenté par :
Georges Martin

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes

Alain Villeneuve, président-rapporteur

Pascal Dubreuil, directeur de recherche

Pierre Giovenazzo, co-directeur de recherche

Christiane Girard, membre du jury

Résumé

La malnutrition est identifiée comme l'un des facteurs potentiellement responsables des mortalités élevées de colonies d'abeilles des dernières années au Québec. Pour contrer cela, les apiculteurs donnent des suppléments de pollen à leurs colonies, mais les impacts d'une telle pratique à diverses périodes sont méconnus. Les effets de la disponibilité du pollen sur le développement de colonies d'abeilles ont été mesurés pendant 3 différentes périodes : au printemps, durant la pollinisation de la canneberge et à la fin de l'été. À chacune des périodes correspondait une expérience distincte utilisant 40 colonies. Pour chaque expérience, des conditions d'abondance de supplément de pollen et de restriction de pollen naturel étaient créées chez les colonies pendant un mois selon un plan d'expérience factorielle 2x2. L'élevage du couvain et la récolte de miel ont été mesurés jusqu'à la fin de l'été (début de l'été suivant pour l'expérience de fin d'été). Au printemps, les colonies restreintes en pollen naturel ont élevé 18% moins de couvain ($p < 0.05$) pendant la période de restriction et 11% de moins à la fin de l'été alors que l'utilisation du supplément n'a eu aucun effet ($p > 0.05$). Les colonies supplémentées durant la pollinisation des canneberges ont élevé moins de couvain ($p < 0.05$) à la fin de l'été. Pour l'expérience de fin d'été, les colonies supplémentées ont eut une meilleure reprise printanière ($p < 0.05$) de l'élevage du couvain (60% de plus) alors qu'une restriction en pollen naturel avait un effet négatif ($p > 0.05$). Les récoltes de miel ont été augmentées ($p < 0.05$) de 1,3 kg pendant la pollinisation de la canneberge alors qu'elles ont été diminuées ($p < 0.05$)

par une restriction en pollen naturel de 4,2 kg à la fin de l'été et de 15 kg au printemps.

Mots clés : abeilles, alimentation, supplément, pollen, canneberge, pollinisation, couvain, acide aminé, *Apis mellifera*

Abstract

The use of pollen supplement is a countermeasure to honey bee malnutrition which is identified as one of the factors causing high colonies losses over the past few years in Quebec. There is little documentation on the results of using pollen supplement during different periods. The effects of pollen availability and supplementation on the development of honey bee colonies were examined during 3 different periods: in spring, during cranberry pollination and in late summer. Each period was a distinct study using 40 different colonies. In each study, pollen supplemented and pollen restricted conditions were created for one month in 10 colonies per treatment group in a 2x2 factorial design experiment. Brood rearing and honey yield were monitored until the end of summer for the spring and the cranberry pollination studies and until the end of the following spring for the late summer study. In the spring study, pollen restricted colonies reared 18% less brood ($p < 0.05$) during the restriction period and 11% less brood ($p < 0.05$) by the end of summer while pollen supplement had no effect ($p > 0.05$). Colonies supplemented during cranberry pollination study reared less brood ($p < 0.05$) by the end of summer. In the late summer study, supplemented colonies had a greater ($p < 0.05$) spring build-up (60% more brood) and pollen restriction negatively influence ($p < 0.05$) brood rearing. Honey yield was decreased ($p < 0.05$) by 15 kg in colonies exposed to a pollen restriction in spring. It was increased by 1.3 kg ($p < 0.05$) in pollen supplemented colonies during the cranberry pollination study and was reduced by 4.2 kg ($p < 0.05$) in pollen restricted colonies in the late summer study. In conclusion, pollen supplement improved colonies population

when fed in late summer and not during spring or in cranberry pollination and was without impact on honey yield.

Keywords: honey bee, nutrition, pollen supplement, cranberry pollination, brood production, amino acid, *Apis mellifera*

Table des matières

| | |
|---|----------|
| Identification du jury | ii |
| Résumé | iii |
| Abstract | v |
| Table des matières | vii |
| Liste des tableaux | ix |
| Liste des figures | x |
| Liste des sigles et abréviations | xii |
| Remerciements | xiii |
| | |
| Introduction | 1 |
| | |
| Recension de la littérature | 7 |
| 1. Biologie de l'abeille | 8 |
| 1.1 Développement de l'œuf à l'adulte | 8 |
| 1.2 Castes et tâches | 10 |
| 1.3 Cycle annuel | 13 |
| 2. Diète des abeilles | 16 |
| 2.1 L'eau | 17 |
| 2.2 Le nectar | 18 |
| 2.3 Le pollen | 19 |
| 2.3.1 Composition | 20 |
| 2.3.2 Entreposage | 23 |
| 2.3.3 Effets d'une carence | 25 |
| 3. Besoins en nutriments | 26 |
| 3.1 Les glucides | 26 |
| 3.2 Les protéines | 27 |
| 3.3 Les lipides | 29 |
| 3.4 Les vitamines | 30 |
| 3.5 Les minéraux | 31 |
| 4. Suppléments alimentaires | 32 |
| 4.1 Historique | 32 |
| 4.2 Découverte récente | 37 |

| | |
|--|-----|
| 4.3 Utilisation et effets | 40 |
| 4.3.1 Utilisation continue pendant toute l'année..... | 41 |
| 4.3.2 Utilisation au printemps | 42 |
| 4.3.3 Utilisation lors de la pollinisation d'une culture | 48 |
| 4.3.4 Utilisation à l'automne | 50 |
| 5. But du projet..... | 51 |
| Article | 53 |
| Abstract | 54 |
| Introduction | 55 |
| Materials and methods | 59 |
| Results | 66 |
| Discussion | 70 |
| Acknowledgements | 78 |
| Tables | 79 |
| Figures..... | 81 |
| References | 85 |
| Discussion générale | 93 |
| 1. Supplémentation tardive au printemps..... | 95 |
| 2. Nourrissage durant la pollinisation des canneberges | 98 |
| 3. Supplémentation en fin d'été..... | 102 |
| 4. Ouverture de recherche | 105 |
| Conclusion | 107 |
| Bibliographie | 111 |

Liste des tableaux

| | |
|--|----|
| Tableau I. Nombre de jours supplémentaires de vie par rapport au groupe témoin, de groupes de 60 abeilles en cagette nourries avec cinq différents pollens ou leur mélange | 4 |
| Tableau II. Proportions des constituants du pollen d' <i>Aloe greatheadii</i> var. <i>davyana</i> collecté à la main, collecté par les abeilles et stocké dans les alvéoles..... | 21 |
| Tableau III. Proportion des 10 acides aminés essentiels dans un mélange de pollen récolté par des abeilles et leur niveau minimal requis pour une croissance optimale de l'abeille | 28 |
| Tableau IV. Pourcentage massique des substances extraites du pollen en fonction du solvant utilisé. Les solvants sont placés en ordre croissant de polarité de haut en bas | 37 |
| Tableau V. Nombre moyen de jours de survie (\pm erreur type) de groupes de 60 abeilles âgées de un jour, placées en cagettes et nourries avec les diètes mentionnées, de l'eau et une solution de saccharose 50%..... | 39 |

Article

| | |
|--|--|
| Table I. Crude protein level (% dry matter) and amino acid composition of cranberry pollen, of a representative sample of the pollen collected by bees in spring and late summer feeding experiment, and of the pollen supplement fed to colonies. | |
| Table II. Variables measured in the spring feeding project (mean \pm s.e., n=10 hives). | |
| Table III. Variables measured in the summer cranberry pollination feeding project (mean \pm s.e., n=10 hives). | |
| Table IV. Variables measured in the late summer feeding project (mean \pm s.e., n=7 hives). | |

Liste des figures

| | |
|---|----|
| Figure 1. Les différentes castes des abeilles : une ouvrière à gauche, une reine au centre et un faux-bourdon à droite..... | 8 |
| Figure 2. Développement de l'œuf à l'imago pour les 3 différentes castes chez l'abeille domestique. | 10 |
| Figure 3. Tâches effectuées par les ouvrières en fonction de leur âge..... | 12 |
| Figure 4. Dynamique annuelle de la population d'une colonie d'abeilles selon les conditions qui prévalent dans le sud du Québec | 16 |
| Figure 5. Trappe à pollen de type Shaparew | 20 |
| Figure 6. Quantité de la diète consommée par les abeilles en 48h en fonction du traitement..... | 38 |
| Figure 7. Substitut en poudre à gauche et distributeurs dans un rucher à droite..... | 40 |
| Figure 8. Substitut en pâte, entre 2 feuilles de papier ciré, placé sur les cadres à couvain | 41 |
| Figure 9. Effet d'un supplément protéique sur le nombre de jeunes abeilles élevées au début du printemps 2002 selon le traitement utilisé | 44 |

Article

| | |
|--|--|
| Figure 1a. Brood production for colonies in the spring feeding experiment (mean \pm s.e., n=10 hives). | |
| Figure 1b. Natural varroa mite fall per day on a sticky cardboard over a 7 day period for the spring feeding experiment (mean \pm s.e., n=10 hives). | |
| Figure 2. Brood production for colonies in the cranberry pollination feeding experiment (mean \pm s.e., n=10 hives). | |
| Figure 3a. Brood production for colonies in the late summer feeding experiment (mean number \pm s.e., n=7 hives). | |
| Figure 3b. Natural varroa mite fall per day on a sticky cardboard over a 7 day period for the late summer feeding experiment (mean \pm s.e., n=7 hives). | |

Figure 4. Evolution of total lipid content of bees in the late summer feeding experiment on 1g grinded bees samples (mean \pm s.e., n=5 hives).

Figure 5. Evolution of nitrogen of bees in the late summer feeding experiment on 0.1g grinded bees samples (mean \pm s.e., n=5 hives).

Liste des sigles et abréviations

| | |
|---------|---|
| AAC : | Agriculture et Agroalimentaire Canada |
| AOAC : | Association of Official Analytical Chemists |
| BBD : | Beltsville Bee Diet |
| C : | Colonies témoins, en conditions naturelles |
| CAPA : | Canadian Association of Professional Apiculturists |
| CRSAD : | Centre de recherche en sciences animales de Deschambault |
| HAGRC : | Holmholtz Association of German Research Centers |
| MAPAQ : | Ministère de l'agriculture, des pêcheries et de l'alimentation du Québec |
| OAC : | Ontario Agricultural College |
| OIE : | Organisation Mondiale de la Santé Animale |
| PR : | Colonies en conditions de pénurie de pollen (trappes) |
| PS : | Colonies recevant du supplément en conditions naturelles |
| PSR : | Colonies recevant du supplément en conditions de pénurie de pollen |

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier mon co-directeur, Pierre Giovenazzo, pour sa confiance, son implication, sa passion contagieuse et les opportunités qu'il m'a offertes.

À mon directeur, Pascal Dubreuil, particulièrement pour ses précieux conseils dans ma préparation aux séminaires et pour la rédaction de ce mémoire.

À Émile Houle, pour être une source d'information pouvant rivaliser avec internet et être toujours prêt à donner un coup de main.

Aux ouvriers apicole du CRSAD : Jean-Pierre Lefèvre, Michaël Benoît et Sylvain Gingras pour être une équipe sympathique et dynamique avec laquelle il est toujours plaisant de travailler.

Introduction

L'impact de l'abeille domestique sur le monde agricole est très important. Elle nous fournit plusieurs produits : la cire, le pollen, la propolis, le venin et le miel. La production la plus importante et connue est le miel ; c'est la seule dont les statistiques sont compilées. Au Canada, pour les années 2003 à 2007, la production annuelle de miel a été de 37 000 tonnes et a représenté des ventes d'une valeur de 107 millions de dollars ; la production québécoise a contribué pour environ 4% (Statistique Canada, 2008). Outre cette production, l'abeille joue un rôle majeur comme agent pollinisateur. La valeur économique mondiale des insectes pollinisateurs (principalement l'abeille) est estimée à 217 milliards de dollars US (HAGRC, 2008). Les retombées annuelles liées à la pollinisation des cultures par l'abeille domestique s'élèvent à plus de 14 milliards US aux États-Unis (Morse et Calderone, 2000) et à près d'un milliard pour le Canada, les valeurs spécifiques pour le Québec ne sont pas fournies (AAC, 2003). Depuis quelques années, les apiculteurs transfèrent progressivement leurs activités de producteur en fournisseur de pollinisateurs. De nombreuses cultures, tel le bleuet et la canneberge, dépendent presque entièrement de l'abeille pour assurer leur pollinisation (Morse et Calderone, 2000).

Compte tenu de l'importance de l'abeille, l'intérêt pour la recherche apicole prend une plus grande place et plus particulièrement depuis les récentes difficultés de cette industrie. Depuis quelques années au Canada, les mortalités hivernales de colonies sont de 20% plus élevées que le seuil canadien de mortalité jugé normal, soit 15% (CAPA, 2008). Les pertes sont similaires pour les États-

Unis (CAPA, 2008). Au Québec, la moyenne annuelle des mortalités hivernales pour la période de 2004 à 2008 a été d'environ 24%, atteignant 37% en 2007 (Boucher, 2008). Plusieurs problèmes pourraient être responsables de ces pertes : les parasites, les maladies, les pesticides et la malnutrition. La présente étude s'adresse à l'un de ces problèmes et porte sur l'alimentation de l'abeille, plus particulièrement sur l'utilisation de suppléments de pollen.

La saison mellifère et les périodes de pollinisation au Québec sont de courte durée. Les apiculteurs doivent avoir des colonies dans la meilleure situation possible durant ces périodes. Ils visent à optimiser le développement de leurs colonies en leur offrant un surplus de pollen ou même un substitut protéique. L'objectif d'une telle pratique est d'augmenter les populations d'abeilles plus rapidement, particulièrement au printemps et ainsi obtenir des colonies plus peuplées pour la pollinisation des premières cultures en fleurs ou afin d'optimiser la production de miel qui peut survenir tôt en juin.

Différentes préparations protéiques ont été élaborées et il existe maintenant plusieurs substituts commerciaux de pollen. L'ajout de pollen naturel à ces substituts permet d'en augmenter l'appétence et on parlera alors de suppléments de pollen (Doull, 1973; Standifer *et coll*, 1973; Stanger et Laidlaw, 1974; Herbert, 1992). Lors des années 1973 et 1974, le taux de protéines dans le pollen naturel récolté par les abeilles durant le mois de mai dans la région de Québec était inférieur à 20% (MAPAQ, 1975). Ce taux est en deçà du seuil optimal pour

l'élevage du couvain qui se situe entre 20 et 30% selon les sources (Herbert *et coll*, 1977b; Somerville, 2005). Ceci en fait donc une période intéressante pour utiliser un supplément de pollen.

Au cours des dernières décennies, l'agriculture au Québec a beaucoup changé et les monocultures occupent présentement une place importante. La situation fait en sorte que la diversité des sources de nourriture des abeilles et la période de disponibilité de la ressource se trouvent réduites. Il y a donc très peu de nourriture accessible lorsque la plante cultivée n'est pas en fleur. La disponibilité d'un seul type de pollen augmente les risques de carence en acides aminés essentiels. Des abeilles en cagettes nourries avec un mélange de pollen provenant de différentes sources florales vivent généralement plus longtemps que celles nourries avec un pollen unique (Schmidt *et coll*, 1987). Un extrait des résultats de Schmidt *et coll*. (1987) est présenté au tableau I. Certains pollens ont été testés deux fois, mais uniquement le meilleur résultat est présenté ici. Ces résultats démontrent que la composition du pollen est de première importance sur la longévité des abeilles.

| Source de pollen | Jours de survie supplémentaires | | |
|--------------------------------|---------------------------------|---------------|---------------|
| | 25% mortalité | 50% mortalité | 75% mortalité |
| <i>Larrea tridentata</i> (DC.) | 8,6 ± 0,5 | 14,1 ± 0,4 | 19,7 ± 0,4 |
| <i>Prunus dulcis</i> Batsch | 16,4 ± 0,4 | 21,4 ± 0,4 | 26,4 ± 0,8 |
| <i>Cereus gigantea</i> Engelm. | 12,5 ± 0,8 | 23,4 ± 0,5 | 34,2 ± 0,5 |
| <i>Prosopis velutina</i> Woot. | 19,8 ± 2,4 | 26,2 ± 1,6 | 32,7 ± 1,7 |
| <i>Populus fremontii</i> Wats. | 24,5 ± 1,4 | 38,0 ± 0,9 | 51,5 ± 0,9 |
| mélange égal des 5 | 32,6 ± 0,4 | 40,6 ± 0,6 | 48,6 ± 0,7 |

Tableau I. Nombre de jours supplémentaires de vie par rapport au groupe témoin, de groupes de 60 abeilles en cagette nourries avec cinq différents pollens ou leur mélange. Le groupe témoin recevait uniquement un sirop de saccharose 50% tandis que tous les autres groupes recevaient en plus du pollen (tableau adapté de Schmidt *et coll*, 1987).

Les colonies d'abeilles louées pour des services de pollinisation se retrouvent souvent en forte densité dans des monocultures, limitant ainsi la quantité et possiblement la qualité de la nourriture pour ces dernières. Certains apiculteurs affirment que leurs colonies dépérissent lorsqu'elles font la pollinisation de la canneberge, cependant la raison précise n'est pas encore connue, le nectar ayant également une grande importance pour les colonies.

À la fin de l'été, les derniers cycles de couvain qui sont élevés sont très importants pour la colonie. En effet, ces abeilles devront survivre tout l'hiver et reprendront l'élevage du couvain le printemps suivant (Winston, 1987). Il importe donc qu'elles soient en excellente condition. Les corps adipeux des abeilles hivernantes, qui leur servent de réserves, sont d'ailleurs beaucoup plus développés que ceux des butineuses en période estivale (Keller *et coll*, 2005a). Il semble que lors des 2 dernières semaines d'août, la quantité de protéines dans le pollen de la région de Québec soit en deçà de 20% (MAPAQ, 1975) d'où l'intérêt d'utiliser un supplément de pollen durant cette période.

Le but de cette étude était de vérifier l'hypothèse suivante : l'utilisation d'un supplément alimentaire à différentes périodes de la saison apicole favorise le développement des colonies d'abeilles. Les objectifs pour vérifier cette hypothèse étaient les suivant :

- 1) Mesurer la production de couvain et de miel de colonies d'abeilles en conditions normales, en conditions d'accès

restreint au pollen naturel, recevant un supplément alimentaire en conditions normales ou recevant un supplément alimentaire en conditions d'accès restreint au pollen naturel et ceci lors de 3 périodes distinctes, soit en mai au printemps, durant la pollinisation d'une monoculture de canneberges et à la fin de l'été ;

- 2) Mesurer les taux de protéines et de lipides corporels d'abeilles provenant de colonies qui en fin d'été étaient en conditions normales, en conditions d'accès restreint au pollen naturel, recevaient un supplément alimentaire en conditions normales ou recevaient un supplément alimentaire en conditions d'accès restreint au pollen naturel.

Recension de la littérature

1. Biologie de l'abeille¹

Afin de bien comprendre cette recherche, cette section présente le fonctionnement d'une colonie d'abeilles selon nos conditions climatiques au Québec.

Les abeilles sont des insectes eusociaux qui vivent en colonies. Dans une colonie, trois castes d'abeilles peuvent être élevées : les reines, les faux-bourdon et les ouvrières. Ces castes sont illustrées à la figure 1.

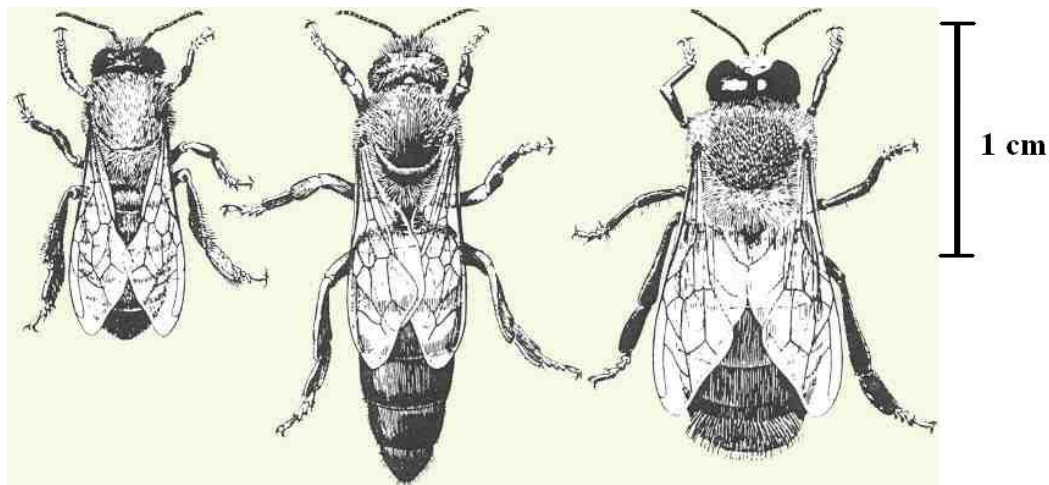


Figure 1. Les différentes castes des abeilles : une ouvrière à gauche, une reine au centre et un faux-bourdon à droite (image adaptée de <http://website.lineone.net/~dave.cushman/legwing.html> et obtenue le 5 février 2007).

1.1 Développement de l'œuf à l'adulte

Afin d'assurer le maintien et/ou le développement de la colonie, son unique reine pond des œufs, dans les alvéoles, qui éclosent environ 3 jours plus tard, donnant naissance à une larve. C'est la composition de la nourriture de cette

¹ La référence principale de cette section est Winston, 1987

larve qui détermine son développement en ouvrière ou en reine. Les larves sont nourries par les ouvrières avec une substance colloïdale (gelée) sécrétée par leurs glandes hypopharyngiennes. Les alvéoles dans lesquelles se trouvent les larves de reines, d'ouvrières et de faux-bourçons sont scellées respectivement au milieu du 8^e, au début du 9^e et au 10^e jour suivant la ponte de l'œuf. Afin de sceller l'alvéole, les ouvrières sécrètent un opercule de cire au-dessus de la cellule. Ensuite, les larves tissent un cocon et poursuivent leur développement jusqu'au stade de l'imago avant d'émerger de l'alvéole. La durée de développement dans l'alvéole fermée varie pour les 3 castes. Au final, une reine est produite à partir d'un œuf en 16 jours, il faut en compter 21 pour une ouvrière et 24 pour un faux-bourçon. Les différents stades du développement des 3 castes sont illustrés à la figure 2. Il est à noter que les œufs non fécondés amènent la naissance de faux-bourçons, alors que ceux fécondés donnent des ouvrières ou des reines.

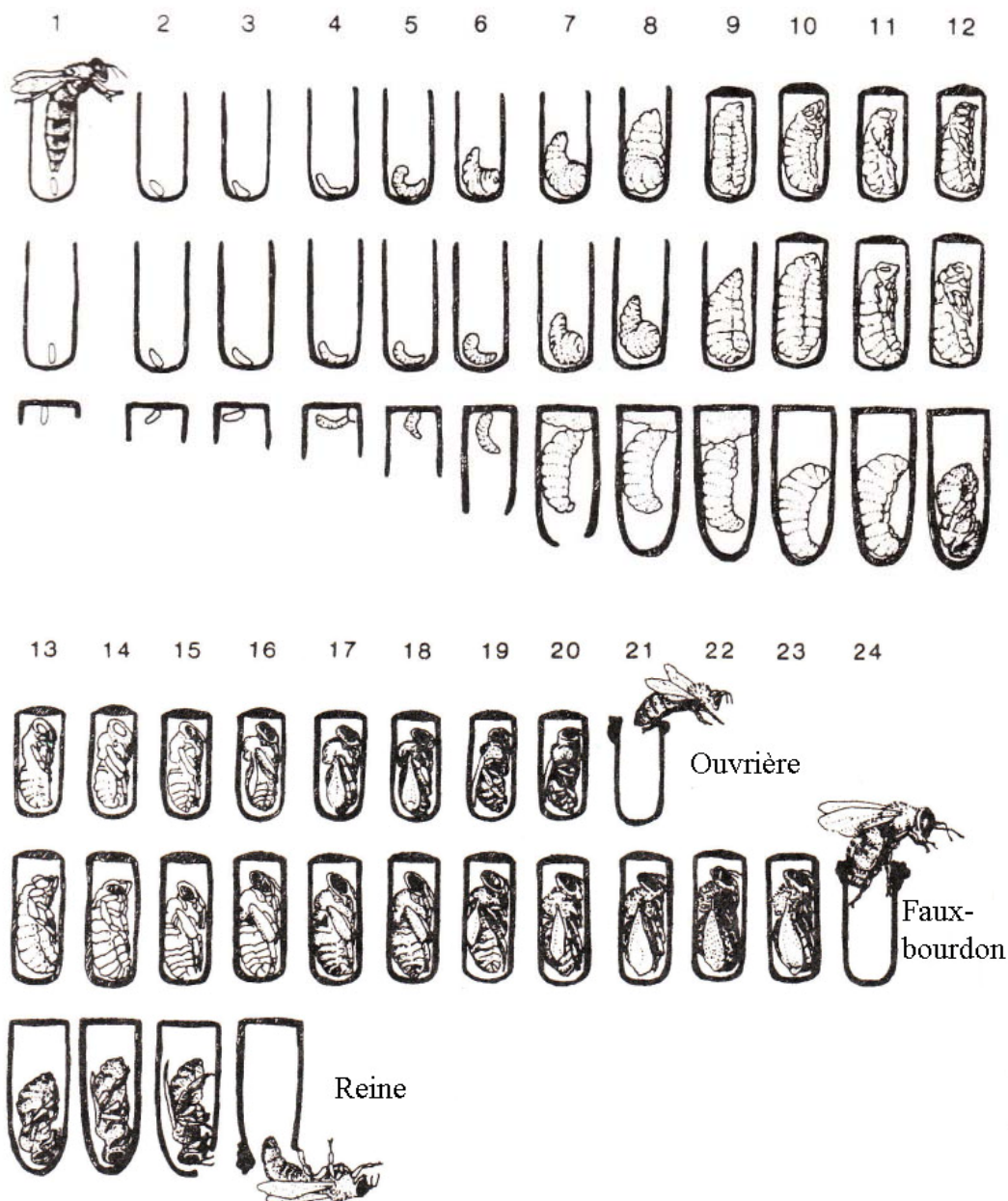


Figure 2. Développement de l'œuf à l'imago pour les 3 différentes castes chez l'abeille domestique. Les chiffres indiquent les jours (image adaptée de Winston, 1987).

1.2 Castes et tâches

Il n'y a qu'une reine pondreuse dans une colonie et elle est nourrie par les ouvrières. Elle pond entre 175 000 et 200 000 œufs par an (Winston, 1992). La

durée de vie utile d'une reine est variable et limitée par la quantité de sperme emmagasiné dans sa spermathèque. Une reine s'accouple avec plusieurs mâles lors de vols nuptiaux qui ont lieu de 6 à 13 jours après sa naissance (Gary, 1992). Après avoir amorcé sa ponte, elle ne peut plus s'accoupler de nouveau. Les reines vivent généralement trois ans.

Les faux-bourçons (seule caste mâle) sont plusieurs centaines dans une colonie et sont présents durant quelques mois seulement, car les ouvrières les expulsent de la ruche à la fin de l'été ou au début de l'automne (Gary, 1992). Incapables de butiner, ils sont nourris par les ouvrières. Leur fonction principale est la reproduction, mais ils participeraient aussi à la thermorégulation du couvain libérant ainsi des ouvrières de ce travail (Fert, 1999). Leur durée de vie moyenne se situe entre 21 et 32 jours.

Une colonie compte plusieurs dizaines de milliers d'ouvrières qui s'occupent de différentes tâches. Les ouvrières ne sont pas spécialisées pour une seule tâche, mais en effectuent plutôt un ensemble qui change selon leur âge (Seeley, 1982). Les jeunes ouvrières commencent leurs tâches au cœur de la ruche en nettoyant les alvéoles, en nourrissant les larves, la reine, les butineuses et les faux-bourçons et en fermant les alvéoles du couvain. Par la suite, elles s'activent plus en périphérie en ventilant la ruche, construisant des alvéoles, stockant le pollen et le miel pour enfin terminer leur vie comme butineuses. Les différentes

tâches de même que l'âge des ouvrières qui les effectuent sont illustrés à la figure

3.

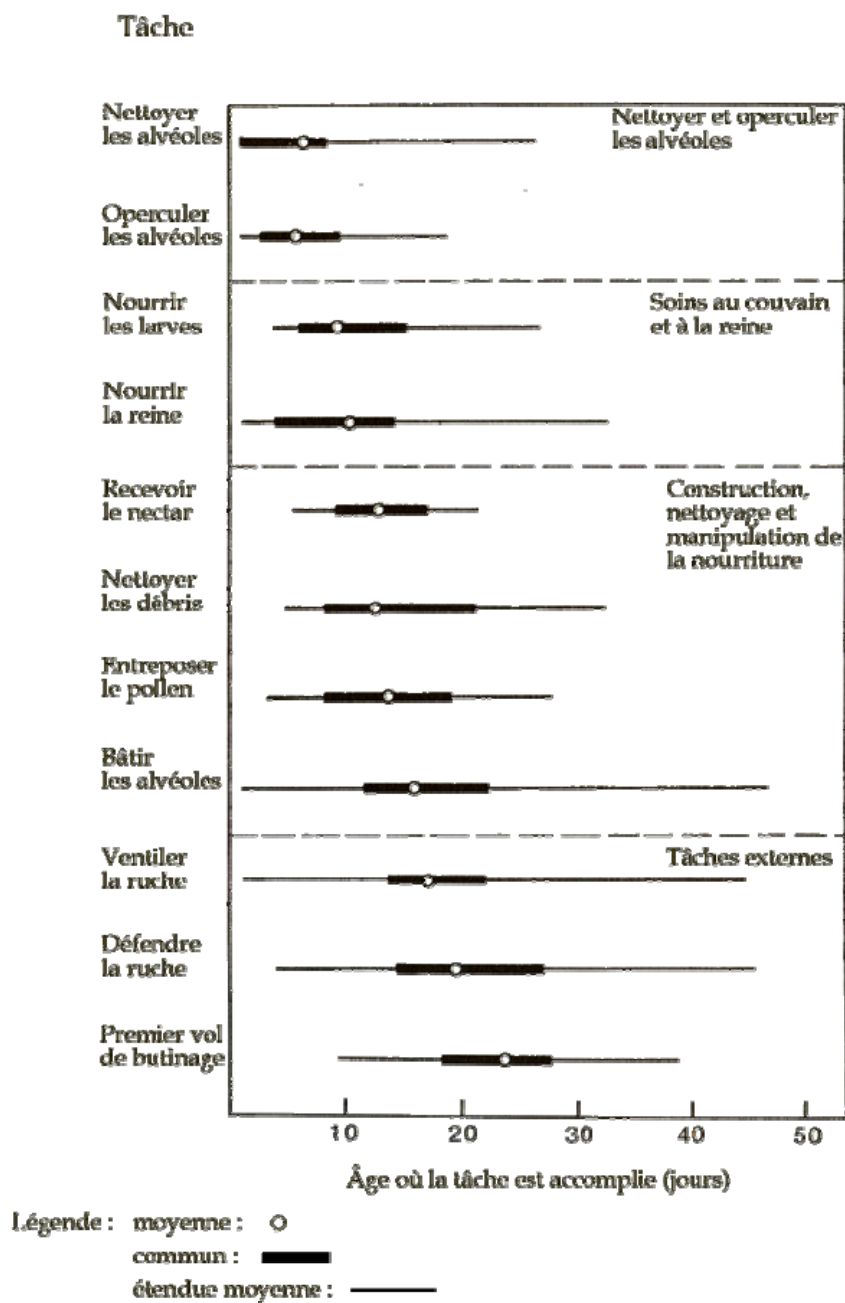


Figure 3. Tâches effectuées par les ouvrières en fonction de leur âge (image adaptée de Winston, 1987).

Ces classes d'ouvrières ne sont pas mutuellement exclusives. Il y a une certaine plasticité au niveau de ces tâches afin de répondre aux besoins de la colonie (Gary, 1992). Il s'agit de la seule caste qui à son émergence s'alimente majoritairement seule en consommant du pollen et du miel. Les jeunes ouvrières peuvent également recevoir un peu de gelée par trophallaxie. La digestion du pollen serait très faible pour les butineuses (Szolderits et Crailsheim, 1993) et serait dû à leur faible niveau d'enzyme protéolytique (Moritz et Crailsheim, 1987). Les butineuses consomment peu de pollen (Crailsheim *et coll*, 1992) et reçoivent de la gelée des abeilles nourrices (Crailsheim, 1992). La durée de vie moyenne des ouvrières en été est entre 21 et 33 jours, alors qu'en hiver dans nos régions, elle se situe entre 150 et 200 jours (Fluri, 1990).

1.3 Cycle annuel

Dans les régions nordiques tempérées dont le Québec fait partie, la reine cesse sa ponte durant l'hiver. Pendant cette période, les abeilles sont regroupées en une grappe. Elles consomment leurs réserves de glucides afin de produire de la chaleur et elles maintiennent une température d'environ 21°C dans le centre de la grappe (Fahrenholz *et coll*, 1989). Elles ne consomment que très peu de pollen durant cette période. La quantité de pollen dans l'intestin des abeilles en hiver, qui ne peuvent sortir pour déféquer, est de 100 à 1000 fois inférieure à celle des abeilles en été (Crailsheim *et coll*, 1992). Les réserves de pollen de la colonie sont d'ailleurs très faibles en hiver ; des colonies d'environ 24 000 abeilles en été ont des réserves hivernales de l'ordre de 75 g (Jeffrey, 1956). Pour subvenir à leurs

besoins protéiques, les abeilles ont des réserves protéiques corporelles plus importantes durant cette période (Otis *et coll*, 2004) ; il s'agirait d'une adaptation à la vie sous un climat tempéré (Amdam *et coll*, 2005).

Avec le retour des températures plus clémentes au printemps, la colonie reprend l'élevage du couvain dès le mois de mars. L'approvisionnement en pollen doit commencer le plus tôt possible puisque les réserves dans la colonie sont faibles et qu'il n'y a qu'un petit nombre d'abeilles butineuses. Lors de conditions météorologiques défavorables, l'interruption du butinage entraînerait une réduction de l'apport de pollen. Dans des conditions de carence, les ouvrières scellent plus tôt les alvéoles contenant des larves et lors de conditions sévères, elles peuvent même manger les jeunes larves ainsi que celles d'âge intermédiaire afin de limiter leurs besoins (Schmickl et Crailsheim, 2001). Ceci ralentit grandement le développement de la colonie.

Dans des conditions normales de température, la population de la colonie continue de croître pour atteindre un sommet durant le mois de juillet. La colonie accumule des réserves de miel afin de combler ses besoins lors des périodes de pénurie de nectar et lors de la saison morte. L'été est la période durant laquelle une colonie a le plus besoin de pollen car elle élève beaucoup de couvain et compte de nombreuses butineuses. Elle a donc besoin d'un apport important et constant de pollen pour maintenir sa population. Plusieurs journées consécutives de mauvaises

conditions climatiques empêchant les abeilles de butiner entraîneront une diminution rapide des réserves de pollen.

À la fin de l'été, la reine diminue progressivement sa ponte puis la cesse totalement en octobre. Les besoins en pollen de la colonie diminuent en fonction de la production de couvain. Les abeilles élevées durant cette période vont devoir subsister tout l'hiver. La qualité du pollen qu'elles consomment est donc importante car elles font leurs réserves corporelles en lipides et en protéines. Leur niveau de protéines est plus important que pour les ouvrières d'été (Otis *et coll*, 2004) alors que celui de lipides est similaire à celui des abeilles nourrices ; il faut noter que lors de la saison estivale, la quantité de lipides est beaucoup plus importante chez les abeilles nourrices que chez les butineuses (Keller *et coll*, 2005a).

La figure 4 montre l'évolution annuelle de la population d'abeilles d'une colonie qui est régie pour la production de miel. Ceci implique que la reine a accès à deux hausses pour pondre et que les hausses supplémentaires servent au stockage du miel. Les colonies régies pour la pollinisation de cultures sont généralement maintenues à deux hausses pendant la majeure partie de la saison apicole afin de faciliter le transport. La capacité d'élevage du couvain dans ces colonies est donc limitée lorsqu'elles accumulent des réserves de miel. L'apiculteur peut retirer des cadres et les remplacer par des cadres vides afin de donner de l'espace de ponte. Si ce sont des cadres de couvain qui sont retirés, cela ne permet pas d'augmenter la

population de la colonie, mais les cadres retirés peuvent alors être utilisés pour démarrer une nouvelle colonie dans laquelle l'apiculteur introduit une nouvelle reine.

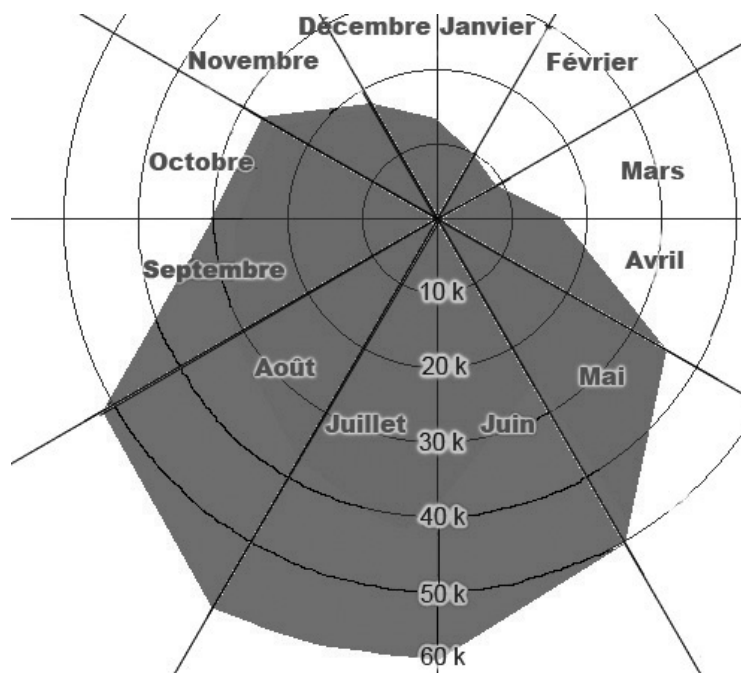


Figure 4. Dynamique annuelle de la population d'une colonie d'abeilles selon les conditions qui prévalent dans le sud du Québec. Le périmètre de la zone grise indique le nombre d'abeilles, chaque cercle représente 10 000 abeilles et un secteur en pointe de tarte correspond à un mois (image adaptée de <http://website.lineone.net/~dave.cushman/newhome.html> et obtenue le 5 février 2007).

2. Diète des abeilles

L'abeille, comme tout être vivant végétal ou animal, a des besoins de base. Les abeilles ont d'abord besoin d'une ressource essentielle à la vie : l'eau. Cette dernière provient de différentes sources dont le nectar. Leurs besoins en énergie sont comblés par les hydrates de carbone fournis par le nectar des plantes. C'est

dans le pollen qu'elles obtiennent les autres éléments dont elles ont besoin : les protéines, les lipides, les vitamines et les minéraux (Herbert, 1992; Manning, 2001; Somerville, 2005).

2.1 L'eau

L'eau est indispensable aux fonctions métaboliques. L'abeille dont l'eau représente environ 70% du poids, ne peut survivre que quelques jours en cagette sans eau (Herbert, 1992). L'eau sert également à la thermorégulation de la ruche lors de la saison estivale ainsi qu'à préparer la nourriture des larves (Seeley, 1985; Southwick et Heldmaier, 1987; Winston, 1987; Gary, 1992). Une température constante d'environ 35°C est maintenue dans la ruche d'une colonie qui élève du couvain (Fahrenholz *et coll*, 1989; Human *et coll*, 2006). Afin d'éviter que la température augmente, les abeilles déposent des gouttelettes d'eau sur les parois des alvéoles et de la ruche afin que leur évaporation permette de dissiper le surplus de chaleur (Southwick et Heldmaier, 1987; Kühnholz et Seeley, 1997). Lorsque cela n'est pas suffisant, les abeilles peuvent ventiler la ruche en battant des ailes pour accélérer l'évaporation des gouttelettes. Les abeilles peuvent également maintenir un mince film d'eau sur leur proboscis afin d'augmenter l'évaporation (Southwick et Heldmaier, 1987). Les gouttelettes d'eau dans les alvéoles permettent de conserver une humidité relative plus élevée à l'intérieur de celles-ci car les œufs nécessitent de 89 à 95% d'humidité relative pour leur développement (Doull, 1976) alors que celle à l'intérieur de la ruche est maintenue à près de 40% (Human *et coll*, 2006). La gelée servant à nourrir les larves peut contenir jusqu'à

66% d'eau (Herbert, 1992). Les abeilles nourrices en sont donc de grandes consommatrices. Les abeilles butineuses ne peuvent collecter d'eau sur de grandes distances à cause de leurs faibles réserves corporelles d'énergie (Visscher *et coll.*, 1996). Il est donc important qu'il y ait une source d'eau à proximité de la colonie. Les besoins spécifiques à chaque activité sont inconnus, mais la collecte annuelle d'eau (excluant l'eau provenant du nectar) d'une colonie est estimée à 20 kg (Herbert, 1992). Il s'agit d'un estimé grossier puisque la collecte d'eau varie en fonction de la population de la colonie et des conditions météorologiques.

La présence de sel dans l'eau est un facteur qui en favorise la collecte par les abeilles. Près de deux fois plus d'abeilles vont s'abreuver dans un distributeur contenant de l'eau avec 0,5% de sel que dans un second contenant uniquement de l'eau et placé à côté du premier (Horr, 1998). L'eau salée favorise également la longévité des abeilles de même que la production de cire. Des abeilles recevant de l'eau avec 1% de sel vivent en moyenne 20 jours, 26 jours pour 0,5%, 23 jours pour 0,2% et 15 jours pour 0% (Horr, 1998).

2.2 Le nectar

Le nectar est composé principalement de saccharose, de glucose, de fructose et d'eau dont les proportions varient selon les espèces florales et les conditions environnementales (Winston, 1987; Shuel, 1992). Il y a 3 modèles généraux de nectar : ceux à dominance en saccharose, ceux équilibrés (quantité similaire de saccharose, glucose et fructose) et ceux à dominance en glucose et

fructose (Percival, 1961). Le nectar contient aussi d'autres sucres présents en faible quantité ainsi que des traces de divers éléments : protéines, vitamines, minéraux, pigments, lipides, substances aromatiques et acides aminés (Winston, 1987; Shuel, 1992). Les abeilles ajoutent des enzymes (diastase, invertase et glucose oxydase) au nectar (Winston, 1987). La diastase et l'invertase hydrolysent le saccharose en glucose et fructose. La glucose oxydase ainsi qu'une bactérie du genre *Gluconobacter* transforment le glucose du nectar en acide gluconique et en peroxyde d'hydrogène afin d'empêcher le développement bactérien dans le nectar (Gilliam, 1997). Ensuite, les abeilles concentrent le nectar. Son taux d'humidité est abaissé sous les 18% afin de le protéger des moisissures (Winston, 1987). Le nectar se trouve ainsi transformé et stocké sous une forme stable et bien connue : le miel.

Une colonie normale requiert une grande quantité de miel au cours d'une année afin de combler ses besoins, cela peut dépasser les 70 kg (Herbert, 1992).

2.3 Le pollen

Les abeilles collectent du pollen provenant de plusieurs sources florales afin d'obtenir tous les éléments qui leur sont essentiels. Les besoins annuels en pollen d'une colonie peuvent atteindre les 50 kg (Shuel, 1992).

Afin de recueillir le pollen que les abeilles ramènent à la ruche, il suffit de placer une trappe à pollen à l'entrée de la ruche (Figure 5). Les abeilles sont

forcées de traverser un grillage où elles sont coincées, décrochant ainsi les pelotes de pollen qu'elles transportent sur leurs pattes arrières. Les pelotes tombent dans le tiroir de la trappe qui est inaccessible aux abeilles. Cette méthode permet d'obtenir une estimation de la quantité de pollen récolté par une ruche. Il faut cependant être prudent avec ces estimations car certains chercheurs ont observé que l'efficacité d'une trappe à pollen varie pour une colonie au cours d'une période de végétation (Keller *et coll*, 2005b) et une carence en pollen entraîne une augmentation de sa collecte par les butineuses (Fewell et Winston, 1992; Dreller *et coll*, 1999; Fewell et Bertram, 1999).



Figure 5. Trappe à pollen de type Shaparew (photo de Émile Houle).

2.3.1 Composition²

Le taux de glucides du pollen récolté par les abeilles oscille généralement entre 30 et 35% (Herbert, 1992). Cependant ces glucides ne proviennent pas exclusivement du pollen lui même. Une bonne quantité, parfois plus de 50% des

² Sauf avis contraire, les proportions dans cette section sont des pourcentages de matière sèche

glucides totaux, proviennent du nectar utilisé afin de maintenir les grains de pollen en pelotes pour les transporter (Roulston *et coll*, 2000).

Le tableau II montre les écarts entre les différents constituants du pollen avant, pendant et après sa manipulation par les abeilles. Le pollen collecté à la main est prélevé directement sur les étamines de la plante. Le pollen collecté par les abeilles est recueilli dans une trappe à pollen ; les abeilles y ont ajouté du nectar d'où les écarts. Le pollen stocké par les abeilles est prélevé dans la ruche et les variations de taux sont le résultat d'activités enzymatiques, bactériennes et fongiques (voir section 2.3.2).

| Constituants | Pollen (% ± écart type) ^a | | |
|--------------|--------------------------------------|---------------------------|-------------------------|
| | Collecté à la main | Collecté par les abeilles | Stocké par les abeilles |
| Eau | 13,1 ± 1,4 | 18,8 ± 3,3 | 21,0 ± 2,4 |
| Protéines | 50,8 ± 2,7 | 31,4 ± 1,0 | 28,1 ± 1,6 |
| Lipides | 10,0 ± 1,4 | 5,5 ± 1,0 | 7,6 ± 0,2 |
| Minéraux | 4,5 ± 0,4 | 3,6 ± 0,2 | 3,6 ± 0,2 |
| Glucides | 34,7 ± 3,1 | 59,5 ± 1,3 | 60,7 ± 1,5 |

Tableau II. Proportions des constituants du pollen d'*Aloe greatheadii* var. *davyana* collecté à la main, collecté par les abeilles et stocké dans les alvéoles (tableau adapté de Human et Nicolson, 2006).

^a Les valeurs sont exprimées en pourcentage de matière sèche sauf l'eau qui est en pourcentage de matière humide et correspondent à la moyenne de 6 échantillons.

Le taux de protéines du pollen récolté par les abeilles varie de 8 à 40% en fonction de l'espèce florale. Ce taux est souvent obtenu en estimant la concentration d'azote et en multipliant la valeur par 6,25. Ce facteur de conversion est très bien pour les tissus animaux, mais il occasionnerait une surestimation du taux de protéines dans les tissus végétaux (Roulston et Cane, 2000). La composition en différents acides aminés varie aussi selon l'espèce florale (Herbert,

1992). Certains acides aminés sont absents dans des types de pollen d'où l'importance de récolter du pollen de plusieurs sources florales. Des analyses hebdomadaires du contenu de pollen récolté par des abeilles dans la région de Québec (46° 40' N, 71° 55' W) durant les saisons apicoles 1973 et 1974 ont démontré une variation allant de 16 à 33% de protéines (MAPAQ, 1975). Les analyses étaient effectuées sur le mélange de pollen et non pas sur chaque type de pollen présent dans le mélange ; les taux de protéines les plus faibles étant obtenus en mai et en août.

Le pollen contient des concentrations de lipides variant de 1 à 20%, mais s'établissant le plus souvent entre 4 et 6% (Herbert, 1992; Winston, 1987). La plupart des pollens que récoltent les abeilles contiennent du cholestérol et du 24-méthylènecholestérol (Herbert, 1992).

Le pollen est riche en vitamines hydrosolubles et pauvre en vitamines liposolubles (Herbert, 1992; Roulston et Cane, 2000). Il contient généralement 7 vitamines du complexe B : thiamine, riboflavine, pyridoxine, acide pantothénique, niacine, acide folique et biotine. Il contient aussi de l'inositol, de l'acide ascorbique ainsi que les vitamines liposolubles D et E (Herbert, 1992).

Le pollen contient environ 2,5 à 6,5% de cendres (Herbert, 1992). Les cendres sont une façon simple et économique d'estimer la quantité de minéraux. Lors d'une étude menée dans la région de Québec, le taux de minéraux variait

entre 1,13 et 3,52% durant l'année (MAPAQ, 1975). Une grande variété d'éléments sont présents dans le pollen : on y retrouve du potassium, du phosphore, du sodium, du magnésium, du cuivre, du fer, du calcium, du manganèse, du zinc, du soufre, de l'aluminium, du cadmium, du bore, du plomb, du nickel et du sélénium pour ne citer que les principaux (Nation et Robinson, 1971; Manning, 2001; Somerville, 2005). Plusieurs éléments ne sont présents que sous forme de traces.

2.3.2 Entreposage

Les abeilles entreposent le pollen près du couvain sous une forme que l'on nomme le pain d'abeille (pollen ayant subi des modifications biochimiques) et dont le pH est d'environ 4. Les réserves maximales d'une colonie d'environ 60 000 abeilles seraient généralement de l'ordre de 2 kg au plus fort de la saison apicole. Il s'agit d'observations personnelles en utilisant le facteur de conversion de Jeffrey et Allen (1957) : 7,5 pouces carrés de pain d'abeille pèsent 1 once.

La butineuse dépose ses pelotes de pollen dans une alvéole et par la suite, une autre ouvrière vient compacter le tout (Gary, 1992). Si le pollen n'est pas consommé rapidement, il est recouvert d'une couche de miel pour éviter sa détérioration. Il y a ensuite une fermentation entraînant une diminution du pH comme dans un silo à maïs. En fait, certaines substances ainsi qu'une microflore provenant du système digestif de l'abeille sont ajoutées au pollen (Gilliam, 1997). Le pollen contient déjà une microflore, mais le ratio des micro-organismes change

et certains sont modifiés ou remplacés dans le pain d'abeille par rapport au pollen frais. Cette flore est dominée par les fungi et les bactéries du genre *Bacillus* (Gilliam, 1997). Plusieurs produits sont synthétisés et sécrétés par cette nouvelle flore afin d'aider à la conservation et la conversion du pollen : enzymes, vitamines, substances antimicrobiennes, acides organiques et lipides. Les *Bacillus* sont ajoutées au pollen par les butineuses lorsqu'elles forment les pelotes. Ces bactéries produisent des enzymes protéolytiques et des amylases, de même que des peptides antibiotiques (Gilliam, 1979b). La plupart des peptides antibiotiques sont actifs contre les bactéries gram-positives, mais certains sont actifs contre les levures et les moisissures, ce qui rend la situation complexe. Plusieurs autres micro-organismes sont ajoutés au pollen lorsque les abeilles le récoltent et les réactions biochimiques de la modification du pollen commencent dans les pelotes formées par les butineuses. Le titrage de l'acidité liée aux acides organiques libres (qui ne sont pas spécifiés dans l'étude) est 115 fois plus élevé dans les pelotes de pollen par rapport au pollen prélevé directement sur les étamines des fleurs (Gilliam, 1997).

Après que le pollen ait été recouvert de miel, l'agent bactérien *Pseudomonas* est actif durant 2 à 3 jours (Pain et Maugenet, 1966). Dans ce milieu anaérobique débute ensuite une fermentation lactique bactérienne qui est essentiellement complétée après deux semaines ; les levures dans le pain d'abeille deviennent plus actives après cette fermentation lactique (Pain et Maugenet, 1966). La fermentation lactique est débutée par des *Streptococcus* avant que des

Lactobacillus ne prennent le relais, ces dernières produisant plus d'acide lactique (Gilliam, 1979a). Il y a plusieurs espèces de levures (la plus commune est *Torulopsis magnoliae*) présentes dans le pain d'abeille, elles fermentent les glucides et produisent des vitamines (Gilliam, 1979a). Il y a également des moisissures dont 70% proviennent des genres *Aspergillus* et *Penicillium* et de l'ordre *Mucorales* (Gilliam *et coll*, 1989). Ces moisissures produisent des enzymes impliquées dans le métabolisme des lipides, des glucides et des protéines ; elles produisent aussi des métabolites secondaires tels que des acides organiques et des antibiotiques.

Il y a encore peu de connaissances sur les rôles de chaque micro-organisme présent dans le pain d'abeille, de même que de l'impact qu'ont les produits qu'ils génèrent sur les abeilles.

2.3.3 Effets d'une carence

Lorsqu'une colonie manque de pollen, son élevage de couvain diminue progressivement jusqu'à ce qu'il soit nul si la pénurie de pollen persiste (Imdorf *et coll*, 1998). La qualité des pupes durant une telle période n'est que peu ou pas affectée (Imdorf *et coll*, 1998; Schmickl et Crailsheim, 2001). Cela est possible car les abeilles nourrices orientent leurs efforts sur les plus vieilles larves au détriment des plus jeunes et vont même jusqu'à cannibaliser ces dernières pour diminuer la demande en nourriture et avoir les nutriments nécessaires pour nourrir les plus vieilles larves (Imdorf *et coll*, 1998; Schmickl et Crailsheim, 2001). Même lorsque

l'élevage de couvain devient nul, la reine ne cesse pas de pondre pour autant, les ouvrières mangent simplement les larves au fur et à mesure de leur naissance (Imdorf *et coll*, 1998). La colonie peut ainsi reprendre immédiatement l'élevage du couvain lorsqu'elle a de nouveau accès à une source de pollen.

3. Besoins en nutriments

Cette section présente les nutriments ainsi que leurs rôles et les quantités requises par les abeilles.

3.1 Les glucides

Les abeilles ont besoin de beaucoup d'énergie pour voler. Une abeille requiert environ 10 mg/h de glucose pour voler (Visscher *et coll*, 1996). Cette énergie est majoritairement fournie par les glucides qui proviennent du nectar des plantes. La proportion de l'énergie fournie aux abeilles par les glucides est inconnue. Pendant l'hiver, les abeilles consomment leur réserve de glucides pour produire de la chaleur afin de maintenir une température stable et adéquate d'environ 21°C au centre de la grappe d'abeilles (Fahrenholz *et coll*, 1989; Winston, 1992). Certains glucides comme l'acide glucuronique, le mannose et le galactose sont néfastes pour l'abeille (Barker, 1977; Herbert, 1992). Les sucres composés contenant du galactose tels que le lactose, le raffinose, le stachyose,

l'acide galacturonique, l'acide polygalacturonique et la pectine, sont également néfastes et entraînent la mort prématurée des abeilles.

3.2 Les protéines

Les protéines proviennent presque exclusivement du pollen. En utilisant 6,25 comme facteur de conversion de la quantité d'azote mesurée du pollen, les abeilles nourrices utilisent entre 25 et 37 mg de protéines par larve élevée (Haydak, 1970). Dans les quelques jours suivant sa naissance, l'abeille consomme beaucoup de pollen afin de compléter la croissance de ses organes internes. Sa composition corporelle en protéines augmente d'environ 5 mg passant de 12,5 à 17,5 mg (DeGroot, 1953). Chaque abeille nécessite entre 30 et 42 mg de protéines pour sa croissance complète de l'œuf à l'adulte. Une colonie a donc besoin de 5,3 à 7,4 kg de protéines pour élever 175 000 abeilles. Leur croissance terminée, les abeilles ont toujours besoin de protéines, mais en moindre quantité. Le taux de renouvellement des protéines est élevé chez les butineuses en été lorsque les activités de butinage sont intensives, les protéines ont une demi-vie de 11 à 13 jours au sein de ces abeilles, alors qu'elle est de 16,5 jours chez les abeilles œuvrant à l'intérieur de la ruche (Crailsheim, 1986). Chez les abeilles hivernantes la demi-vie des protéines passe à 47,7 jours (Crailsheim, 1986).

DeGroot (1953) a été le seul à identifier les acides aminés essentiels aux abeilles (Tableau III). Dans son étude, des abeilles naissantes étaient nourries avec un mélange contenant 1 mL d'une solution de caséine pour 4 g de saccharose. La

caséine était préalablement traitée pour en retirer des acides aminés spécifiques puis le mélange liquide était calibré pour contenir 100 mg de protéines par millilitre. Il suffisait par la suite de comparer les résultats de croissance d'abeilles émergentes nourries soit avec du saccharose uniquement, soit avec le mélange de caséine et de saccharose ou bien avec le mélange caséine, saccharose et l'acide aminé manquant dans la caséine. Tous les acides aminés ont ainsi été testés et dix ont été identifiés comme essentiels. Par la suite, chaque acide aminé essentiel fut incorporé à différents ratios dans la diète. La proportion minimale requise de l'acide aminé était déterminée lorsque la masse (sèche) et le niveau d'azote (indicateur du niveau de protéines) se stabilisaient ou n'augmentaient plus dans les abeilles. La glycine, la sérine et la proline exercent un effet stimulant sur la croissance des abeilles sans être des acides aminés essentiels. Depuis 1953, les travaux de DeGroot n'ont jamais été revérifiés dû à la complexité et au temps requis pour les effectuer.

| Acide aminé essentiel | Pollen (g/100g de protéines) | minimum requis (g/100g de protéines) |
|-----------------------|---------------------------------|---|
| tryptophane | 1,4 | 1,0 |
| histidine | 2,5 | 1,5 |
| méthionine | 1,9 | 1,5 |
| phénylalanine | 4,1 | 2,5 |
| arginine | 5,3 | 3,0 |
| thréonine | 4,1 | 3,0 |
| lysine | 6,4 | 3,0 |
| isoleucine | 5,1 | 4,0 |
| valine | 5,8 | 4,0 |
| leucine | 7,1 | 4,5 |

Tableau III. Proportion des 10 acides aminés essentiels dans un mélange de pollen récolté par des abeilles et leur niveau minimal requis pour une croissance optimale de l'abeille (tableau adapté de DeGroot, 1953).

Le développement des glandes hypopharyngiennes est directement lié à la quantité de protéines ingérées (Pernal et Currie, 2000). La longévité des abeilles est généralement accrue avec une augmentation du pourcentage de protéines dans le pollen et de la quantité totale de protéines consommées (Schmidt *et coll*, 1987).

Lorsque les abeilles ont accès à suffisamment de nectar, leurs besoins en énergie sont comblés. La situation est plus complexe pour le pollen car même si les abeilles en récoltent beaucoup, il est possible qu'il ne comble pas leurs besoins nutritionnels. C'est la raison pour laquelle cette recherche porte sur les suppléments de pollen.

3.3 Les lipides

Les abeilles ont des besoins en acides gras, en stérols et en phospholipides comme sources d'énergie, pour la synthèse de réserves corporelles ainsi que pour la biosynthèse de différents composés cellulaires dont les membranes cellulaires (Herbert, 1992). Seul le cholestérol est connu comme étant essentiel aux abeilles, mais la quantité minimale requise n'est pas connue. Le stérol le plus abondant dans les larves est le 24-méthylène cholestérol (Svoboda *et coll*, 1980). Certains lipides inhibent la croissance bactérienne ; Hornitzsky (2003) a testé 28 acides gras et 16 ont démontré une activité contre deux maladies importantes du couvain, soit la loque américaine (*Paenibacillus larvae larvae*) et la loque européenne (*Melissococcus pluton*). Les abeilles pourraient donc avoir besoin de certains

lipides à des fins sanitaires plutôt que métaboliques. Il n'y a malheureusement pas plus de développement sur le sujet.

3.4 Les vitamines

Il y a peu de connaissances sur les besoins des abeilles en vitamines. Jusqu'à aujourd'hui, les études sur les vitamines n'ont pas démontré d'effets sur la longévité des abeilles adultes. Certaines vitamines sont vitales pour l'élevage du couvain (Haydak, 1970; Herbert, 1992; Somerville, 2005). La pyridoxine est nécessaire pour le développement des larves (Haydak et Dietz, 1972) à raison de 5,4 µg par larve (Anderson et Dietz, 1976) ; la vitamine A et la vitamine K favorisent l'élevage du couvain (Herbert, 1992). Une diète de caséine, de minéraux et de sucres donnée aux nourrices ne permet pas d'élever des larves âgées de plus de 3 jours ; cependant, lorsque sept vitamines du complexe B (thiamine, riboflavine, pyridoxine, acide pantothénique, niacine, acide folique et biotine) ainsi que du cholestérol sont ajoutés à la préparation, cela permet aux abeilles d'élever du couvain de façon normale (Haydak, 1970).

Les abeilles ont soit la capacité de synthétiser l'acide ascorbique ou un micro-organisme symbiotique serait capable de le faire (Herbert *et coll*, 1985). La fonction précise des différentes vitamines de même que leurs besoins ne sont pas connus pour les abeilles hormis pour la vitamine A qui exerce un rôle dans la vision.

3.5 Les minéraux

Les besoins des abeilles en minéraux sont peu connus. Il est évident que les éléments nécessaires au métabolisme cellulaire sont essentiels, mais les quantités requises de ces éléments sont inconnues. Cela est dû à la difficulté de préparer des diètes contenant les doses minimales de minéraux qui sont souvent infimes et aux coûts élevés qu'auraient ces tests (Herbert, 1992; Somerville, 2005). Actuellement, il n'y a aucun élément spécifique rapporté comme étant essentiel aux abeilles, les études existantes portent sur les besoins généraux en minéraux.

Nation et Robinson (1971) ont mesuré les quantités de 8 minéraux dans le pollen consommé par les abeilles et dans le corps de ces dernières lors de la pollinisation d'une grande monoculture de citron. Les abeilles peuvent accumuler le potassium, le sodium, le cuivre, le fer et le manganèse. Cela signifie que les concentrations de ces minéraux étaient plus élevées dans les abeilles que dans le pollen qu'elles consommaient. Le magnésium et le zinc peuvent aussi être accumulés dans certaines circonstances, mais ils peuvent également se retrouver en concentration plus élevée dans la nourriture. Il semble que les abeilles possèdent un moyen de contrôler l'équilibre calcique car il y avait 7 fois moins de calcium dans leur corps que dans leur nourriture.

Une quantité trop élevée de minéraux dans la nourriture peut s'avérer toxique. Par exemple, des abeilles butineuses s'abreuvant avec une eau contenant 10% de chlorure de sodium vivent en moyenne 8 jours alors qu'une concentration de 0% leur permet de vivre 15 jours et 26 jours pour une concentration de 0,5%

(Horr, 1998). Des cendres de pollen ajoutées à une diète artificielle permettent d'élever le plus de couvain lorsque l'ajout correspond à 1% de la matière sèche (Herbert, 1992).

Les minéraux sont donc essentiels aux abeilles, mais aucun n'est identifié et aucune valeur requise n'est établie.

4. Suppléments alimentaires

4.1 Historique

Les travaux de recherche sur les substituts de pollen ont débuté il y a plus de 150 ans (Stanger et Laidlaw, 1974). Les premiers chercheurs ont utilisé de la farine de blé dans leur préparation, suivi quelques années plus tard par le lait malté. Au fil des ans, plusieurs produits furent utilisés : la farine de soja, du lait écrémé en poudre, la farine de coton et le tourteau de soja (Herbert *et coll*, 1977a). Dans les années 50, certains chercheurs ont testé l'effet de l'ajout de levures de *Saccharomyces cerevisiae* et de *Candida utilis* aux substituts (Herbert *et coll*, 1977a). À la fin des années 60, la plupart des substituts utilisés étaient fabriqués à partir d'un mélange de farine de soja, de levure de bière desséchée (*S. cerevisiae*) et de lait écrémé en poudre auquel de la poudre de jaune d'œufs et de la caséine pouvaient être ajoutés afin d'en augmenter la valeur nutritive (Haydak, 1970).

Les substituts ont toujours été moins appétissants et donc moins consommés que le pollen frais par les abeilles. Il s'agit de la principale raison évoquée pour justifier l'écart de longévité des abeilles et de la quantité de couvain élevé entre des colonies supplémentées avec du pollen frais et celles supplémentées avec un substitut. Pour contrecarrer cette difficulté, certains ont ajouté du pollen aux substituts afin d'augmenter leur appétence, on parle alors de suppléments de pollen (Doull, 1973; Standifer *et coll*, 1973; Stanger et Laidlaw, 1974). L'ajout de pollen augmente également la valeur nutritive du produit. Lorsque l'ajout de pollen est de plus de 5% de la matière sèche, la consommation du supplément augmente sans pour autant améliorer l'élevage du couvain dans la même proportion (Standifer *et coll*, 1973). Cependant, en observant de plus près les données fournies par Standifer *et coll*. (1973), il ressort que la quantité totale de protéines consommées n'est pas significativement différente entre des colonies recevant une diète avec un ajout de 5% de pollen et celles recevant une diète avec un ajout de 20% de pollen, même si la quantité de supplément consommé est différente. Cela est dû à des taux de protéines légèrement différents entre les deux diètes. Puisque dans une diète équilibrée la quantité de protéines est le facteur le plus important sur l'élevage du couvain, il est donc normal que l'écart des populations de couvain ne soit pas significativement différent.

En 1973 et 1974, au Québec, Villeneuve et Beaudesne ont effectué des travaux afin d'élaborer un substitut de pollen en fonction de nos besoins locaux (résultats non publiés). Les colonies utilisées étaient situées dans une serre

chauffée et supplémentée du début décembre à la mi-janvier. La caséine et le tourteau de soja étaient les principales sources de protéines utilisées et la levure de bière était la source de vitamines, de minéraux et d'une partie des stérols. La poudre de jaune d'œufs fournissait principalement les acides gras insaturés, les stérols, la choline et le phosphore. Ils ont également testé leurs mélanges en y ajoutant 25% de pollen (devenant alors des suppléments de pollen). Avant d'être distribué aux abeilles, du miel était ajouté en poids égal à celui du mélange. Ces suppléments de pollen ont permis une augmentation continue de la surface de couvain durant la période d'essai, mais les augmentations étaient le tiers de celles obtenues avec une diète composée uniquement de pollen, qui correspondait aux colonies témoins. Les colonies recevant les substituts subissaient une régression de leur surface de couvain.

Il faut être prudent dans l'interprétation de ces résultats car certaines substances peuvent s'avérer toxiques pour les abeilles. La farine de soja, par exemple, doit être chauffée pour neutraliser les inhibiteurs de trypsine et son contenu en lipide doit être diminué à 0,5-1% si on y ajoute du pollen (Erickson et Herbert, 1980). Herbert *et coll.* (1977b) ont testé différents taux de protéines (5, 10, 23, 30 et 50% de matière sèche) dans un substitut de pollen et ont obtenu un élevage de couvain plus élevé pour les taux de 23 et 30%. Leur source de protéines était du lactosérum fermenté par des levures.

La recherche de nouveaux substituts de pollen s'est poursuivie dans les années 80-90 par plusieurs chercheurs à travers le monde. Différents produits ont été testés seuls ou dans des mélanges : de la lactalbumine, du gluten de maïs, des flocons d'avoine, de l'acide lactique, des lactobacilles ainsi que certains produits commerciaux à base de blé, de soja ou de levures, mais aucune préparation n'a pu égaler le pollen (Herbert *et coll*, 1977a; Herbert et Shimanuki, 1980). Dastouri *et coll.* (2007) ont testé trois différentes préparations de substitut. Ils ont utilisé 25 colonies réparties en cinq groupes. Trois des groupes recevaient l'une des préparations de substitut : le premier recevait un substitut à base de pois moulus, le second à base de lait en poudre, le troisième à base de tourteau de soja, le quatrième groupe recevait du pollen naturel, alors que le cinquième ne recevait rien et servait de témoin. Les colonies recevaient ces diètes pendant une période de deux mois durant laquelle le pollen serait, selon les auteurs, soit disponible en faible quantité dans l'environnement ou bien de faible qualité nutritive. La préparation des diètes n'est pas décrite sauf pour celle du pollen : ils inclurent 100 g d'une solution composée (en proportions inconnues) de sucre, d'eau, de miel, de vinaigre et d'oxytétracycline à 160 g de pollen naturel. Pour la diète à base de pois moulus, ils ont préalablement neutralisé les inhibiteurs de trypsine et éliminé les tannins présents dans les pois avant de les réduire en poudre. Pendant la période de deux mois durant laquelle les traitements ont été effectués, tous les groupes ont subi une diminution de leur élevage de couvain. Le groupe recevant la diète à base de pois en poudre et celui recevant la diète à base de pollen naturel ont eu des baisses similaires de production de couvain qui étaient significativement

inférieures à celles des 3 autres groupes. Les auteurs ont donc conclu qu'une diète à base de pois était un substitut équivalent au pollen naturel. Or, le pollen utilisé pour l'expérience provenait de trappes à pollen placées sur des ruches dans la même région, alors que les auteurs avaient émis l'hypothèse que le pollen à cette période de l'année pouvait avoir une faible valeur nutritive. L'élevage de couvain diminue dans le groupe recevant la diète de pollen naturel, signifiant que les abeilles ont effectivement une carence au niveau de leur alimentation. Les auteurs ont ignoré ces faits et les conclusions de leur étude sont donc discutables quant à la valeur nutritive pour les abeilles d'une diète à base de pois moulus.

Il n'y a pas eu de percée majeure dans ce domaine de recherche au cours des 40 dernières années. Ce sont les mêmes ingrédients de base que l'on retrouve dans la plupart des substituts modernes. Il existe aujourd'hui plusieurs produits commerciaux sur le marché qui ont été développés à partir des connaissances acquises sur la composition du pollen et du pain d'abeille, ainsi que des tests de nourrissage d'abeilles en cagette ou en colonie. Nous vous présentons ici les principaux. Global Patties (Airdrie, Alberta, Canada) possède sa propre préparation à base de sucre, de soja, de levure de bière pouvant contenir 0, 4 ou 15% de pollen naturel. Le Brood Builder® (Dadant and Sons Inc., Hamilton, Illinois, États-Unis) et le Bee Pol® (International Ingredient Corporation, St-Louis, Missouri, États-Unis) sont fabriqués à partir des mêmes ingrédients de base, mais ne sont pas disponibles en mélange avec du pollen. Le Beltsville Bee Diet® (Bio-Serv, Frenchtown, New Jersey, États-Unis) est fait de saccharose et d'un ratio 2 :1

(masse/masse) de levure de torula et de lactalbumine. Il y a également le Feedbee® (Bee Processing Enterprises Ltd., Scarborough, Ontario, Canada), le Bee-Pro® (Mann Lake Ltd., Hackensack, Minnesota, États-Unis) et le MegaBee® (Castle Dome Solutions, Yuma, Arizona, États-Unis). Ces derniers ne fournissent pas la liste de leurs ingrédients. Le MegaBee® est le dernier substitut apparu sur le marché. Il n'y a pas d'étude comparative de ces divers produits entre eux.

4.2 Découverte récente

Schmidt et Hanna (2006) ont extrait certaines substances du pollen à l'aide de 4 solvants et ont pu démontrer l'existence de substances favorisant la prise alimentaire (Tableau IV).

| solvant | % massique du pollen |
|------------------|----------------------|
| Cyclopentane | 2,16 |
| Acétate d'éthyle | 0,99 |
| Éthanol | 28,21 |
| Eau | 53,34 |
| Total | 84,70 |

Tableau IV. Pourcentage massique des substances extraites du pollen en fonction du solvant utilisé. Les solvants sont placés en ordre croissant de polarité de haut en bas (tableau adapté de Schmidt et Hanna, 2006).

Ils ont ajouté ces extraits à un substitut de pollen (Beltsville Bee Diet®) et ont offert le choix entre le substitut seul et le substitut avec extrait à des groupes d'environ 125 abeilles en cagettes et âgées de 1 à 3 jours. Les abeilles avaient également accès à une solution de 50% de saccharose. L'extrait ajouté provenait d'une quantité de pollen équivalent à 5% du poids du substitut. Tous les extraits à

l'exception de celui fait à l'acétate d'éthyle ont favorisé la consommation du substitut (Figure 6).

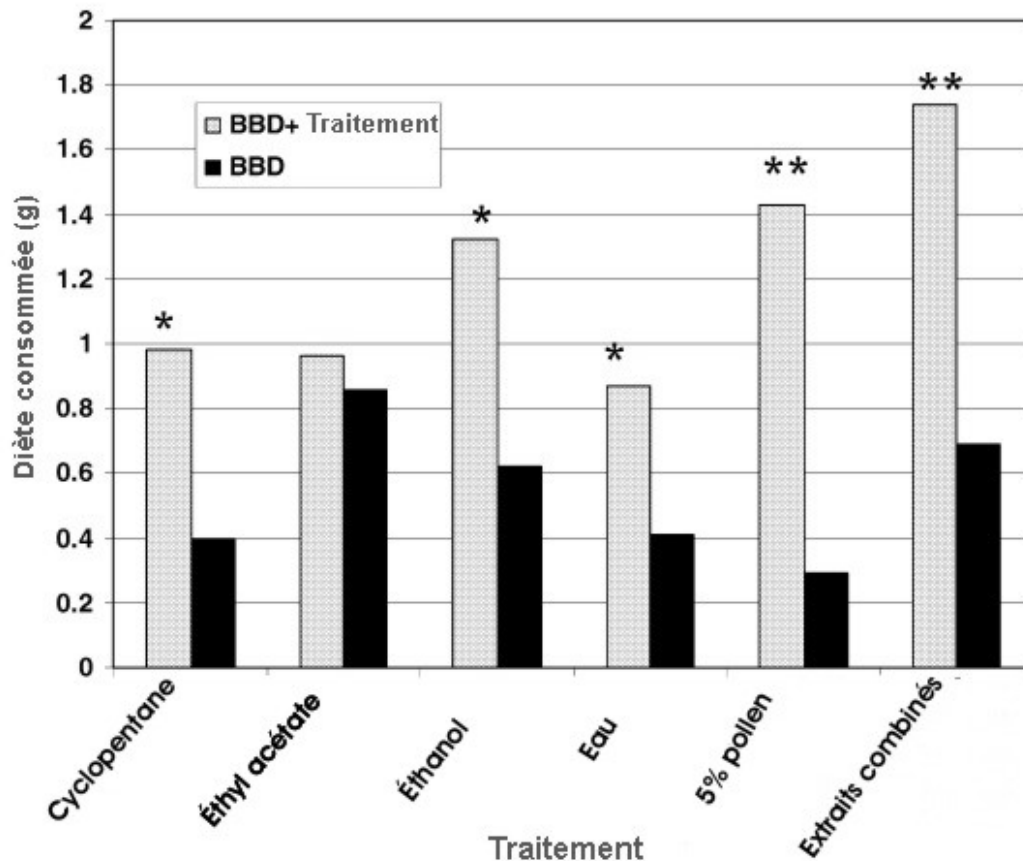


Figure 6. Quantité de la diète consommée par les abeilles en 48h en fonction du traitement. BBD (Beltsville Bee Diet®) * $p < 0,05$; ** $p < 0,001$ (image adaptée de Schmidt et Hanna, 2006).

Ces mêmes auteurs ont par la suite fait des tests de longévité sur des groupes de 60 abeilles âgées d'un jour, placées en cagettes et nourries avec le même substitut contenant les divers extraits. Les abeilles recevaient également de l'eau et une solution de saccharose 50%. Les abeilles nourries avec une diète de pollen seulement vivaient en moyenne 10 jours de plus que celles du groupe le plus performant des diètes contenant le substitut (Tableau V). Ils concluent donc que la valeur nutritive des substituts est le véritable problème et non la quantité

consommée et ils supposèrent qu'il s'agissait d'un phénomène généralisé pour tous les substituts de pollen.

| diète | | survie |
|-----------------|----------------------------------|-------------|
| base | ajout | (jours) |
| pollen | - | 24,4 ± 0,7* |
| substitut (BBD) | extrait du cyclopentane | 14,2 ± 0,4 |
| | extrait de l'acétate d'éthyle | 14,6 ± 0,4 |
| | extrait de l'éthanol | 14,2 ± 0,4 |
| | extrait de l'eau | 12,4 ± 0,4 |
| | 5% de pollen | 9,6 ± 0,4 |
| | extraits des 4 solvants combinés | 13,2 ± 0,4 |

Tableau V. Nombre moyen de jours de survie (\pm erreur type) de groupes de 60 abeilles âgées de un jour, placées en cagettes et nourries avec les diètes mentionnées, de l'eau et une solution de saccharose 50% (données provenant de Schmidt et Hanna, 2006).

* significativement différente ($p < 0,05$) de toutes les autres valeurs

Lors du développement de substituts, on devrait s'appliquer à élaborer un produit que les abeilles consommeront, mais qui sera également nutritif, digestible, utilisable et complet pour les abeilles. Afin d'y parvenir, une meilleure connaissance du métabolisme digestif de l'abeille est nécessaire. Il faudrait également connaître les rôles qu'ont les différents composants du pollen dans la biologie de l'abeille, ce que suggérait déjà Doull en 1973. En effet, les recherches de développement de substituts ont toujours été effectuées en comparant la production de couvain, la production de miel, la survie des abeilles ou le développement de leurs glandes hypopharyngiennes en utilisant différents produits ou combinaisons de produits facilement disponibles. Les démarches scientifiques ne sont généralement pas très élaborées lors de ces recherches. À titre d'exemple, Herbert *et coll.* (1977) ont testé de la nourriture pour chien. C'est comme chercher un remède à une maladie en utilisant tous les produits de la pharmacie les uns

après les autres et en observant leurs effets. Les substituts et les suppléments peuvent tout de même apporter des effets bénéfiques aux colonies d'abeilles.

4.3 Utilisation et effets

Les substituts et suppléments peuvent être présentés aux abeilles sous 2 formes : en poudre et en pâte. La poudre est placée dans des distributeurs au milieu du rucher (Figure 7) tandis que les pâtes sont placés sur les cadres de couvain directement dans la ruche (Figure 8). Les études portant sur les effets de l'utilisation de supplément ou de substitut sont peu nombreuses.



Figure 7. Substitut en poudre à gauche et distributeurs dans un rucher à droite (images de <http://www.glorybeefoods.com/gbf/> et <http://www.feedbee.com/> et obtenues le 8 mars 2007).



Figure 8. Substitut en pâte, entre 2 feuilles de papier ciré, placé sur les cadres à couvain (photo de Pierre Giovenazzo).

4.3.1 Utilisation continue pendant toute l'année

En Australie, Doull (1980) a comparé 5 colonies recevant un substitut commercial de pollen (non spécifié) à tous les 21 jours pendant 12 mois à 5 autres n'en recevant pas (colonies témoins). Il n'est pas précisé si le substitut utilisé était sous forme de poudre ou de pâte. Le substitut n'a pas permis de constater une augmentation significative de l'élevage de couvain des colonies, mais a permis d'augmenter significativement leur production de miel de 38%. L'auteur présume que cette plus grande production de miel serait due à une durée de vie des butineuses qui serait prolongée par la consommation du substitut par ces dernières. C'est la teneur élevée en sucre (56%) du substitut qui aurait stimulé les butineuses à le consommer. Ces données sont à prendre avec modération car les colonies recevant le substitut n'en ont consommé que 5 kg en 12 mois malgré une production de 170 000 abeilles, alors que certaines études ont obtenu des taux de

consommation de 250 à 500 g/semaine et parfois plus chez des colonies supplémentées pendant une courte période (Goodwin *et coll*, 1994; Nabors, 2000). L'auteur ne fait pas non plus mention de la dérive ou d'une évaluation de la présence d'agents pathogènes qui pourraient être des sources d'erreurs importantes. Il convient alors de se demander si les conclusions de cette étude sont pertinentes. Il serait préférable de cibler des périodes où l'utilisation d'un substitut est la plus efficace. Par exemple, des travaux récents démontrent que l'ajout d'un supplément ou d'un substitut tôt au printemps a un effet positif sur la population d'une colonie car cela augmente sa production de couvain en début de saison (Nabors, 2000; Madras-Majewska *et coll*, 2005; Mattila et Otis, 2006a). Les données de ces études sont présentées à la section 4.3.2.

4.3.2 Utilisation au printemps

À Guelph (ON, Canada), Mattila et Otis (2006a) ont réalisé une étude de 3 ans sur l'utilisation d'un supplément ou d'un substitut de pollen tôt au printemps. En 2002, 21 colonies réparties en 3 groupes de 7 ont été utilisées. Les colonies du groupe témoin étaient simplement exposées aux conditions naturelles, les colonies du second groupe étaient supplémentées de la mi-mars à la fin avril avec un supplément de pollen constitué de 2 parties de pollen collecté l'automne précédant et d'une partie de sirop de saccharose donnant un mélange à 18% de protéines (consommation moyenne de 2,5 kg) et les colonies du troisième groupe avaient été exposées à un manque de pollen l'automne précédent, créé par l'utilisation de trappes à pollen de type OAC de la fin août jusqu'à la fin des activités de butinage

des abeilles en octobre. Toutes les colonies étaient situées dans le même rucher et avaient des formes de couleurs différentes à l'entrée de la ruche afin de minimiser la dérive. La production de couvain, de la mi-mars à la fin avril, des différents groupes a été mesurée et est rapportée à la figure 9. À la fin d'avril le groupe supplémenté avait une augmentation significative de plus de 65% de son élevage de couvain par rapport au groupe témoin alors que le groupe carencé en pollen connaissait une diminution significative de plus de 50% par rapport au groupe témoin. La différence entre le groupe supplémenté et le groupe témoin n'était plus significative à la fin de l'été, mais était toujours significative pour le groupe carencé. Cette étude démontre qu'un supplément de pollen distribué tôt au printemps, lorsqu'il y a peu de pollen disponible dans l'environnement, permet une augmentation temporaire de la production de couvain, alors qu'une carence automnale en pollen peut entraîner des répercussions pendant toute l'année suivante. Selon les auteurs, la carence automnale en pollen n'est pas le seul facteur pour expliquer le plus faible élevage de couvain du groupe carencé. Les températures froides du printemps 2002 ont diminué les opportunités de butinage et ainsi permis à l'effet d'une carence automnale de persister jusqu'à la fin de l'été. Lors des printemps 2003 et 2004, dont les résultats sont décrits plus loin dans cette section, les températures étaient plus chaudes et l'effet d'une carence automnale s'est rapidement dissipé.

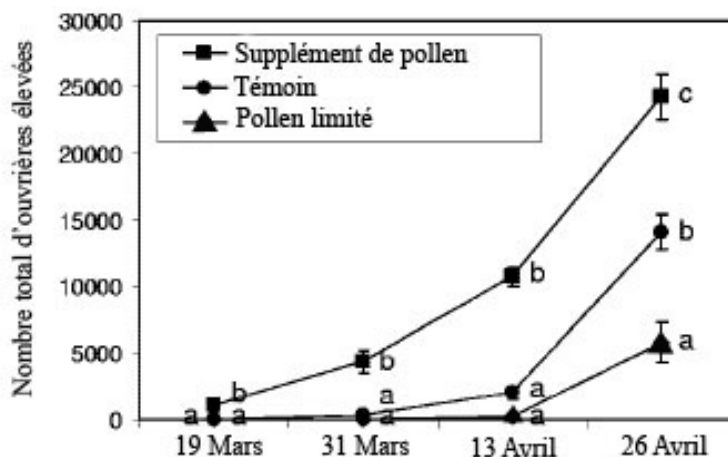


Figure 9. Effet d'un supplément protéique sur le nombre de jeunes abeilles élevées au début du printemps 2002 selon le traitement utilisé. Les colonies recevant du supplément en ont reçu durant toute la période et les colonies limitées en pollen l'ont été de la fin août à octobre 2001 grâce à des trappes à pollen de type OAC. Pour chaque date, les moyennes (\pm erreur type) ayant des lettres différentes sont significativement différentes ($p < 0,05$) (image adaptée de Mattila et Otis, 2006a).

Les mêmes auteurs ont répétés l'expérience aux printemps 2003 et 2004, mais les colonies supplémentées l'étaient du début avril au début mai et ont consommé en moyenne 2 kg de supplément en 2003 et 3 kg en 2004. Un quatrième groupe a également été ajouté, ce dernier recevant un substitut de pollen composé d'un mélange de 3 parties de Bee-Pro® avec 2 parties de sirop de saccharose ayant comme résultat un mélange contenant 20% de protéines et dont la consommation moyenne fut de 2 kg en 2003 et de 2,5 kg en 2004. Les performances de ce groupe ont été similaires à celles du groupe recevant du supplément de pollen. Au printemps 2004, un cinquième groupe a également été ajouté et était carencé en pollen au printemps à l'aide de trappes placées sur les ruches de la mi-avril à la fin juin ; les résultats ont été semblables à ceux du groupe carencé en pollen à l'automne précédent. Les résultats obtenus pour ces deux années ont été similaires à ceux de 2002 : les colonies recevant le supplément ou le substitut ont élevé plus

de couvain que les colonies témoins qui en ont elles-mêmes élevé plus que les colonies carencées en pollen à l'automne et au printemps. Cependant, pour ces deux années, il n'y avait plus de différence significative entre les groupes au début du mois de mai, soit à la fin des traitements, les colonies carencées en pollen ayant récupéré. Au cours des 3 années, il n'y a jamais eu de différence significative concernant les récoltes de miel. Les auteurs concluent que les bénéfices à long terme d'un nourrissage printanier sont négligeables et impossibles à prédire puisqu'il n'y a que pour une des 3 années où cela aurait été rentable chez des colonies ayant subi un stress nutritionnel important. Ils estiment que cette pratique serait rentable dans les cas où un nombre élevé d'abeilles était requis tôt dans la saison, pour des services de pollinisation, pour faire des paquets d'abeilles ou pour diviser les colonies par exemple.

À Portageville (MO, États-Unis), Nabors (2000) a réalisé une expérience utilisant 10 paquets d'abeilles de 1,36 kg dans des ruches avec des cadres sur fondation et répartis en deux groupes de 5 : un recevant un substitut et l'autre n'en recevant pas. Toutes les colonies ont reçu un total de 16 litres de sirop de saccharose 50% afin d'accélérer la production de cire et la construction des alvéoles. Le substitut de pollen utilisé était du Bee Pol® en poudre (à base de sucre, de soja et de levure de bière) ayant une composition de 32% de protéines et 33% de saccharose et donné de la mi-avril à la mi-mai tandis que le groupe ne recevant que le sirop servait de témoin. Les colonies du groupe recevant du substitut de pollen en ont consommé jusqu'à 500 g/semaine (valeur totale non

indiquée). À la mi-mai, les colonies recevant du substitut avaient significativement plus de couvain que celles du groupe qui n'en recevait pas, en moyenne 1,2 cadre de plus. À la fin de l'été, elles avaient également récolté significativement plus de cadres de miel, avec en moyenne 10 cadres de plus que les colonies témoins, quoique des données en poids auraient été plus intéressantes. L'auteur recommande donc de donner un substitut de pollen aux paquets d'abeilles afin d'augmenter leur élevage de couvain et leur production de miel.

Dans une étude de 2 ans réalisée en Nouvelle-Zélande, Goodwin *et coll.* (1994) ont supplémenté des colonies restant dans le même rucher toute l'année et régies pour la production de miel. En 1989, 180 colonies réparties en 9 ruchers furent utilisées ; la période de distribution du substitut de pollen dura 6 semaines à partir de la mi-septembre (printemps) et la plupart des colonies consommèrent 1,5 kg de substitut. En 1990, 200 colonies étaient réparties en 10 ruchers et les colonies recevant du substitut en ont eu 500 g en mai, août, septembre et octobre ; les colonies ont donc été supplémentées en automne et au printemps avec un total de 2 kg de substitut par colonie. Dans chacun des ruchers, les colonies étaient réparties en 2 groupes de 10 (un témoin et un recevant du substitut). La production de miel des colonies était évaluée au début du mois de février de chaque année. Le substitut utilisé contenait 64% de saccharose, 12% de lactalbumine et 24% de levure mélangé avec de l'eau. La production de miel ne différait pas significativement entre les deux groupes pour aucune des deux années. Cependant, les auteurs ne font pas mention de la dérive des abeilles qui pourrait être une

source d'erreur importante et ils n'ont pas mesuré l'élevage du couvain des colonies. Vu l'ampleur de cette étude, ses résultats ont plus d'impact que bien d'autres. L'utilisation de ce substitut n'a pas permis d'augmenter la récolte de miel des colonies avec une consommation similaire à celle des paquets d'abeilles de Nabors (2000) pour lesquels la production de miel avait été augmentée, mais des paquets d'abeilles ayant des besoins nutritionnels inférieurs à une colonie établie, il est normal que les effets d'un apport identique de substitut ait des effets plus marqués chez les paquets. Leurs résultats sont cependant similaires à ceux de Mattila et Otis (2006a), alors que ces derniers travaillaient également avec des colonies déjà établies.

En Pologne, Madras-Majewska *et coll.* (2005) ont mesuré les effets d'un substitut de protéine à base de pupes de faux-bourçons (préalablement congelées pendant 6 mois) fourni pendant 9 semaines à partir du début du mois de mars. Ils ont utilisé 19 colonies réparties en 2 groupes : 10 colonies formant le premier groupe ont reçu 1,5 kg d'un substitut composé de pupes de faux-bourçons, de sucre en poudre et de miel selon un ratio de masse de 2:1:0,5 (composition protéique inconnue) alors que les 9 colonies du second groupe, qui servaient de témoins, ont reçu uniquement un mélange miel et sucre (quantité non spécifiée). Après les 3 premières semaines, le substitut à base de pupes avait permis d'augmenter significativement l'élevage de couvain de 23%. Après 6 semaines, la différence n'était plus significative et après 9 semaines, le groupe témoin avait significativement plus de couvain que le groupe recevant le substitut à base de

pupe, soit 29% de plus. Les auteurs supposent que les colonies recevant le substitut ont moins été portées à collecter du pollen dans l'environnement que les colonies ne recevant que le mélange de miel et de sucre et que la valeur nutritive du pollen frais était plus importante que celle du substitut. Les auteurs conclurent que le substitut permet d'augmenter l'élevage du couvain tôt au printemps lorsqu'il y a très peu ou pas de pollen disponible dans l'environnement et qu'une telle pratique plus tard au printemps peut donner des résultats opposés à ceux désirés lorsqu'il y a de bonnes quantités de pollen disponible dans l'environnement. Ils proposent également que cette expérience soit répétée avec un plus grand nombre de colonies.

En résumé, l'utilisation d'un supplément de pollen tôt au printemps permet d'augmenter la production de couvain d'une colonie, mais l'effet se dissipe lorsqu'il y a suffisamment de pollen naturel disponible dans l'environnement. Cela n'affecte pas la production annuelle de miel chez une colonie normale alors que celle de paquets d'abeilles nouvellement établis peut être accrue.

4.3.3 Utilisation lors de la pollinisation d'une culture

En Nouvelle-Zélande, Goodwin *et coll.* (1994) ont observé l'impact de l'utilisation d'un substitut de pollen sur la production de miel de colonies d'abeilles. Chaque année, les colonies étaient réparties en 2 groupes égaux : un témoin et un recevant le substitut. Trente colonies ont été utilisées en 1989 (plusieurs colonies ont consommé jusqu'à 2 kg de substitut) et 72 l'année suivante

(consommation de substitut inconnue). Leur substitut contenait 64% de saccharose, 12% de lactalbumine et 24% de levure mélangé avec de l'eau. Ils ont fourni ce substitut à des colonies durant la période de pollinisation des cultures de kiwi (i.e. pour une période d'environ 20 jours qui débute à la mi-novembre, soit vers la fin du printemps). Le paramètre mesuré était la production de miel qui était évaluée à la fin du mois de février. Elle n'a pas été significativement différente entre les 2 groupes et ce, lors des 2 années de l'étude. Selon les auteurs, l'utilisation de ce substitut pendant la pollinisation du kiwi n'est donc d'aucune utilité pour augmenter la récolte de miel des colonies d'abeilles. Ils n'ont malheureusement pas mesuré l'élevage de couvain des colonies.

Par contre, en Israël, Kalev *et coll.* (2002) ont démontré que l'utilisation d'un supplément permet de ralentir le déclin des colonies d'abeilles utilisées pour la pollinisation du poivron en milieu clos. Deux suppléments ont été testés, l'un contenant 20% de sucre, 20% de miel, 20% de tourteau de soja, 20% de levure de bière et 20% de pollen et l'autre contenant 27% de sucre, 20% de miel, 27% de tourteau de soja et 27% de pollen. Le tourteau de soja contenait 40% de protéines et la levure de bière 48%, mais la composition du pollen et des mélanges ne sont pas spécifiées. Neuf colonies furent utilisées en 1999 et 24 en 2000. Les colonies étaient réparties en 3 groupes soit un groupe témoin et un groupe pour chaque supplément. Les colonies nourries l'étaient durant toute la période de pollinisation soit 68 jours la première année et 88 jours la seconde. À la fin de la période de pollinisation, il n'y avait pas de différence significative pour la surface totale de

couvain lors de la première année, mais il y en avait une lors de la seconde : les groupes supplémentés avaient 20 dm² de surface totale de couvain de plus que le groupe témoin. Lorsque la surface totale de couvain était divisée en couvain operculé et non operculé, il y avait un écart significatif de 10 dm² de couvain operculé entre les groupes supplémentés et le groupe témoin en 1999 et il y avait des écarts significatifs entre les 3 groupes en 2000 : le groupe recevant le supplément contenant de la levure avait 9 dm² de couvain operculé de plus que le groupe recevant l'autre supplément alors que ce dernier en avait 10 dm² de plus que le groupe témoin. La différence significative de la surface totale de couvain en 2000 était due en majeure partie au couvain operculé. Le groupe témoin avait une quantité de couvain non operculé similaire aux autres groupes, mais le nombre de larves atteignant le stade de puppe était inférieur et ce pour les 2 années. Pour expliquer ces résultats, les auteurs proposent que les abeilles des colonies du groupe témoin aient cannibalisé les larves à cause de la faible quantité de pollen disponible. Les auteurs concluent qu'un supplément de pollen permet de maintenir un niveau stable de couvain dans les colonies d'abeilles utilisées pour la pollinisation du poivron en milieu clos.

4.3.4 Utilisation à l'automne

À Guelph (ON, Canada) lors de l'expérience de Mattila et Otis (2006a) décrite à la section 4.3.2, un autre groupe expérimental de 7 colonies était présent lors des 2 dernières années. Les colonies de ce groupe ont reçu 2 kg du supplément de pollen à l'automne 2002 et 3 kg à l'automne 2003 (contenant 18% de protéines

et composé de 2 parties de pollen et d'une partie de sirop de saccharose). En 2002, les colonies étaient supplémentées de la mi-septembre à la mi-octobre, mais cela ne permit pas d'augmenter la production de couvain ni la production de miel lors de l'année suivante en comparaison au groupe témoin non supplémenté. Les colonies du groupe supplémenté ont cessé l'élevage du couvain plus tard à l'automne. Selon les auteurs, il semblerait que les ouvrières utilisent alors une partie de leurs réserves pour nourrir les larves plutôt que de les conserver pour l'hiver. Ceci expliquerait leurs performances similaires aux colonies témoins malgré l'ajout d'un supplément. En 2003, le nourrissage a duré plus longtemps, soit de la mi-septembre à la fin octobre. Les colonies supplémentées ont alors eu une reprise printanière de l'élevage de couvain plus faible que les colonies témoins et même que celles ayant été limitées en pollen. Les colonies supplémentées à l'automne ont continué d'avoir un faible élevage de couvain et à la fin du mois de juin 2004, elles avaient élevé 64 000 abeilles de moins que les colonies témoins. Selon les auteurs, l'utilisation de supplément de pollen à l'automne ne serait pas une pratique recommandable car les abeilles allongent la période de production de couvain plutôt que de se préparer à hiverner et que dans le meilleur des cas, il n'y avait aucune différence avec le groupe témoin.

5. But du projet

Le but de cette étude était de déterminer si l'utilisation d'un supplément alimentaire s'avère bénéfique pour des colonies d'abeilles en conditions naturelles

ou d'accès restreint au pollen naturel lors de trois différentes périodes d'utilisation.

Les objectifs spécifiques pour chacune des périodes sont les suivants :

1. Évaluer si l'utilisation d'un supplément durant le mois de mai favorise la production de couvain et de miel des colonies ;
2. Évaluer si un supplément fourni lors de la pollinisation d'une monoculture de canneberges en juillet permet le maintien de la croissance des colonies ;
3. Évaluer si un supplément fourni à la fin de l'été permet une augmentation des réserves corporelles lipidiques et protéiques des abeilles, réduit la mortalité hivernale et favorise la reprise printanière des colonies.

Article

Effects of feeding pollen supplement on the development and performance of normal and pollen deficient honey bee (*Apis mellifera* L.) colonies in spring, during cranberry pollination and in late summer.

Georges Martin¹, Pierre Giovenazzo², Pascal Dubreuil¹

¹ Université de Montréal, Faculté de Médecine Vétérinaire, Département de Sciences Cliniques, 3200 rue Sicotte, Saint-Hyacinthe, QC, Canada, J2S 7C6

² Université Laval, Faculté des Sciences et de Génie, Département de Biologie, QC, Canada PRK 7P4

Pour soumission à : Journal of Apicultural Research, mars 2009

Abstract

The effects of pollen availability and supplementation on the development of honey bee colonies were examined during 3 different periods: in spring, during cranberry pollination and in late summer. Each period was a distinct study using 40 different colonies. In each study, pollen supplemented and pollen restricted conditions were created for one month in 10 colonies per treatment group in a 2x2 factorial design experiment. Brood rearing and honey yield were monitored until the end of summer for the spring and the cranberry pollination studies and until the end of the following spring for the late summer study. In the spring study, pollen restricted colonies reared 18% less brood ($p<0.05$) during the restriction period and 11% less brood ($p<0.05$) by the end of summer while pollen supplement had no effect ($p>0.05$). Colonies supplemented during cranberry pollination study reared less brood ($p<0.05$) by the end of summer. In the late summer study, supplemented colonies had a greater ($p<0.05$) spring build-up (60% more brood) and pollen restriction negatively influence ($p<0.05$) brood rearing. Honey yield was decreased ($p<0.05$) by 15 kg in colonies exposed to a pollen restriction in spring. It was increased by 1.3 kg ($p<0.05$) in pollen supplemented colonies during the cranberry pollination study and was reduced by 4.2 kg ($p<0.05$) in pollen restricted colonies in the late summer study. In conclusion, pollen supplement improved colonies population when fed in late summer and not during spring or in cranberry pollination and was without impact on honey yield.

Keywords: honey bee, nutrition, pollen supplement, cranberry pollination, brood production, amino acid, *Apis mellifera*

Introduction

Pollen is of primordial importance for honey bees (*Apis mellifera* L.). It provides proteins, lipids, vitamins and minerals that bees require for their growth and brood rearing (Herbert, 1992; Somerville, 2005). Pollen should contain between 20 and 25% crude protein (Somerville, 2005) as well as the 10 essential amino acids that honey bees require for their development (DeGroot, 1953). Cholesterol, vitamins and minerals are also necessary and provided by the pollen (Herbert, 1992).

In many industrialized countries, modern agricultural practices led to an impoverishment of the flora sources over large field areas. These practices reduce the availability of diverse pollen sources which may result in severe detrimental effects on the nutritional status of the honey bee (Biesmeijer *et al*, 2006; Keller *et al*, 2005). In these monofloral fields, natural pollinators are absent or in insufficient numbers and producers need pollination services for their crops. Honey bee colonies are introduced at high densities for pollination in monofloral crops. These factors may have a negative impact on brood rearing (Somerville, 2005) and colony performance. Supplementation of the colonies with either a pollen supplement or a pollen substitute seems to be an appropriate solution to avoid the negative impacts of such practices on bee colonies. These pollen sources could stimulate brood rearing when used at specific periods of the honey bee colony cycle (Doull, 1973; Standifer *et al*, 1973; Stanger & Laidlaw, 1974; Herbert *et al*, 1977; Nabors, 2000; Mattila et Otis, 2006a).

In northern temperate climates, colonies resume brood rearing in early spring. It is also the period where colonies are most subject to pollen shortage. Different studies have demonstrated that feeding pollen supplement during this period increases brood rearing. In Missouri (USA), Nabors (2000) showed that feeding packages of bees with pollen substitute from mid-April to mid-May increases brood rearing and honey yield. In Canada, in a 3 year study, Mattila & Otis (2006a) showed that normal colonies fed with a pollen supplement or a pollen substitute from mid-March to the end of April improved brood rearing by 65%. The same authors also showed that colonies limited in natural pollen by the use of pollen traps reared 50% less brood. However, none of the treatments affected summer honey yield. In fact, effects of supplementation and limitation of food on brood rearing both disappeared once natural pollen became available in sufficient amount. In New Zealand, Goodwin *et al.* (1994) also reported that spring feeding of a pollen substitute did not enhance summer honey yield. In Poland, Madras-Majewska *et al.* (2005) fed normal colonies with a pollen substitute from the beginning of March to the beginning of May. After 3 weeks of feeding, fed colonies had more brood than controls but after 9 weeks of feeding, it was the opposite. The authors concluded that the nutritional value of the substitute was not as good as natural pollen and the presence of the substitute inside the hive induced a reduction of pollen foraging since pollen stock in the hive influence the foraging behaviors of the bees (Fewell & Winston, 1992; Dreller *et al.*, 1999; Fewell & Bertram, 1999).

Feeding a pollen supplement when natural pollen is available in sufficient amounts had no positive impact on normal colonies. A nutritional deficiency in natural pollen may be overcome by such practice (Herbert, 1992). In the Quebec area (QC, Canada), the composition of the pollen collected by honey bees during the month of May has been reported to have less than 20% crude protein (MAPAQ, 1975). Feeding pollen supplement to colonies in this environment could benefit them.

After their spring build-up, colonies are ready for pollination services in fields that are mainly monofloral. Such conditions may negatively affect the development of the colonies as observed in the pollination of sweet pepper (*Capsicum annuum*) in greenhouses (Kalev *et al.*, 2002). Feeding a pollen supplement to these colonies partially reverse this effect and maintained a sufficient brood rearing needed for a normal development of the hive. In kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) orchards, a pollen substitute had no positive impact on the honey production and fed colonies collected the same amount of pollen from kiwifruit than control colonies and less pollen from other floral sources (Goodwin *et al.*, 1994). Unfortunately, brood rearing was not monitored.

The introduction of pollinators is essential for cranberry (*Vaccinium macrocarpon*) pollination. Local beekeepers noticed that honey bee colonies often weaken during and after cranberry pollination in July. This could be the result of low nutritional value of cranberry pollen, low nectar availability, high competition

due to colony density or a combination of these factors. Feeding a pollen supplement during the pollination period might have a positive impact on the colonies like in sweet pepper pollination.

At the end of the productive season in Canada, beekeepers prepare their colonies for the overwintering period. The last emerging bees in late summer are those who will have to survive to the winter and resume brood rearing at the next spring. These long-lived winter bees have higher amounts of body storage proteins (Otis *et al*, 2004) and fat bodies are as developed as nurse bees and more abundant than in forager bees (Keller *et al*, 2005). Pollen supplement feeding in late summer could promote synthesis of greater amounts of body storage compounds, resulting in a higher number of bees surviving to the winter and also a higher brood rearing rate in spring.

In Canada, during two consecutive fall seasons, Mattila & Otis (2006a) fed a homemade pollen supplement from mid-September to mid-October without any significant effect on next spring brood rearing in the first year. In the second year, colonies were fed until the end of October. Supplemented colonies had a lower spring brood rearing when compared to controls. The pollen supplement stimulated brood rearing during the fall feeding period, the bees may have used a part of their body nutritional reserves for the nursing effort instead of keeping them for overwintering resulting in higher bee mortality and slower colony spring build-up.

Even if their work showed a negative effect of fall pollen supplement feeding, an earlier fall treatment may have provided different results.

The objective of this study was to measure the effect of a pollen supplement on brood rearing and honey yield in colonies shortened or not in natural pollen at three different periods: in spring, during cranberry pollination and at the end of the summer in Quebec.

Materials and methods

Three different studies on *Apis mellifera* colonies, using 40 different Langstroth hives for the first two studies and 28 hives for the third one, were conducted during three different periods: in spring, during cranberry pollination and late summer 2007 in the province of Quebec (Canada). The hives were allocated in 4 different treatment groups according to a 2x2 factorial experimental design with pollen supplementation and natural pollen restriction as main factors. Hives were randomly assigned to one of four different treatments.

Group 1 (C): control (natural conditions)

Group 2 (PR): natural pollen restricted

Group 3 (PSR): pollen supplementation in pollen restricted conditions

Group 4 (PS): pollen supplementation in natural conditions

Pollen restriction was produced using a bottom board pollen trap. Traps of Shaparew model with round holes of 5 mm in an aluminum sheet were used in spring and late summer studies. For the cranberry pollination study, traps were similar to the Ontario Agricultural College model and had 2 sheets of square wire mesh (5 meshes per linear 2.5 cm) spaced by 1 cm.

The pollen supplement patties of 450 g contained 15% of natural irradiated pollen, sugar, soy flour, yeast and water (Global Patties, Airdrie, AB, Canada); the amino acids composition is reported in Table I. The patties were fed twice a week on the top of the bottom brood chamber. For the 3 different studies, the quantity of patty placed in the hive at each feeding time was chosen to be sufficient for bees to have an unlimited access to it (i.e. the patty was not completely eaten by the time of the next feeding).

All colonies in this study were infested by the parasitic mite *Varroa destructor* and had been treated the previous fall with formic acid (MiteAwayII™, NOD Apiary Products Limited, Frankford, ON, Canada) and a late fall oxalic acid treatment (dripping method, 40 g/L in a sucrose 1:1 solution, 5 mL between frames of the hive body covered with bees).

Study 1: Spring feeding experiment

Forty colonies from the Deschambault research Center (CRSAD; 46° 40' N, 71° 55' W) were assigned to one of the 4 previously described treatments and

were located in the same apiary. Colony strength varied between 4 and 8.5 frames of bees in a 9 frames hive body. A second hive body and honey supers of 9 frames were added when needed. Queens were from different genetics (local hybrid stock: Italian and Primorsky) and of different ages (maximum 2 years old). To minimize drift, colonies were grouped by treatments which were 10 meters apart and the hives within each treatment were oriented differently. On May 18th and 25th, all colonies received an oxalic acid treatment applied as previously described. The feeding experiment was conducted from May 4th to June 6th. Twice a week, colonies were fed 112.5 g of pollen supplement (a quarter of a patty) for a total of 900 g; residual supplement from the previous feeding was removed and weighted. Collected pollen was weighted and stored at -18°C twice a week. During the first week of May, June, July and August, total brood was evaluated by measuring brood area on each frame (20 cells in a square inch). On each brood assessment, varroa infestation assessment was performed by natural drop over a 7 day period (on full hive bottom surface sticky boards). Honey production was measured by July 26th. In early May, before the beginning of the treatment, bee samples were taken to detect presence/absence of *Nosema sp.* (*Nosema apis* or *Nosema ceranae* without distinction; detection method from CAPA, 2007) and *Acarapis woodi* (detection method from OIE, 2005).

Study 2: Cranberry pollination feeding experiment

Forty colonies from a commercial beekeeper were used. Each colony had one brood chamber and one honey super, both with 10 frames. All hives were

selected to contain between 8 and 9 frames of brood and the same number of bees. All colonies were fed pollen supplement (450 g Bee-Pro® with 4% pollen) 7 days before the beginning of the experiment. All colonies were in a pollination group that pollinated apple yard in late May (10 days) and the blueberry (*Vaccinium angustifolium*) crops for 19 days in the Lac Saint-Jean area (48° 20' N, 72° 05' W). After 7 days outside of the blueberry fields, they were moved to cranberry fields on July 3rd in the Quebec area (46° 17' N, 71° 52' W).

Colonies were randomly disposed in 10 blocks of 4 hives along the same cranberry field. All four treatments were present within each block and randomly assigned to the 4 hives. Hives were often oriented similarly so cardboards of different shapes and color were placed on the front of them to minimize drifting between colonies. Colonies were under treatments from July 3rd to July 23rd; twice a week, colonies were fed 450 g of pollen supplement for a total of 2.7 kg. Residual supplement from a previous feeding was removed and weighted. At the same time, the pollen was collected from the traps then weighted and stored at -18°C. On July 24th, colonies were moved in 2 apiaries 9 km apart in the Montreal area (45° 36' N, 72° 54' W) and one honey super was added to each hive. All the colonies within each block were transported in the same apiary so colonies of five different blocks were present in each apiary. Brood area was evaluated on July 3rd, July 23rd and August 31st. Varroa infestation assessment was performed by washing 300 bees in each hive using the hand-stirred alcohol wash method (Rinderer *et al*, 2004) on July 23rd. Honey production was measured on July 23rd

and August 31st. Bee samples were taken in July to detect presence/absence of *Nosema sp.* and *A. woodi*.

Study 3: Late summer feeding experiment

On July 26th 2007, 28 mated sister queens (from 1 mother queen) were introduced in newly prepared colonies (nuclei) with 5 frames of sealed brood with their worker bees, 1 frame of honey and 3 empty frames. One of the 4 previously described treatment was randomly assigned to each colony. Colonies were placed in the same apiary (46° 42' N, 71° 45' W) and grouped by treatment. Groups were 5 meters apart and hives were oriented differently to minimize drift. Colonies were under treatment from August 15th to September 17th 2007. Twice a week, colonies were fed 225 g of pollen supplement for a total of 1.8 kg; residual supplement from previous feeding was removed and weighted. At the same time, the pollen was collected from the traps then weighted and stored at -18°C. Brood area was evaluated on August 15th and September 17th 2007 and also on May 5th and June 5th 2008. An average of the number of frames with bees seen from the top and from the bottom of the hive body was used for the evaluation of colony strength before and after overwintering on October 31st 2007 and April 28th 2008. Varroa infestation assessment was done by natural mite drop over a 7 day period at each time a brood evaluation was done. Honey yield was recorded from August 15th to September 17th. Area of pollen stored in the hives was measured on September 17th. On September 25th, colonies received sucrose syrup (67.7% sucrose w/w; Lantic Sugar Limited, Montreal, QC, Canada) in drums placed in the apiary. Hives

were weighted before and after overwintering to measure syrup intake. To control varroa mites infestation, a formic acid treatment (MiteAwayII™) was applied on August 27th. An oxalic acid treatment was applied on October 28th as previously described. All hives were wintered indoors (October 31st to April 28th) in a environmentally controlled room at $4.0 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ and $40 \pm 5\%$ relative humidity. Lipid and nitrogen were measured from bees taken inside the hives (on the top of the frames) on August 15th, September 17th, October 31st and April 28th. Bee samples were dried in a desiccator at 100°C for 12 hours. Nitrogen was measured in triplicate, using 0.1g grinded dry bees with the Kjeldahl method (AOAC, 2000) in a Tecator Kjeltex Auto Analyser 1030 (Tecator Inc., Herndon, VA, USA). Lipids were measured in triplicate, using 1g grinded dry bees with ether extraction (AOAC, 2000) in a Tecator Soxtec System HT (Tecator Inc., Herndon, VA, USA).

Pollen and pollen supplement analyses

Protein and amino acid compositions analysis were conducted on the pollen supplement and on 250 g pollen samples collected during spring, cranberry pollination and late summer studies. The samples of spring and late summer pollen were representative of the entire trapped period while for cranberry pollination, the sample contain only cranberry pollen which represented more than 90% of the pollen collected for this period. These analyses were done by the Dairy and Swine Research and Development Center (Agriculture and Agri-Food Canada, Sherbrooke, QC, Canada). Samples were ground to pass a 0.5 mm screen and acid-hydrolyzed with 6 N phenol-hydrogen chloride for 24 hours at 110°C (AOAC,

2000). The amino acids concentration of the hydrolysates was determined by the isotope dilution method (Calder *et al.*, 1999) according to the method described by Borucki Castro *et al.* (2007). The amino acids methionine, cysteine, asparagine, aspartic acid, glutamine and glutamic acid were analyzed separately by subjecting the samples to performic acid oxidation prior to the acid hydrolysis (AOAC, 2000) and were analyzed with an amino acid Analyser Biochrom 20 (Amersham Pharmacia Biotech, NJ, USA). Tryptophan was the only amino acid not analyzed because it cannot be determined by acid hydrolysis.

Statistical analyses

SAS software (version 8.02; SAS Institute inc., Cary, NC, USA) was used for data analysis. ANOVA factorial decomposition was conducted to determine significant effects of treatments on brood production and honey yields. One way ANOVA was conducted for pollen collected in traps and for pollen supplement consumption. The mixed models procedure (proc mixed) was used for repeated measures and when the data was not under a normal distribution, analyses were conducted with “proc GENMOD”. Spring and late summer feeding trials were completely randomized designs and cranberry pollination trial was a randomized complete block design. Means are reported with standard error, the significance level was set to $\alpha = 0.05$ for all tests. When swarming occurred in a hive, the hive was removed from the experiment but data prior to this event was kept.

Results

Pollen and pollen supplement analysis

The analysis of the pollen collected by bees and of the pollen supplement is reported in Table I. They all contain at least 20% crude protein. Nine of the ten essential amino acids to the honey bee were analyzed and all were over the requirements (DeGroot, 1953) in the cranberry and the late summer pollens. The spring pollen had a small deficiency in isoleucine (3.7% vs 4.0%) and the pollen supplement was slightly under the requirement for methionine (1.4% vs 1.5%).

Study 1: Spring feeding experiment

Before the beginning of the experiment, on May 4th, the mean brood area and the varroasis infestation levels were not significantly different ($p>0.05$) between the 4 treatments and average $11\,733 \pm 587$ brood cells ($n=40$) and 3.3 ± 0.6 varroas ($n=40$) drop per day (Fig 1a and 1b). Nosemosis and acariosis were not detected in any group.

During the treatments, PSR and PS colonies consumed 680 ± 14 g ($n=20$) of pollen supplement without any significant difference between the two groups ($p>0.05$). PR and PSR colonies collected similar amounts of natural pollen 2305 ± 308 g ($n=20$) ($p>0.05$; Table II). At the end of the treatments (short-term effect), on June 6th, pollen restricted colonies had reared 18% less brood ($p<0.05$) than unrestricted ones and there was no significant effect ($p>0.05$) of pollen supplement (Fig 1a). When all the evaluations of brood are analyzed together as repeated

measures (from June to August; long-term effect), there was no pollen supplement effect ($p>0.05$) on brood rearing and the significant negative pollen restriction effect ($p<0.05$; Fig 1a) was still present: PR+PSR ($n=20$) reared 11% less brood than C+PS ($n=20$). Honey yields were smaller by 15 kg ($p<0.05$) for the pollen restricted colonies (Table II). During the season, varroasis infestation levels were significantly ($p<0.05$) higher for the colonies exposed to pollen restricted conditions in spring than those that were in natural conditions (Fig 1b).

Study 2: Cranberry pollination feeding experiment

At the beginning of the experiment, on July 3rd, mean brood population per colony, $24\,217 \pm 620$ ($n=40$) brood cells, was not significantly different ($p>0.05$) between the 4 different treatments (Fig 2) and varroa alcohol wash lectures were all 0 or 1 varroa at the exception of one colony with 4 varroas in PSR treatment group. Nosemosis and acariosis were not detected in any group.

During the treatment period, pollen supplement consumption, 1632 ± 31 g ($n=20$), was not significantly different ($p>0.05$) between PSR and PS colonies but the amount of pollen collected in the PR hive traps was two times higher ($p<0.05$) than the PSR (Table III). At the end of the treatments (short-term effect), on July 23rd, there was a significant interaction between the 2 main factors of the experiment on the brood population: in fact C colonies had significantly ($p<0.05$) more brood (near 20% more) than any other group while there was no significant difference ($p>0.05$) between the 3 other groups (Fig 2). On August 31st, there was

a significant ($p < 0.05$) negative impact of the pollen supplement on brood population. PSR+PS colonies have 21% less brood population than PR+C groups (Fig 2). Between July 3rd and 23rd, the pollen supplement significantly ($p < 0.05$) improved honey yield by 1.3 kg while a pollen restriction caused a reduction of it by 1.3 kg ($p < 0.05$). However these differences were very small as the maximum honey yield for a group during this period was 1.7 ± 0.6 kg ($n=10$; Table III). On August 31st, there was no significant difference ($p > 0.05$) on honey yield between the treatments (Table III).

Study 3: Late summer feeding experiment

Before the beginning of the experiment, on August 15th, the mean brood population per colony was $17\,513 \pm 630$ ($n=28$) brood cells (Fig 3a), the varroasis infestation levels was 16 ± 4 varroas drop per day (Fig 3b) and they were not significantly different ($p > 0.05$) for all 4 treatments. Nosemosis and acariosis were not detected in any group.

During the treatment period, PSR and PS consumed equivalent amounts (942 ± 43 g ($n=14$)) of pollen supplement and the quantity of pollen collected in the traps (398 ± 45 g ($n=14$)) was not statistically different ($p > 0.05$) between PR and PSR (Table IV). At the end of the treatments, on September 17th, brood area was significantly affected by the two main factors of the experiment (Fig 3a): colonies fed pollen supplement (PSR+PS) reared 49% more brood than the other groups (PR+C) and colonies in pollen restricted conditions (PR+PSR) reared 26%

less brood than the colonies in natural conditions (C+PS). After overwintering, on April 28th 2008, four colonies were removed (two in PR, one in C and one in PSR) from the experiment due to strong evidence of bees drifting from other colonies. On May 8th, the colonies fed in late summer 2007 had a higher spring brood rearing with 60% more brood than colonies that were fed (PSR+PS vs. PR+C) while the pollen restriction had no significant ($p>0.05$) effect (Fig 3a). When brood evaluations from September 2007 to June 2008 were analyzed together as repeated measures (long-term effect), both factors had significant ($p<0.05$) effect on brood rearing. Colonies exposed to a pollen restriction from August 15th to September 17th reared 9% less brood from August 2007 to June 2008 than colonies with normal access to natural pollen and colonies fed from August 15th to September 17th reared 36% more brood from August 2007 to June 2008 than unfed colonies. From August 15th to September 17th 2007, colonies restricted in natural pollen produced 4.2 kg less honey than non-restricted colonies and the pollen supplemented hives produced a similar amount than the non-supplemented ones (Table IV). During the study, varroa infestation levels were similar for all groups (Fig 3b). Pollen stores in hives, on September 17th, were 53% smaller in colonies exposed to pollen restricted conditions but were not affected by the pollen supplement feeding (Table IV). Colony strength (number of frames with bees) was not significantly different ($p>0.05$) between the groups before overwintering on October 31st. On April 28th however, PSR+PS colonies had ($p<0.05$) 2.7 more frames of bees than PR+C groups (Table IV). The strength of the colonies was not significantly ($p>0.05$) affected by the pollen restriction. Colonies that were in

pollen restricted conditions (PR+PSR) in late summer consumed significantly ($p < 0.05$) 1.06 kg less sugar syrup from October 31st to April 28th than colonies that were in natural conditions (PS+C) while the effects of feeding pollen supplement of the colony weight and winter syrup consumption were not significant (Table IV).

Lipids and nitrogen content of the bee samples were not significantly affected ($p > 0.05$) by the late summer treatments; there was only a significant time effect (Fig 4 and Fig 5).

Discussion

To our knowledge, this is the first study to examine the effects of supplement feeding and natural pollen restriction in cranberry fields on brood rearing and honey production. It is also the first time that cranberry pollen protein content and amino acid composition are reported. It's also the first study to examine long-term effects of supplement feeding and natural pollen restriction at the end of summer on wintering, lipids and nitrogen body contents and on brood rearing.

The choice to use pollen supplement instead of pollen substitute was made following a preliminary trial done in 2006. Colonies stopped substitute uptake as natural pollen became available in the environment but continued to eat the pollen supplement. It is known that pollen supplement consumption increases with the

increase proportion of natural pollen content (Standifer *et al*, 1973). The supplement used for the present study contained 15% of natural pollen on a dry matter basis. In comparison to the reported needs in essential amino acids for bees, the supplement had a small deficiency in methionine (DeGroot, 1953). The natural pollen used in this preparation is from unknown origin.

Study 1: Spring feeding experiment (feeding from May 4th to June 6th)

The efficiency of pollen traps used in this study is unknown but reduced brood rearing and honey yield in PR and PSR hives (Fig 1a and Table II). Similar observations on brood rearing and honey production have been reported by Duff & Furgula with Ontario Agricultural College pollen traps used during the entire season; when the pollen was trapped on alternate weeks (one week on two for the entire season), the colonies were not affected (1986a and 1986b). However, Nelson *et al.* (1987) reported that continuous pollen trapping (with Ontario Agricultural College pollen traps) on hives during the entire season had a very small impact on brood rearing and honey production; Schmickl & Crailsheim (2001) reported that a colony where all the pollen was manually removed was able to recover up to 50% of its initial stock in 5 days with the presence of a pollen trap in front of the hive entrance.

In August, the pollen restriction created from May 4th to June 6th was still the only significant factor that influenced brood rearing. It is difficult to explain why the pollen restriction in spring negatively affected the colonies after a normal

access to summer pollen. This is in contradiction with other studies where a pollen restriction effect disappeared rapidly after a free access to natural pollen (Stanger & Laidlaw, 1974; Mattila & Otis, 2006a). The reason of such a result is unknown but the varroa infestation levels (Fig 1b) were also higher for the pollen restricted groups (PR+PSR). A high varroa infestation may cause a reduction of brood rearing, bee population and honey yield of a colony (Murilhas, 2002). For an infestation level corresponding to a daily varroa drop of 11 varroas per day in September, Giovenazzo & Dubreuil (2006) reported a reduction of 5% on brood and bee populations of a colony in fall. So it can be assumed that varroasis had a negative impact on these colonies but other unidentified factor might be in place. Note that the higher varroas drops from May 25th to June 1st (Fig 1b) were caused by the oxalic acid treatment.

Honey yield was not improved by use of a pollen supplement. This data is in accordance with other studies on pollen supplement or pollen substitute fed to normal colonies in spring (Goodwin *et al*, 1994; Mattila & Otis, 2006a). In fact, the supplement did not stimulate brood rearing and was consequently without effect on honey. Honey yield was however influenced by the spring pollen restricted conditions. Two studies using normal colonies in a 3 year experiment reported a negative impact of pollen traps only in one out of 3 years (Nelson *et al*, 1987; Mattila & Otis, 2006a). Mattila & Otis (2006a) associated the reduced honey yield to a colder temperature on that year. In the present case, the varroasis might have affected the brood rearing of colonies exposed to natural pollen restriction

resulting in lower bee population and lower honey yield. It is difficult to isolate the effect of pollen restriction and the effect of varroasis from one another.

Even if the average of pollen collected in the traps of PR and PSR differed by nearly 1 kg, there was no significant effect of feeding pollen supplement. This is probably due to the data variation within each group.

Study 2: Cranberry pollination feeding experiment (feeding from July 3rd to 23rd)

Local beekeepers reported that their colonies often weaken after cranberry pollination and to our knowledge, the reason is unknown but is probably associated to a pollen and/or a nectar deficiency. Similar observation has been reported in kiwifruit pollination and the use of a pollen substitute did not improve the situation (Goodwin *et al*, 1994). Cranberries are located in areas where there are very few other flower sources available and it has been reported that bees fed with mixed pollen live longer than bees fed single pollen (Schmidt *et al*, 1987). Only one source of pollen increases the risk that some essential nutrients may be absent or insufficient. However, it appeared that cranberry pollen is nutritionally balanced for honey bees on the essential amino acids and proteins level (Table I).

After the treatments (short-term effect), on July 23rd, C colonies had a higher brood population than the 3 other groups (Fig 2). The PR colonies had significantly less brood than C colonies; this means that pollen traps really had a pollen restriction effect in this study. The PSR colonies should have reared more

brood than PR but it was not the case; this is in contradiction with previous studies where feeding a pollen supplement or a pollen substitute enhance brood rearing during pollen shortage (Doull, 1973; Standifer *et al*, 1973; Stanger & Laidlaw, 1974; Nabors, 2000; Kalev *et al*, 2002; Madras-Majewska *et al*, 2005; Mattila et Otis, 2006a; Dastouri *et al*, 2007). The presence of the pollen supplement reduced the pollen foraging effort of the colonies. The first evidence for this is a reduction of nearly 50% of the pollen collected in the pollen traps for the colonies that received the supplement. The second evidence is the higher honey yield for pollen supplemented colonies. Other studies have shown that pollen stocks in the hive influence the foraging behaviors of the bees: low stocks increase pollen foraging and vice versa (Fewell & Winston, 1992; Dreller *et al*, 1999; Fewell & Bertram, 1999). The PSR colonies also had a restricted access to natural pollen. So PSR and PS oriented their foraging effort more on nectar while they were on a nutritionally deficient diet (Table I). Despite the nutritional deficiency of the pollen supplement was minor, it might have been sufficient to affect PSR and PS brood rearing. It is also possible that a non-monitored factor influenced the results of this study and could explain the higher brood rearing of PR colonies.

Very small honey yields in the cranberry crop clearly put in evidence that nectar was a limited resource: PR colonies even consumed 0.9 kg of honey previously stored. This limitation could be the result of a poor nectar supply by the cranberry and/or of the high colonies density in the crop. Colonies going into cranberry pollination without honey reserves would therefore be exposed to a

higher risk of starvation. It would therefore be interesting to test sugar syrup feeding during cranberry pollination and a combination of syrup and pollen supplement feeding. Syrup feeding could stimulate brood rearing and also raise the number of forager bees which may help cranberry pollination. It is now a common practice in kiwifruit orchards (Somerville, 2005) because research showed that such practice increases kiwifruit pollen collection (Goodwin *et al*, 1991) and that bees are more active in the target crop.

At the end of August, there was a negative pollen supplement effect on brood population. It is possible that some colonies were exposed to a lack of honey. Honey yield was evaluated only at the end of the pollination; honey yield fluctuations during this period and honey stock of the colonies at the beginning of the pollination are unknown. Further investigations would be needed to clarify this observation.

Pollen supplementation of colonies in cranberry pollination has no benefit them as long as brood rearing is concerned and with the small gain on honey yield, it would not be profitable to beekeepers.

Study 3: Late summer feeding experiment (feeding from August 15th to September 17th)

Small amounts of pollen were collected in the traps but it seems to be more a response to the brood quantity in the hives (Pankiw *et al*, 1998) than a period of

pollen shortage. At the end of the treatments, on September 17th, the pollen supplemented colonies (PSR+PS) had reared more brood than the others (PR+C) so the supplement had a positive effect in the presence of a sufficient and nutritive natural pollen. The pollen restricted colonies (PR+PSR) had a lower brood rearing than the others (C+PS) and they also stored less pollen (Table IV) indicating that pollen traps really restricted natural pollen intake and produced a shortage effect. However, these differences in brood population did not result in differences on colony strength (number of frames with bees) on October 31st. This is probably due to the presence of old foragers because after wintering, on April 28th, supplemented colonies (PSR+PS) had an average of 2.6 more frames of bees than non-supplemented ones (PR+C). Colonies with more bees had a stronger working force for food collection and for brood rearing as seen on May 5th; brood evaluation showed that PSR+PS reared 60% more brood than PR+C. There was no pollen restriction effect on bees or brood population so colonies were able to recover rapidly in the previous fall or earlier in the spring. These results are consistent with other studies where colonies recovered rapidly from pollen shortage as long as they have access to a natural pollen source (Stanger & Laidlaw, 1974; Mattila & Otis, 2006a). Mattila & Otis (2006a) have an interesting theory about colonies exposed to pollen shortage in late summer or in autumn; they suggest that the bees probably reduced brood rearing to maintain their body reserves for wintering instead of using them for nursing activity and thus increased their winter survival. When brood rearing from September, May and June were analyzed together as repeated measures, both factors were significant. Pollen

supplement feeding in late summer have a positive influence on brood rearing for much more than the feeding period only. From September to June, fed colonies reared 36% more brood compare to the 60% in May only, showing that the brood rearing stimulation is slowly disappearing. It is difficult to explain why pollen restriction had a significant effect after the result obtain from May brood analyze. The small differences at each month seem to be sufficient to provide a significant impact while a focus on a single month (May) missed it. The fact is that the difference between restricted and unrestricted colonies is very small (9%) and the September brood is mainly responsible of it.

Nitrogen and lipid content in bees (Fig 4 and Fig 5) were not affected by the treatments. This is in accordance with Duff & Furgula (1986b) who found no difference on the nitrogen levels in worker bees from control and pollen restricted colonies and Mattila & Otis (2006b) did not observed any effect of pollen supplementation or pollen restriction on the nitrogen content of workers. Haydak (1970) reported a positive effect of feeding pollen supplement on nitrogen body content of newly emerged bees, but our sampling method did not take the age of bee in consideration. These physiological status indicators seem to be related to each other before overwintering. As nitrogen levels increase, lipid levels decrease. After overwintering, nitrogen and lipid content in bees had decreased of 2% and 1.5%, respectively. This means that bees used these storage compounds. These data suggest that colonies exposed to pollen dearth conditions or receiving pollen

supplement will not undergo similar individual body changes but will rather modify their brood rearing to match food availability.

In conclusion, spring pollen supplementation does not improve colony build-up when natural pollen is available in good quantity. However, a pollen rarity during this period can negatively affect brood rearing and summer honey yield. With late summer feeding, more bees survive wintering and colonies have a stronger spring build-up. In the present study, pollen supplement did not improve brood rearing in cranberry. There is no benefit of pollen supplement feeding on honey yields for any of the three feeding periods. In summary, beekeepers would benefit of using pollen supplement in late summer to improve brood rearing: to have stronger colonies for early crops pollination or for division (nuclei).

Acknowledgements

We tank all the CRSAD staff, especially: E Houle, M Benoît, JP Lefèvre and S Gingras for their technical support.

Tables

Table I. Crude protein level (% dry matter) and amino acid composition of cranberry pollen, of a representative sample of the pollen collected by bees in spring and late summer feeding experiment, and of the pollen supplement fed to colonies. The required minimum levels for an optimal growth of the honey bee are also indicated.

| | Pollen source and composition ^a | | | | minimum level ^d |
|------------------------------|--|-----------|--------|------------|----------------------------|
| | Spring ^f | Cranberry | Summer | Supplement | |
| Alanine | 4.8 | 5.1 | 4.8 | 4.6 | 0 |
| Glycine | 4.1 | 4.6 | 4.0 | 4.0 | 0 |
| Valine ^b | 4.3 | 4.9 | 4.4 | 4.3 | 4.0 |
| Leucine ^b | 6.3 | 7.1 | 6.4 | 7.3 | 4.5 |
| Isoleucine ^b | 3.7* | 4.3 | 4.0 | 4.2 | 4.0 |
| Serine | 4.3 | 4.6 | 4.2 | 4.7 | 0 |
| Proline | 7.0 | 5.9 | 10.9 | 4.8 | 0 |
| Threonine ^b | 3.7 | 4.0 | 3.9 | 3.9 | 3.0 |
| Phenylalanine ^b | 3.8 | 4.4 | 4.0 | 4.5 | 2.5 |
| Aspartic acid and asparagine | 8.8 | 10.3 | 8.6 | 10.2 | 0 |
| Glutamic acid and glutamine | 9.1 | 10.0 | 8.8 | 14.9 | 0 |
| Lysine ^b | 5.0 | 5.2 | 4.3 | 4.0 | 3.0 |
| Histidine ^b | 2.1 | 2.1 | 2.1 | 2.2 | 1.5 |
| Tyrosine | 3.0 | 3.5 | 3.1 | 3.4 | 0 |
| Arginine ^b | 4.4 | 5.5 | 4.1 | 5.1 | 3.0 |
| Methionine ^b | 1.9 | 2.2 | 1.8 | 1.4* | 1.5 |
| Cystine | 1.2 | 1.2 | 1.0 | 1.3 | 0 |
| Tryptophan ^b | - ^c | - | - | - | 1.0 |
| Crude protein | 24.3 | 28.2 | 25.4 | 20.8 | 20.0 ^e |

*Indicate level inferior to the minimum required

^a Data are in % of crude protein analyzed

^b Essential amino acids

^c Not determined

^d Data from DeGroot, 1953

^e Data from Somerville, 2005

^f Sum of data is under 100% because the conversion factor of nitrogen to protein, overestimate the protein level in plant tissues (Roulston & Cane, 2000)

Table II. Variables measured in the spring feeding project (mean \pm s.e., n=10 hives).

| Variables | Experimental group | | | | Main effect (p-value) | | |
|-------------------------|--------------------|----------------|----------------|----------------|-----------------------|------|-------|
| | C | PR | PSR | PS | PS | PR | PSxPR |
| Supplement consumed (g) | - | - | 700 \pm 23 | 665 \pm 17 | - | 0.23 | - |
| Pollen collected (g) | - | 2716 \pm 523 | 1825 \pm 152 | - | 0.16 | - | - |
| Honey yield (kg) | 46,3 \pm 7,1 | 35,8 \pm 5,5 | 29,4 \pm 7.4 | 47.9 \pm 3.8 | 0,69 | 0.02 | 0.51 |

Legend: C: Control
 PR: Pollen restricted
 PSR: Pollen supplement while in natural pollen restriction
 PS: Pollen supplemented

Table III. Variables measured in the summer cranberry pollination feeding project (mean \pm s.e., n=10 hives).

| Variables | Experimental group | | | | Main effect (p-value) | | |
|----------------------------------|--------------------|----------------|---------------|---------------|-----------------------|------|-------|
| | C | PR | PSR | PS | PS | PR | PSxPR |
| Supplement consumed (g) | - | - | 1632 \pm 40 | 1632 \pm 49 | - | 0.99 | - |
| Pollen collected (g) | - | 791 \pm 95 | 398 \pm 55 | - | 0.01 | - | - |
| Honey yield Jul 3 to 23 (kg) | 1.0 \pm 0.6 | -0.9 \pm 0.6 | 1.0 \pm 0.6 | 1.7 \pm 0.6 | 0.03 | 0.01 | 0.23 |
| Honey yield Jul 3 to Aug 31 (kg) | 11.9 \pm 1.6 | 6.8 \pm 2.7 | 9.1 \pm 2.7 | 8.8 \pm 2.6 | 0.79 | 0.29 | 0.10 |

Legend: C: Control
 PR: Pollen restricted
 PSR: Pollen supplement while in natural pollen restriction
 PS: Pollen supplemented

Table IV. Variables measured in the late summer feeding project (mean \pm s.e., n=7 hives).

| Variables | Experimental group | | | | Main effect (p-value) | | |
|-----------------------------|--------------------|----------------|----------------|-----------------|-----------------------|--------|-------|
| | C | PR | PSR | PS | PS | PR | PSxPR |
| Supplement consumed (g) | - | - | 922 \pm 77 | 961 \pm 36 | - | 0.65 | - |
| Pollen collected (g) | - | 384 \pm 60 | 411 \pm 68 | - | 0.77 | - | - |
| Honey yield (kg) | 5.1 \pm 1.7 | -1.5 \pm 1.1 | 1.6 \pm 0.7 | 3.4 \pm 1.0 | 0.56 | < 0.01 | 0.06 |
| Pollen stores (square inch) | 62.1 \pm 21.5 | 31.6 \pm 7.4 | 22.4 \pm 4.9 | 51.4 \pm 11.3 | 0.45 | 0.03 | 0.95 |
| Oct 31st frames with bees | 6.1 \pm 0.6 | 4.4 \pm 0.8 | 6.2 \pm 0.6 | 6.9 \pm 0.6 | 0.06 | 0.09 | 0.46 |
| Apr 28th frames with bees | 4.0 \pm 0.5 | 2.4 \pm 1.0 | 5.4 \pm 1.1 | 6.4 \pm 0.9 | < 0.01 | 0.17 | 0.76 |
| Winter syrup intake (kg) | 7.4 \pm 0.5 | 6.0 \pm 0.4 | 7.3 \pm 0.5 | 7.9 \pm 0.6 | 0.10 | < 0.05 | 0.46 |

Legend: C: Control
 PR: Pollen restricted
 PSR: Pollen supplement while in natural pollen restriction
 PS: Pollen supplemented

Figures

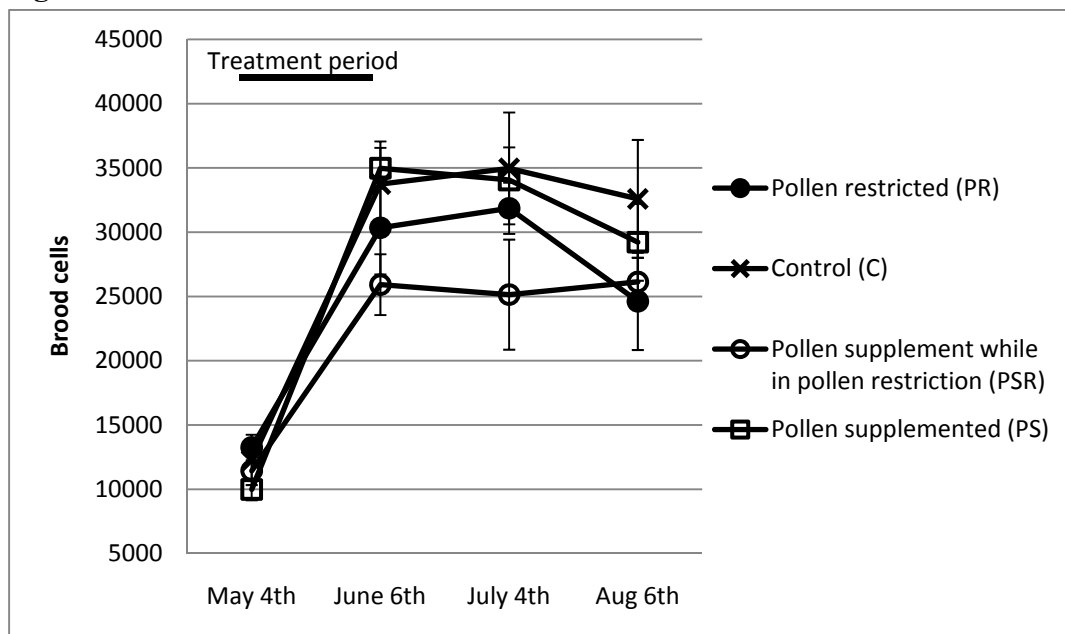


Figure 1a. Brood production for colonies in the spring feeding experiment (mean \pm s.e., $n=10$ hives). On June 6th (short-term effect), a significant interaction ($p=0.03$) of pollen restriction is observed. For the entire period (long-term effect; repeated measures), p -values for the main factors are 0.01 for PR, 0.45 for PS and 0.57 for the interaction PSxPR.

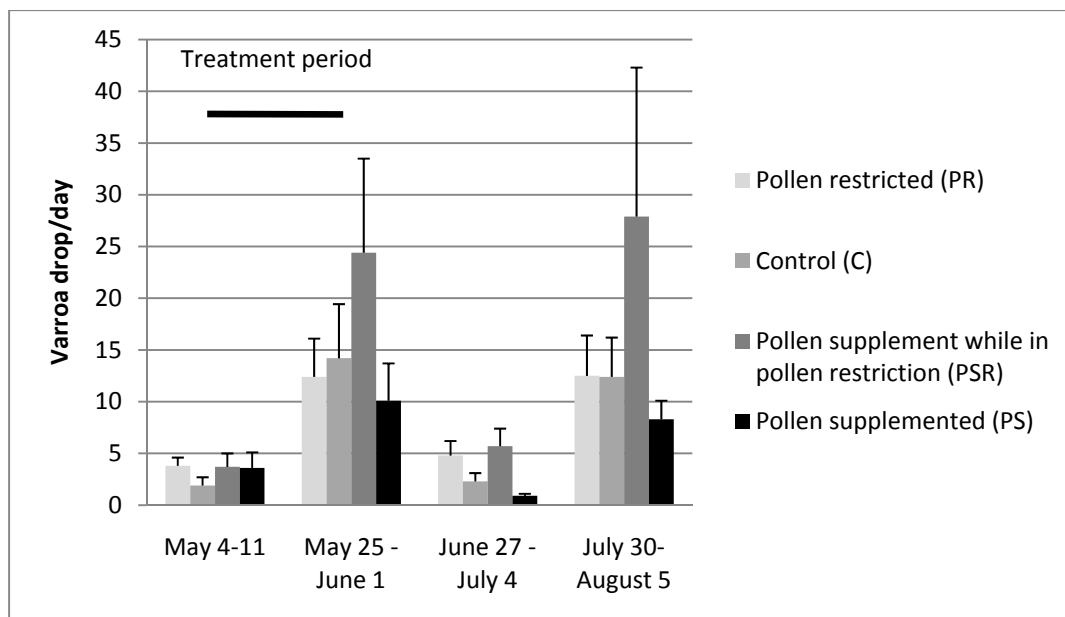


Figure 1b. Natural varroa mite drop per day on a sticky cardboard over a 7 day period for the spring feeding experiment (mean \pm s.e., $n=10$ hives). The p -values for the main factors are 0.001 for PR, 0.89 for PS and 0.51 for interaction PSxPR.

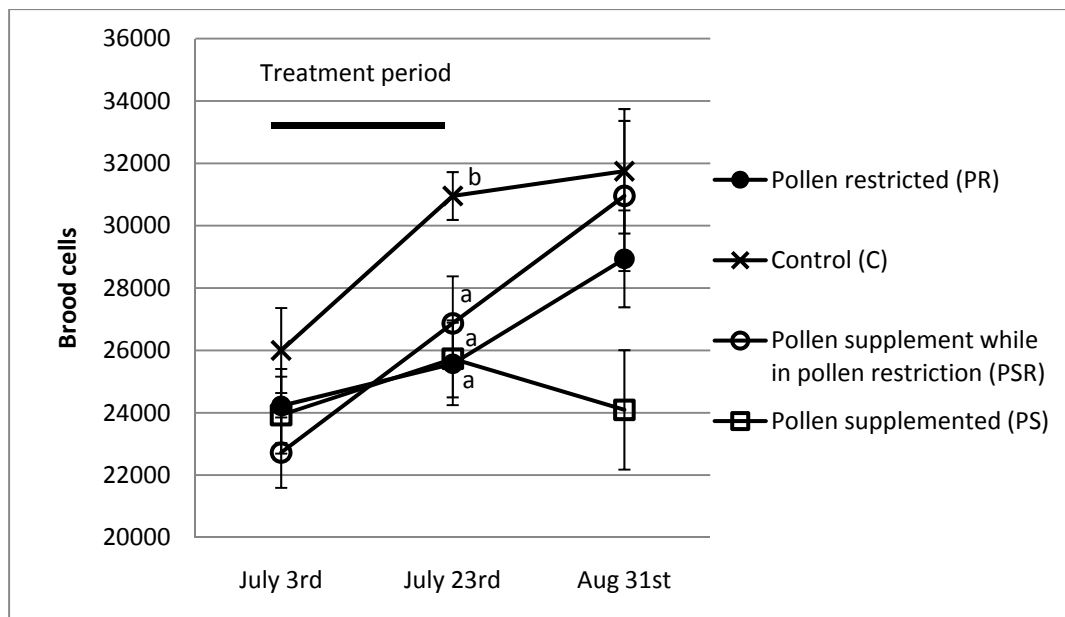


Figure 2. Brood production for colonies in the cranberry pollination feeding experiment (mean \pm s.e., n=10 hives). There is a significant interaction ($p < 0.05$) between the main factors on July 23rd. Significant differences (LSD test) are indicated with different letters. There was a significant ($p < 0.05$) pollen supplement effect (mean of PR+C vs. mean of PSR+PS) on August 31st.

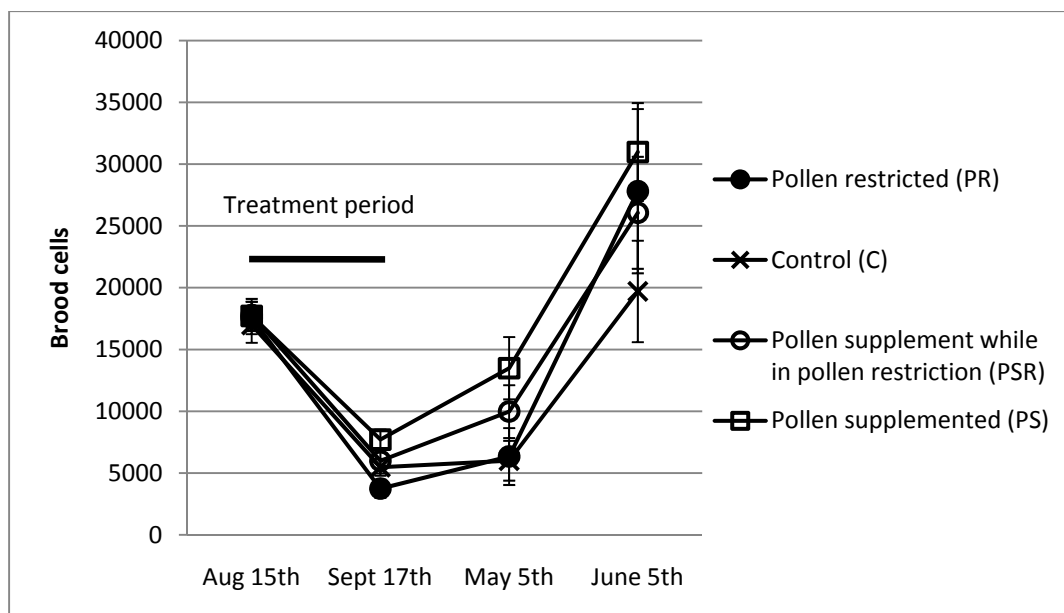


Figure 3a. Brood production for colonies in the late summer feeding experiment (mean number \pm s.e., $n=7$ hives). For short-term effect (September), p -values are $p=0.05$ for PR, $p=0.01$ for PS and $p=0.99$ for interaction PRxPS. On long-term effect, the p -values for the main factors are $p=0.02$ for PR, $p=0.02$ for PS and $p=0.63$ for interaction PRxPS.

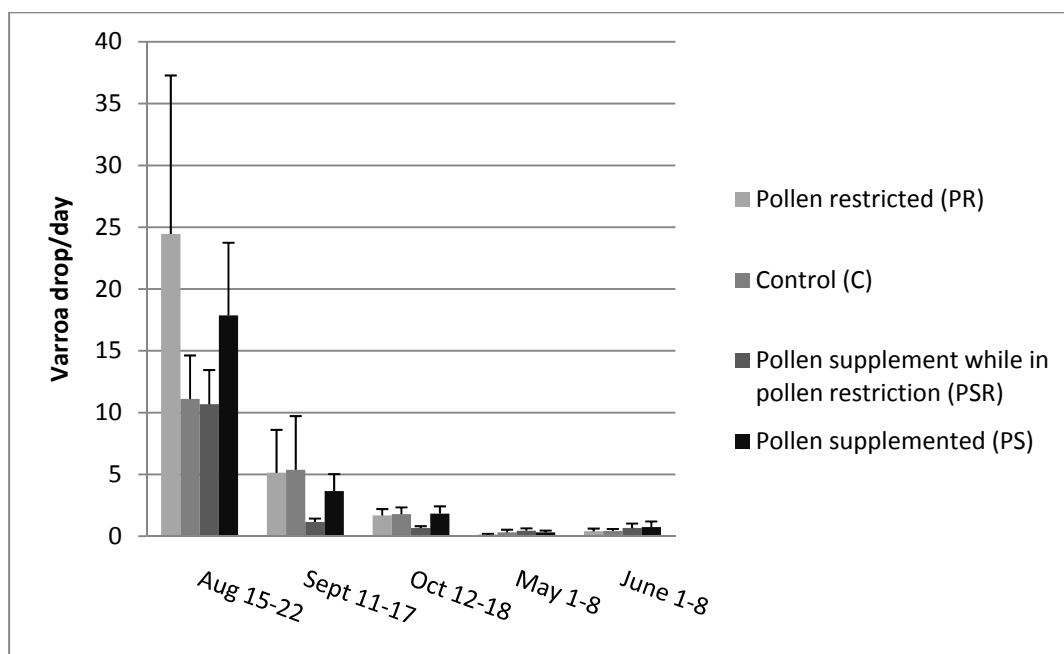


Figure 3b. Natural varroa mite fall per day on a sticky cardboard over a 7 day period for the late summer feeding experiment (mean \pm s.e., $n=7$ hives). The p -values for the main factors are 0.91 for PR, 0.14 for PS and 0.32 for interaction PSxPR.

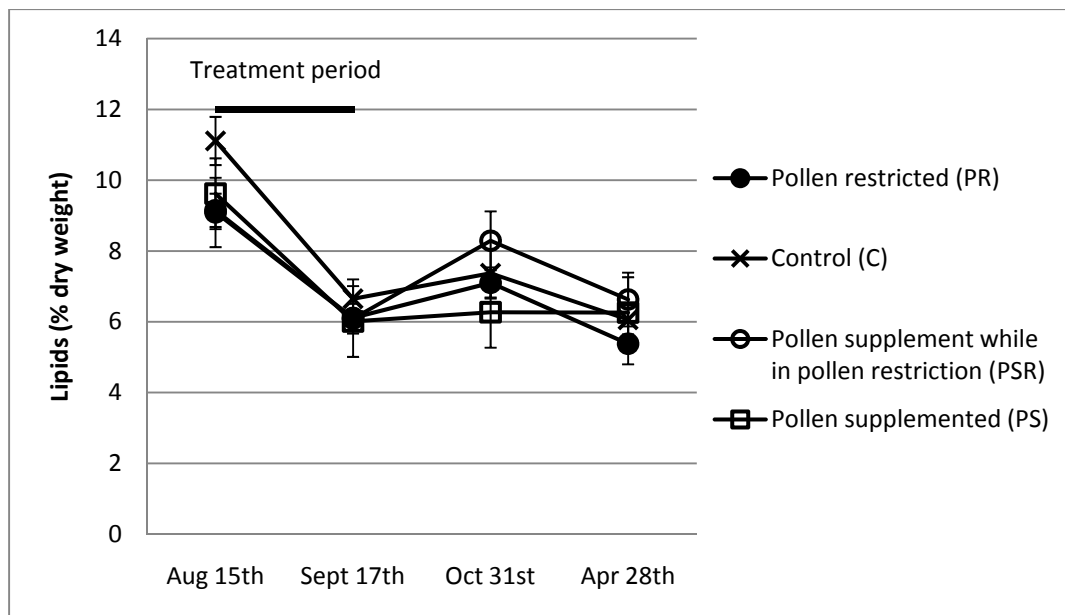


Figure 4. Evolution of total lipid content of bees in the late summer feeding experiment on 1g grinded bees samples (mean \pm s.e., n=5 hives). There is only a significant time effect ($p < 0.001$)

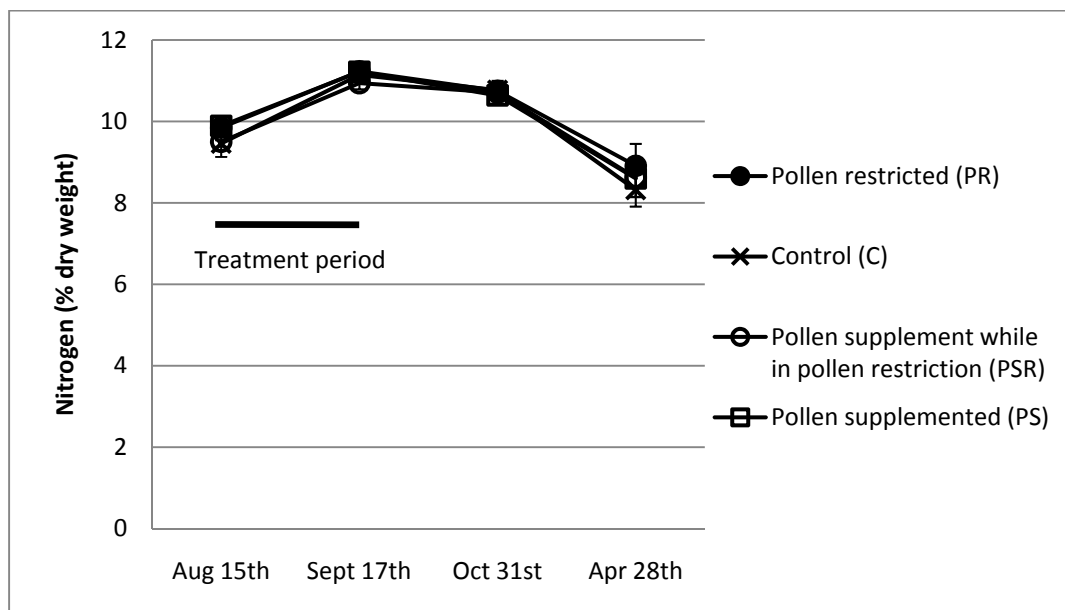


Figure 5. Evolution of nitrogen of bees in the late summer feeding experiment on 0.1g grinded bees samples (mean \pm s.e., n=5 hives). There is only a significant time effect ($p < 0.001$).

References

AOAC. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (2000)

Official Methods of Analysis 17th Ed. Arlington, VA, USA.

BIESMEIJER, J C; ROBERTS, S P M; REEMER, M; OHLEMÜLLER, R;

EDWARDS, M; PEETERS, T; SCHAFFERS, A P; POTTS, S G;

KLEUKERS, R; THOMAS, C D; SETTELE, J; KUNIN, W E (2006)

Parallel declines in pollinators and insect-pollinated plants in Britain and the Netherlands. *Science* 313(5785): 351-354.

BORUCKI CASTRO, S I; PHILLIP, L E; LAPIERRE, H; JARDON, P W;

BERTHIAUME, R (2007) Ruminal degradability and intestinal digestibility of protein and amino acids in treated soybean meal products. *Journal of Dairy Science* 90: 810-822.

CALDER, A G; GARDEN, K E; ANDERSON, S E; LOBLEY, G E (1999)

Quantification of blood and plasma amino acids using isotope dilution electron impact gas chromatography/mass spectrometry with U-13C amino acids as internal standard. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 13: 2080-2083.

CAPA. CANADIAN ASSOCIATION OF PROFESSIONAL APICULTURISTS

(2007) *Nosema disease – diagnosis and control*. Agriculture and Agri-Food Canada, Beaverlodge, AB, Canada. 4 pp. Retrieve on March 2009 from <http://www.capabees.com/main/files/downloads/nosema.pdf>.

DASTOURI, M R; MAHERI-SIS, N; AGHAJANZADEH-GOLSHANI, A; EBRAHIM-NEZHAD, Y (2007) The effect of replacement feeding of some protein sources with pollen on honey bee population and colony performance. *Journal of Animal and Veterinary Advances* 6(11): 1258-1261.

DE GROOT, A P (1953) Protein and amino acid requirements of the honeybee (*Apis mellifera* L.). *Physiologia comparata et oecologia* 3: 197-285.

DOULL, K M (1973) Relationships between pollen, broodrearing and consumption of pollen supplements by honeybees. *Apidologie* 4(4): 285-293.

DUFF, S R; FURGULA, B (1986a) Pollen trapping honey bee colonies in Minnesota Part I: Effect on amount of pollen trapped, brood reared, winter survival, queen longevity, and adult bee population. *American Bee Journal* 126: 686-689.

- DUFF, S R; FURGULA, B (1986b) Pollen trapping honey bee colonies in Minnesota Part II: Effect on foraging activity, honey production, honey moisture content, and nitrogen content of adult workers. *American Bee Journal* 126: 755-758.
- DRELLER, C; PAGE, R E; FONDRK, M K (1999) Regulation of pollen foraging in honeybee colonies: effects of young brood, stored pollen, and empty space. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 45: 227-233.
- FEWELL, J H; BERTRAM, S M (1999) Division of labor in a dynamic environment: response by honeybees (*Apis mellifera*) to graded changes in colony pollen stores. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 46: 171-179.
- FEWELL, J H; WINSTON, M L (1992) Colony state and regulation of pollen foraging in the honey bee, *Apis mellifera* L. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 30: 387-393.
- GIOVENAZZO, P; DUBREUIL, P (2006) Dynamique de la relation hôte-parasite entre *Apis mellifera* et *Varroa destructor* et seuils d'intervention au cours d'une saison apicole au Québec, Canada. CRSAD/MAPAQ. Rapport final.

- GOODWIN, R M; TEN HOUTEN, A; PERRY, J H (1991) Feeding sugar syrup to honey bee colonies to improve kiwifruit pollen collection: a review. *Acta Horticulturae* (ISHS) 288: 265-269.
- GOODWIN, R M; TEN HOUTEN, A; PERRY, J H (1994) Effect of feeding pollen substitutes to honey bee colonies used for kiwifruit pollination and honey production. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science* 22: 459-462.
- HAYDAK, MH (1970) Honey bee nutrition. *Annual reviews of Entomology* 15: 143-156.
- HERBERT, E W Jr (1992) Honey bee nutrition, In: Graham, J.M. (ed) *The Hive and the Honey Bee*. Dadant & Sons; Hamilton, IL, USA. pp. 197-233.
- HERBERT, E W Jr; SHIMANUKI, H; CARON, D (1977) Caged honey bees (*Hymenoptera, Apidae*): comparative value of some proteins for initiating and maintaining brood rearing. *Apidologie* 8(3): 229-235.
- KALEV, H; DAG, A; SHAFIR S (2002) Feeding pollen supplements to honey bee colonies during pollination of sweet pepper in enclosures. *American Bee Journal* 142: 675-679.

- KELLER, I; FLURI, P; IMDORF, A (2005) Pollen nutrition and colony development in honey bees – Part I. *Bee World* 86(1): 3-10.
- MADRAS-MAJEWSKA, B; JASINSKI, Z; JOJCZYK, A; KORFANTY, F (2005) Effect of early supplemental feeding honeybee colonies with a substitute of bee bread made of drone brood candy, glucose and honey on colony strength. *Journal of Apicultural Science* 49(1): 41-46.
- MAPAQ. MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE, DES PÊCHERIES ET DE L'ALIMENTATION DU QUÉBEC (1975) Composition chimique de pollens recueillis au rucher expérimental de Deschambault. Québec, Qc. 19 pp.
- MATTILA, H R; OTIS, G W (2006a) Influence of pollen diet in spring on development of honey bee (Hymenoptera: Apidae) colonies. *Journal of Economic Entomology* 99(3): 604-613.
- MATTILA, H R; OTIS, G W (2006b) The effects of pollen availability during larval development on the behavior and physiology of spring-reared honey bee workers. *Apidologie* 37: 533-546.

MURILHAS, A M (2002) *Varroa destructor* infestation impact on *Apis mellifera carnica* capped worker brood production, bee population and honey storage in a Mediterranean climate. *Apidologie* 33: 271-281.

NABORS, R (2000) The effects of spring feeding pollen substitute to colonies of *Apis mellifera*. *American Bee Journal* 140: 322-323.

NELSON, D L; MCKENNA, D; ZUMWALT, E (1987) The effect of continuous pollen trapping on sealed brood, honey production and gross income in northern Alberta. *American Bee Journal* 127: 648-650.

OIE. WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH (2005) Chapitre 2.9.1. Acariose des abeilles. In *Manuel des tests de diagnostic et des vaccins pour les animaux terrestres de l'OIE 2005 (5^e édition)*. pp. 1060-1065.

Retrieved on March 2009 from

http://www.oie.int/fr/normes/mmanual/f_summry.htm.

OTIS, G W; WHEELER, D E; BUCK, N; MATTILA, H R (2004) Storage proteins in winter honey bees. *Apiacata* 38: 352-357.

- PANKIW, T; PAGE, R E Jr; FONDRK, M K (1998) Brood pheromone stimulates pollen foraging in honey bees (*Apis mellifera*). *Behavioral Ecology and Sociobiology* 44: 193-198.
- RINDERER, T E; DE GUZMAN, L I; SYLVESTER, H A (2004) Re-examination of the accuracy of a detergent solution for varroa mite detection. *American Bee Journal* 144(7): 560-562.
- ROULSTON, T H; CANE, J H (2000) Pollen nutritional content and digestibility for animals. *Plant Systematics and Evolution* 222: 187-209.
- SCHMICKL, T; CRAILSHEIM, K (2001) Cannibalism and early capping: strategy of honeybee colonies in times of experimental pollen shortages. *Journal of Comparative Physiology A* 187: 541-547.
- SCHMIDT, J O; THOENES, S C; LEVIN, M D (1987) Survival of Honey Bees, *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae), Fed Various Pollen Sources. *Annals of the Entomological Society of America* 80: 176-183.
- SOMERVILLE, D C (2005) Fat bees, skinny bees – a manual on honey bee nutrition for beekeepers. Rural Industries Research and Development Corporation, Australia. Publication No. 05/054, 142 pp.

STANDIFER, L N; HAYDAK, M H; MILLS, J P; LEVIN, M D (1973) Influence of pollen in artificial diets on food consumption and brood production in honey bee colonies. *American Bee Journal* 113: 94-95.

STANGER, W; LAIDLAW, H H (1974) Supplemental feeding of honeybees (*Apis mellifera* Linnaeus). *American Bee Journal* 114(4): 138-141.

Discussion générale

À notre connaissance, il s'agit de la première étude portant sur les effets d'un supplément de pollen et d'une restriction en pollen naturel sur l'élevage de couvain et la production de miel de colonies d'abeilles lors de la pollinisation d'une culture de canneberge. C'est la première fois que la composition en protéine et en acide aminés du pollen de canneberge est rapportée. Il s'agit également de la première étude à observer les effets à long terme d'un supplément de pollen et d'une restriction en pollen naturel à la fin de l'été sur l'hivernage, les taux de lipides et d'azote d'abeilles adultes et la production de couvain.

Le supplément de pollen utilisé lors de cette expérience a été sélectionné après des tests de nourrissage qui ont eut lieu en 2006. Les tests ont été effectués avec un substitut et un supplément. Lorsque le pollen naturel était accessible en quantité suffisante, les colonies cessaient de consommer le substitut de pollen, mais le supplément avait toujours un bon taux de consommation. La consommation de supplément de pollen augmente en fonction de la proportion de pollen naturel dans la préparation (Standifer *et coll*, 1973). Nous avons donc opté pour le produit de Global Patties® car c'est le fournisseur qui offrait le supplément contenant le plus haut taux de pollen naturel avec 15% du poids sec. Ce supplément s'est avéré avoir une légère déficience en méthionine par rapport aux besoins en acides aminés essentiels de l'abeille (DeGroot, 1953). Le pollen utilisé dans la préparation était d'origine inconnue.

1. Supplémentation tardive au printemps

L'utilisation du supplément de pollen n'a pas influencé la production de couvain contrairement à la restriction en pollen naturel. L'efficacité des trappes à pollen utilisées lors de l'étude est inconnue, mais cela semble avoir bien fonctionné puisque les colonies qui en avaient ont élevé moins de couvain et récolté moins de miel (Fig 1a et 1b). Des effets similaires ont été rapportés Duff et Furgula (1986a et 1986b) où l'utilisation d'une trappe à pollen a eu des effets négatifs sur la production de couvain et de miel des colonies. L'utilisation d'une trappe à pollen peut avoir des effets variables puisque d'autres études rapportent des effets non-significatifs de son utilisation. Nelson *et coll.* (1987) ont rapporté que l'utilisation de trappes à pollen sur des ruches pendant toute la saison n'avait eu qu'un faible impact sur la production de couvain et de miel des colonies. Schmickl et Crailsheim (2001) ont rapporté qu'une colonie, dont la réserve de pollen avait été manuellement retirée de la ruche, a reconstitué une réserve équivalente à 50% de celle initiale en 5 jours et ce malgré la présence d'une trappe à pollen.

En août, la restriction en pollen naturel effectuée du 4 mai au 6 juin, avait encore un effet sur la production de couvain. Il est étrange que la restriction en pollen naturel démontre toujours des effets négatifs après que les colonies eurent un accès libre au pollen. Cela est en contradiction avec d'autres études où les effets négatifs causés par l'utilisation d'une trappe à pollen disparaissaient rapidement lorsque la colonie avait de nouveau libre accès au pollen naturel (Stanger et

Laidlaw, 1974; Mattila et Otis, 2006a). Les raisons d'un tel résultat sont inconnues, mais le niveau d'infestation de la varroase (Fig 1b) est aussi plus élevé dans les colonies ayant eut un accès restreint au pollen naturel (PR+PSR). Une infestation forte de la varroase entraîne une réduction de la population d'abeilles, de la production de couvain et de la récolte de miel (Murilhas, 2002). Si le niveau d'infestation atteint 11 varroas par jour (en chute naturelle) au mois de septembre, la colonie aura une baisse de 5% de sa population en abeilles et en couvain par rapport à une colonie moins infestée (Giovenazzo et Dubreuil 2006). Les valeurs plus élevées de chute de varroas en juin sont dues au traitement à l'acide oxalique. Un autre facteur est venu ralentir l'élevage de couvain des différentes colonies : pour plusieurs colonies de chacun des 4 groupes expérimentaux, les abeilles traversaient peu le garde reine pour aller porter le miel dans les hausses prévues à cet effet. Elles l'entreposaient alors dans les chambres à couvain, ce qui entraînait un ralentissement de la ponte de la reine. Il s'agit d'un phénomène inhabituel, mais qui était présent dans tous les groupes et qui explique pourquoi la production de couvain stagne après le mois de juin plutôt que de continuer de croître (Fig 1a). Lors des évaluations de couvain, les cadres pleins de miel étaient placés dans les hausses à miel et des cadres vides étaient placés dans les chambres à couvain pour donner de l'espace de ponte aux reines.

L'absence d'un effet positif du supplément de pollen sur la production de couvain démontre que la carence en isoleucine du pollen au printemps était trop

faible pour affecter les colonies. La quantité de pollen récolté a probablement compensé pour la légère déficience.

La récolte de miel n'a pas été affectée par l'utilisation d'un supplément, ce qui concorde avec d'autres études sur les effets des suppléments de pollen au printemps (Goodwin *et coll*, 1994; Mattila et Otis, 2006a). Le supplément de pollen n'a pas stimulé la production de couvain et il semble alors logique que la production de miel ne soit également pas affectée. L'effet d'une restriction de pollen naturel a cependant été significatif. Deux études d'une durée de 3 ans, utilisant des colonies normales, ont rapporté un effet significativement négatif de l'utilisation de trappes à pollen sur la production de miel pour une seule des 3 années (Nelson *et coll*, 1987; Mattila et Otis, 2006a). Mattila et Otis (2006a) ont également noté que des températures printanières froides favorisaient un impact négatif de l'utilisation d'une trappe à pollen. Dans le cas présent, la varroase pourrait avoir eu un impact négatif sur la production de couvain et de miel des colonies exposées à une restriction en pollen naturel, mais il est impossible d'isoler les effets propres à chacun des facteurs.

Les moyennes de pollen récolté dans les trappes différaient de près de 1 kg entre les 2 groupes, mais cet écart n'était pas significatif. Cela est sûrement dû à la forte variation des données dans chacun des groupes. La génétique des reines des différentes colonies n'était pas contrôlée et certaines lignées d'abeilles ont une préférence pour la collection du pollen et d'autres pour le nectar (Fewell et Page,

2000). Cela peut avoir causé une augmentation de la variance et par conséquent une diminution de la puissance des tests statistiques utilisés.

L'utilisation d'un supplément de pollen tard au printemps n'est pas bénéfique pour la colonie. Si un apiculteur désire augmenter sa production de couvain, il doit donc l'utiliser plus tôt comme l'ont fait Mattila et Otis (2006a). Il est possible qu'une carence en pollen pendant cette période ait des répercussions sur la colonie durant toute la saison apicole et diminue sa récolte de miel.

2. Nourrissage durant la pollinisation des canneberges

Des apiculteurs locaux ont rapporté que leurs colonies s'affaiblissaient après la pollinisation de la canneberge et à notre connaissance, la cause en est inconnue, mais est probablement le résultat d'une carence du pollen et/ou du nectar. Les colonies d'abeilles utilisées pour la pollinisation du kiwi ont été confrontées au même problème, mais l'utilisation d'un substitut n'a pas permis de l'endiguer (Goodwin *et coll*, 1994). Les canneberges sont cultivées dans une région où il y a très peu d'autres sources florales disponibles et des abeilles nourries avec un mélange de pollen vivent plus longtemps que d'autres nourries avec un seul type de pollen (Schmidt *et coll*, 1987). Des colonies se retrouvant dans une monoculture pour la pollinisation représentaient donc un sujet intéressant puisqu'il y a des risques de carence alimentaire. Après nos analyses, il s'est par contre avéré que le pollen de canneberge était nutritionnellement adéquat pour les abeilles (Tableau I). Il faut cependant garder à l'esprit que cela ne concerne que le

côté protéique des besoins des abeilles. Leurs nécessités concernant les lipides, vitamines et minéraux sont très peu connues. Les suppléments ou substituts de pollen ne peuvent donc pas être conçus selon ces besoins.

À la fin de la période de pollinisation, le 23 juillet, c'est le groupe témoin qui élevait le plus de couvain, alors que les performances des autres groupes étaient similaires (Fig 2). Les colonies de PR avaient moins de couvain que celles de C, indiquant que les trappes à pollen avaient effectivement créé un effet de restriction. Les colonies de PSR auraient dû élever plus de couvain que celles de PR, mais ce ne fut pas le cas. Ceci entre en contradiction avec d'autres études où l'utilisation d'un supplément lors d'une période de pénurie de pollen (simulée dans notre expérience par l'utilisation d'une trappe à pollen) a favorisé la production de couvain (Doull, 1973; Standifer *et coll*, 1973; Stanger et Laidlaw, 1974; Nabors, 2000; Kalev *et coll*, 2002; Madras-Majewska *et coll*, 2005; Mattila et Otis, 2006a; Dastouri *et coll*, 2007). La présence du supplément de pollen a influencé l'effort de butinage des ouvrières. La première preuve, abondant en ce sens, est la diminution de 50% de la quantité de pollen récolté dans les trappes du groupe supplémenté (PSR) par rapport au groupe non supplémenté (PR ; Tableau III). La deuxième preuve est que les colonies ayant reçu du supplément de pollen (PSR+PS) ont récolté significativement plus de miel que celles n'en ayant pas reçu (PR+PSR). D'autres études ont démontré que la quantité de pollen dans la ruche influençait l'activité de butinage de la colonie (Fewell et Winston, 1992; Dreller *et coll*, 1999; Fewell et Bertram, 1999). Donc PSR et PS ont orienté leurs efforts de butinage

vers le nectar pendant qu'ils s'alimentaient avec une diète nutritionnellement déficiente en méthionine et cela pourrait avoir affecté leur production de couvain. Cependant la déficience était plutôt faible et les colonies pouvaient consommer du supplément à volonté. Il y a peut-être également un facteur non mesuré qui a influencé les résultats de cette expérience ou le supplément avait une déficience autre qu'en acide aminé essentiel.

La récolte de miel durant la pollinisation fut très faible, le meilleur groupe ayant récolté 1,7 kg alors que les colonies de PR ont même puisé près de 1 kg dans leurs réserves. Ces résultats démontrent bien la limitation de la ressource de nectar dans les cultures de canneberges qui peut avoir deux causes non mutuellement exclusives : une faible production de nectar des fleurs de canneberges et la densité très élevée des colonies dans la culture. Si des colonies étaient introduites dans cette culture avec de faibles réserves de miel, elles risqueraient de mourir de faim. Il serait intéressant de tester un nourrissage avec du sirop de saccharose pendant la pollinisation, de même qu'une combinaison de sirop de saccharose et de supplément de pollen. Le sirop peut stimuler l'élevage de couvain à condition que la colonie ait accès à une source de pollen et il peut également permettre de recruter plus de butineuses lorsque les abeilles doivent sortir de la ruche pour aller chercher le sirop. Il s'agit d'une pratique courante pendant la pollinisation du kiwi (Somerville, 2005) car cela augmente la récolte de pollen de kiwi par les abeilles (Goodwin *et coll*, 1991) et elles sont plus actives dans la culture cible.

À la fin d'août, il y avait un effet négatif et significatif du supplément de pollen sur l'élevage du couvain. La production de miel était très faible dans la culture de canneberges, mais elle n'a été quantifiée qu'à la fin de la période de pollinisation. La quantité de miel entreposé dans les ruches lors de leur arrivée dans cette culture n'est pas connue, mais certaines hausses à miel étaient très légères (perception lors des manipulations). La constance de la production de nectar par les plantes et les conditions météorologiques favorables au butinage sont loin d'être assurées. Il est donc possible que certaines colonies aient été exposées à un manque de miel pendant de courtes périodes entraînant de ce fait la mort de plusieurs ouvrières. Un tel effet aurait pris quelque temps avant d'être perceptible sur la quantité de couvain et pourrait expliquer en partie les résultats obtenus, particulièrement avec les colonies du groupe PS. L'effet de se trouver dans un milieu de monoculture pourrait avoir affecté négativement la population de butineuses des colonies sans pour autant avoir des répercussions sur la production de couvain et expliquerait pourquoi les perceptions des apiculteurs ne se soient pas reflétées sur cette dernière. Il ne s'agit ici que de spéculations.

Il y a 2 autres facteurs ayant été susceptibles d'être des sources d'erreurs. L'apiculteur propriétaire des ruches a donné 450 g de supplément de pollen à toutes ses colonies 1 semaine avant de les introduire dans la culture de canneberges. Cependant, puisque toutes les colonies ont reçu la même quantité du même produit, l'impact de cette action sur les résultats est sûrement faible. La plus grande source d'erreur possible est la variabilité des quantités de couvain entre les

colonies d'un même bloc qui prévalait au début de l'expérience. Une plus grande uniformité des quantités de couvain de départ aurait peut-être permis d'obtenir de meilleurs résultats.

Il semble que l'utilisation d'un supplément de pollen seul ne soit d'aucune utilité lors de la pollinisation de la canneberge en ce qui concerne la production de couvain et qu'avec les faibles gains en miel qu'il procure, l'apiculteur n'en tire aucun bénéfice.

3. Supplémentation en fin d'été

En comparaison aux 2 autres expériences, les quantités de pollen récolté dans les trappes sont plutôt faibles. Il semble cependant que cela soit dû à la diminution de l'élevage de couvain, les évaluations de septembre sont faibles, plutôt qu'à une pénurie de pollen (Pankiw *et coll*, 1998). Lors de l'évaluation de couvain du 17 septembre (effets à court terme), les facteurs principaux de l'expérience avaient des effets significatifs (Fig 3a). Les colonies supplémentées (PSR+PS) élevaient plus de couvain que celles ne l'étant pas (PR+C). Le supplément de pollen exerce donc un effet positif sur la production de couvain même en présence de pollen de bonne qualité nutritive. Les colonies ayant un accès limité au pollen (PR+PSR) ont élevé moins de couvain que les autres (C+PS) et ont également entreposé moins de pollen (Tableau IV). Cela démontre que les trappes à pollen ont effectivement créé un effet de restriction. Cependant, ces écarts de population de couvain ne se sont pas transposés en écarts pour les

populations d'abeilles lors de l'évaluation du nombre de cadres couverts par des abeilles en octobre (Tableau IV). Cela est probablement dû à la présence de vieilles butineuses car même si les écarts de couvain étaient significatifs, ils n'étaient pas grands. Quelques milliers de butineuses pouvaient suffire à masquer ces écarts, mais le nombre de jeunes abeilles était probablement différent entre les groupes. Une colonie ayant plus de jeunes abeilles devrait alors sortir de l'hivernage avec une plus grande population. En effet, lors de l'évaluation du 28 avril, les colonies ayant reçu du supplément à l'été 2007 (PSR+PS) avaient 2,6 cadres d'abeilles de plus que les autres (PR+C). Ces colonies avec plus d'abeilles avaient une plus grande force de travail disponible pour récolter de la nourriture et élever du couvain et cela s'est répercuté dans l'évaluation du 5 mai où PSR+PS avaient 60% plus de couvain que PR+C. Elles ont également consommé plus de sirop lors de l'hivernage, ce qui est logique puisqu'elles étaient plus peuplées. Il n'y avait pas d'effet significatif lié à une restriction de pollen lors de l'été précédent, les colonies dans cette situation ont donc été capables de récupérer rapidement soit durant l'automne précédent ou plus tôt au printemps. Ces résultats sont en accord avec ceux d'autres études où les colonies ont récupéré rapidement d'une restriction de pollen à partir du moment où elles ont eu à nouveau un libre accès au pollen naturel (Stanger & Laidlaw, 1974; Mattila et Otis, 2006a). Mattila et Otis (2006a) proposent une théorie selon laquelle les abeilles exposées à une carence de pollen en fin de saison vont réduire l'élevage du couvain afin de conserver leurs réserves corporelles pour l'hivernage plutôt que de les épuiser en nourrissant des larves et ainsi augmenter leur survie hivernale.

Lorsque les évaluations du couvain de septembre, de mai et de juin 2008 (effets à long terme) sont analysées ensemble, les deux facteurs principaux ressortent significatifs. L'effet positif du substitut persiste donc longtemps après son utilisation. Entre septembre et juin, les colonies supplémentées ont élevé 36% plus de couvain que celles qui ne l'étaient pas. La valeur est plus faible que celle du mois de mai et démontre que l'effet de stimulation s'estompe graduellement. Il est d'ailleurs possible que l'effet ne soit déjà plus présent lors de l'évaluation de juin, mais que les écarts de septembre et de mai soient suffisants pour qu'il soit significatif pour toute la période. Il est par contre étrange que l'effet d'une restriction de pollen naturel ressorte significatif pour toute la période alors qu'il ne l'était pas pour le mois de mai. Les différences combinées des différentes évaluations, même si elles sont faibles (9% de réduction totale), semblent avoir été suffisantes pour obtenir cet effet qui ne ressortait pas lors de l'évaluation de mai seulement.

Les niveaux d'azote et de lipides corporels des abeilles n'ont pas été affectés par les traitements. Cela rejoint les résultats de Duff et Furgula (1986b) qui ont mesuré l'azote d'abeilles exposées à une restriction de pollen pour constater que cela n'avait aucun effet. Mattila et Otis (2006b) ont obtenu les mêmes résultats pour une restriction de pollen et ils n'ont également pas eu d'effet significatif de l'utilisation d'un supplément de pollen. Haydak (1970) a cependant rapporté des différences significatives du niveau d'azote en nourrissant des colonies avec un supplément et en analysant les abeilles émergentes. Les niveaux

de lipides et d'azote semblent être liés l'un à l'autre avant l'hivernage car une augmentation du niveau d'azote se traduit par une baisse des lipides et *vice versa* (Fig 4 et Fig 5). À la sortie du caveau, les 2 niveaux avaient baissé (par rapport à ceux du 31 octobre) d'environ 1.5% pour les lipides et 2% pour l'azote. Ceci indique que les abeilles ont utilisé au moins une partie de leurs réserves corporelles pendant l'hiver. L'absence de différence entre les traitements et les données d'élevage de couvain suggère que les abeilles ne subissent pas de changement corporel individuel selon la disponibilité de la nourriture, mais qu'elles vont plutôt modifier l'élevage du couvain.

L'utilisation d'un supplément de pollen à la fin de l'été est bénéfique pour la reprise printanière des colonies car il favorise la production de couvain. Cependant, il n'affecte pas les réserves corporelles des abeilles adultes en lipides et en protéines corporels ni le taux de survie hivernale des colonies. Le supplément de pollen ne permet pas non plus d'augmenter la production de miel à la fin de l'été. Les effets d'une carence en pollen lors de cette période semblent être faibles car les colonies récupèrent relativement rapidement le printemps suivant.

4. Ouverture de recherche

Suite aux résultats de ces expériences, l'utilisation de sirop de sucre durant la pollinisation de la canneberge s'avère une étude intéressante. Pour réaliser cette expérience, 40 nuclei seraient constitués au début du mois de juin avec 4 cadres de couvain operculé et des reines sœurs fécondées y seraient introduites. De ce lot, 30

nuclei seraient utilisées pour la pollinisation de la canneberge. Ces colonies seraient toutes situées dans le même rucher avant et après la période de pollinisation. Lors de la pollinisation, les nuclei seraient placés à intervalles de 2 mètres le long d'une même parcelle dans une atocatière et recevraient un traitement sélectionné de façon aléatoire. Il y aurait 3 traitements distincts.

Traitement 1 : Témoin

Traitement 2 : Accès à un sirop de sucre 1:1

Traitement 3 : Accès à un sirop de sucre 1:1 et à un supplément de pollen

Le supplément de pollen n'est pas bénéfique pour les colonies lorsqu'il est utilisé seul, mais il pourrait y avoir un effet synergique avec du sirop de sucre, d'où l'existence du traitement 3. Pour chaque colonie, la production de miel totale serait mesurée et celle de couvain serait évaluée à chaque mois jusqu'en septembre. La force en abeilles des colonies serait évaluée au début novembre et à la fin avril au printemps suivant. Il y aurait également un suivi des maladies, particulièrement de la varroase, de l'acariose et de la nosérose. L'analyse statistique se ferait par contrastes avec 2 comparaisons : les traitements 2 et 3 (combinés) seraient comparés au traitement 1 et ensuite, le traitement 3 serait comparé au traitement 2.

Conclusion

En conclusion, l'hypothèse de départ selon laquelle l'utilisation d'un supplément de pollen à différentes périodes de la saison apicole favorise le développement des colonies d'abeilles se trouve donc rejetée car les effets n'ont pas été significatifs pour deux des trois expériences. Cela démontre qu'il faut bien sélectionner la période d'utilisation du supplément afin d'avoir des retombées bénéfiques pour les colonies et ainsi rentabiliser l'investissement effectué pour l'achat du produit.

Un supplément de pollen donné tard au printemps ne permet pas d'augmenter la production de couvain lorsqu'il y a suffisamment de pollen naturel disponible. Une carence en pollen à cette période peut cependant avoir des répercussions sur toute la saison apicole et entraîner une diminution de la récolte de miel.

Le supplément de pollen ne semble être d'aucune utilité lors de la pollinisation de la canneberge, du moins en ce qui concerne la production de couvain. Puisqu'il y a une rareté de nectar dans cette culture, il serait intéressant d'effectuer une étude sur les effets de l'utilisation d'un sirop de sucre durant cette période sur la production de couvain pendant et après la pollinisation. Cette méthode s'avère efficace lors la pollinisation du kiwi, une culture où l'utilisation d'un supplément de pollen ne permettait pas d'empêcher le déclin des colonies.

Donné à la fin de l'été, le supplément stimule l'élevage de couvain, ce qui favorise la reprise printanière des colonies parce qu'elles ont plus d'ouvrières survivant à l'hiver et elles peuvent alors élever plus de couvain. L'effet stimulant se dissipe au début de l'été. L'effet d'une carence en pollen à la fin de l'été s'estompe lors du printemps suivant. Le succès d'hivernage des colonies n'est pas influencé par un supplément ou une carence de pollen. Il en est de même pour les réserves de protéines et de lipides d'abeilles adultes. Cette expérience pourrait être répétée en utilisant de plus grosses colonies car celles utilisées n'avaient qu'une seule hausse à couvain. La quantification des niveaux de lipides et de protéines pourrait alors être effectuée avec des abeilles émergentes ou de vieilles pupes plutôt qu'avec des abeilles adultes afin de déterminer s'il existe réellement un effet ou non. Les réserves de pollen des colonies pourraient également être évaluées et balancées au début de l'expérience.

L'utilisation d'un supplément n'a pas d'effets significatifs importants sur la production de miel. Un apiculteur ne devrait alors en utiliser que pour augmenter la population de ses colonies lorsque souhaité, comme par exemple : pour augmenter le nombre de butineuses pour la pollinisation de cultures tôt au printemps ou pour faire de la division de ses colonies (nuclei).

Les conclusions de ces expériences fournissent donc des bases pour permettre aux apiculteurs de prendre des décisions éclairées sur l'utilisation de supplément de pollen pour leurs colonies.

Bibliographie

- AAC. AGRICULTURE ET AGROALIMENTAIRE Canada (2003) L'apiculture : situation et tendances au Canada en 2002-2003. Obtenu le 20 novembre 2008 de http://www4.agr.gc.ca/resources/prod/doc/horticulture/honey_f.pdf
- AMDAM, G V; NORBERG, K; OMHOLT, S W; KRYGER, P; LOURENÇO, A P; BITONDI, M M G; SIMOES, Z L P (2005) Higher vitellogenin concentrations in honey bee workers may be an adaptation to life in temperate climates. *Insectes Sociaux* 52: 316-319.
- ANDERSON, L M; DIETZ, A (1976) Pyridoxine requirement of the honey bee (*Apis mellifera*) for brood rearing. *Apidologie* 7(1): 67-84.
- BARKER, R J (1977) Some carbohydrates found in pollen and pollen substitutes are toxic to honey bees. *Journal of Nutrition* 107: 1859-1862.
- BOUCHER, C (2008) Le point sur le contexte sanitaire apicole actuel. Conférence à *Journée champêtre en apiculture – Un regard dynamique sur l'avenir!*, Deschambault, Québec, 12 juillet 2008. Cahier des résumés pp. 12-14.

CAPA. CANADIAN ASSOCIATION OF PROFESSIONAL APICULTURISTS

(2008) CAPA statement on honey bees losses in Canada (spring 2008) – final revision. Obtenu le 20 novembre 2008 de

<http://www.capabees.com/main/files/pdf/canwintlossnewrev.pdf>

CRAILSHEIM, K (1986) Dependence of protein metabolism on age and season in the honeybee (*Apis mellifica carnica* Pollm). *Journal of Insect Physiology* 32(7): 629-634.

CRAILSHEIM, K (1992) The flow of jelly within a honeybee colony. *Journal of Comparative Physiology B* 162: 681-689.

CRAILSHEIM, K; SCHNEIDER, L H W; HRASSNIGG, N; BÜHLMANN, G; BROSCH, U; GMEINBAUER, R; SCHÖFFMANN, B (1992) Pollen consumption and utilization in worker honeybees (*Apis mellifera carnica*) : dependence on individual age and function. *Journal of Insect Physiology* 38(6): 409-419.

DASTOURI, M R; MAHERI-SIS, N; AGHAJANZADEH-GOLSHANI, A; EBRAHIM-NEZHAD, Y (2007) The effect of replacement feeding of some protein sources with pollen on honey bee population and colony performance. *Journal of Animal and Veterinary Advances* 6(11): 1258-1261.

DE GROOT, A P (1953) Protein and amino acid requirements of the honeybee (*Apis mellifera* L.). *Physiologia comparata et oecologia* 3: 197-285.

DOULL, K M (1973) Relationships between pollen, broodrearing and consumption of pollen supplements by honeybees. *Apidologie* 4(4): 285-293.

DOULL, K M (1976) The effects of different humidities on the hatching of the eggs of honeybees. *Apidologie* 7(1): 61-66.

DOULL, K M (1980) Relationships between consumption of a pollen supplement, honey production, and broodrearing in colonies of honeybees *Apis mellifera* L.I. *Apidologie* 11(4): 361-365.

DUFF, S R; FURGULA, B (1986a) Pollen trapping honey bee colonies in Minnesota Part I: Effect on amount of pollen trapped, brood reared, winter survival, queen longevity, and adult bee population. *American Bee Journal* 126: 686-689.

DUFF, S R; FURGULA, B (1986b) Pollen trapping honey bee colonies in Minnesota Part II: Effect on foraging activity, honey production, honey moisture content, and nitrogen content of adult workers. *American Bee Journal* 126: 755-758.

- DRELLER, C; PAGE, R E; FONDRK, M K (1999) Regulation of pollen foraging in honeybee colonies: effects of young brood, stored pollen, and empty space. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 45: 227-233.
- ERICKSON, E H; HERBERT E W Jr (1980) Soybean products replace expeller-processed soyflour for pollen supplements and substitutes. *American Bee Journal* 120: 122-126.
- FAHRENHOLZ, L; LAMPRECHT, I; SCHRICKER, B (1989) Thermal investigations of a honey bee colony : thermoregulation of the hive during summer and winter and heat production of members of different bee castes. *Journal of Comparative Physiology B* 159: 551-560.
- FERT, G (1999) *L'élevage des reines*. Office pour l'information et la documentation en apiculture; Toulouse, France. 108 pp.
- FEWELL, J H; BERTRAM, S M (1999) Division of labor in a dynamic environment: response by honeybees (*Apis mellifera*) to graded changes in colony pollen stores. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 46: 171-179.
- FEWELL, J H; PAGE, R E Jr (2000) Colony-level selection effects on individual and colony foraging task performance in honeybees, *Apis mellifera* L. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 48(3): 173-178.

- FEWELL, J H; WINSTON, M L (1992) Colony state and regulation of pollen foraging in the honey bee, *Apis mellifera* L. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 30: 387-393.
- FLURI, P (1990) La longévité et sa régulation chez les ouvrières. *Journal suisse d'apiculture* 87(11): 401-408.
- GARY, N E (1992) Activities and behavior of honey bees, In: Graham, J.M. (ed) *The Hive and the Honey Bee*. Dadant & Sons; Hamilton, IL; pp 269-372.
- GILLIAM, M (1979a) Microbiology of pollen and bee bread : the yeasts. *Apidologie* 10(1): 43-53.
- GILLIAM, M (1979b) Microbiology of pollen and bee bread : the genus *Bacillus*. *Apidologie* 10(3): 269-274.
- GILLIAM, M (1997) Identification and roles of non-pathogenic microflora associated with honey bees. *FEMS Microbiology Letters* 155(1): 1-10.
- GILLIAM, M; PREST, D B; LORENZ, B J (1989) Microbiology of pollen and bee bread : taxonomy and enzymology of molds. *Apidologie* 20: 53-68.

GIOVENAZZO, P; DUBREUIL, P (2006) Dynamique de la relation hôte-parasite entre *Apis mellifera* et *Varroa destructor* et seuils d'intervention au cours d'une saison apicole au Québec, Canada. CRSAD/MAPAQ. Rapport final.

GOODWIN, R M; TEN HOUTEN, A; PERRY, J H (1991) Feeding sugar syrup to honey bee colonies to improve kiwifruit pollen collection: a review. *Acta Horticulturae* (ISHS) 288: 265-269.

GOODWIN, R M; TEN HOUTEN, A; PERRY, J H (1994) Effect of feeding pollen substitutes to honey bee colonies used for kiwifruit pollination and honey production. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science* 22: 459-462.

HAGRC. HELMHOLTZ ASSOCIATION OF GERMAN RESEARCH CENTRES
(2008) Economic value of pollination worldwide estimated at U.S. \$217 billion. *Science Daily*. Obtenu le 16 septembre 2008 de
<http://www.sciencedaily.com/releases/2008/09/080915122725.htm>

HAYDAK, MH (1970) Honey bee nutrition. *Annual reviews of Entomology* 15: 143-156.

- HAYDAK, M H; DIETZ, A (1972) Cholesterol, pantothenic acid, pyridoxine and thiamine requirements of honeybees for brood rearing. *Journal of Apicultural Research* 11(2): 105-109.
- HERBERT, E W Jr (1992) Honey bee nutrition, In: Graham, J.M. (ed) *The Hive and the Honey Bee*. Dadant & Sons; Hamilton, IL, USA. pp. 197-233.
- HERBERT, E W Jr; SHIMANUKI, H (1980) An evaluation of seven potential pollen substitutes for honey bees. *American Bee Journal* 120: 349-350.
- HERBERT, E W Jr; SHIMANUKI, H; CARON, D (1977a) Caged honey bees (*Hymenoptera, Apidae*): comparative value of some proteins for initiating and maintaining brood rearing. *Apidologie* 8(3): 229-235.
- HERBERT, E W Jr; SHIMANUKI, H; CARON, D (1977b) Optimum protein levels required by honey bees (*Hymenoptera, Apidae*) to initiate and maintain brood rearing. *Apidologie* 8(2): 141-146.
- HERBERT, E W Jr; VANDERSLICE, J T; HIGGS, D J (1985) Vitamin C enhancement of brood rearing by caged honeybees fed a chemically defined diet. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 2(1): 29-37.

HORNITZSKY, M (2003) Fatty acids – an alternative control strategy for honeybee diseases. Rural Industries Research and Development Corporation, Australia. Publication No. 03/028, 13 pp.

HORR, B Z (1998) Salt – an important dietary supplement in honey bee nutrition? *American Bee Journal* 138: 662.

HUMAN, H; NICOLSON, S W; DIETEMANN, V (2006) Do honeybees, *Apis mellifera scutellata*, regulate humidity in their nest? *Naturwissenschaften* 93: 397-401.

IMDORF, A; RICKLI, M; KILCHENMANN, V; BOGDANOV, S; WILLE, H (1998) Nitrogen and mineral constituents of honey bee worker brood during pollen shortage. *Apidologie* 29: 315-325.

JEFFREE, E P (1956) Winter brood and pollen in honeybee colonies. *Insectes Sociaux* 3(3): 417-422.

JEFFREE, E P; ALLEN, M D (1957) The annual cycle of pollen storage by honey bees. *Journal of Economic Entomology* 50: 211-212.

- KALEV, H; DAG, A; SHAFIR S (2002) Feeding pollen supplements to honey bee colonies during pollination of sweet pepper in enclosures. *American Bee Journal* 142: 675-679.
- KELLER, I; FLURI, P; IMDORF, A (2005a) Pollen nutrition and colony development in honey bees – Part I. *Bee World* 86(1): 3-10.
- KELLER, I; FLURI, P; IMDORF, A (2005b) Pollen nutrition and colony development in honey bees – Part II. *Bee World* 86(2): 27-34.
- KÜHNHOLZ, S; SEELEY, T D (1997) The control of water collection in honey bee colonies. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 41: 407-422
- MADRAS-MAJEWSKA, B; JASINSKI, Z; JOJCZYK, A; KORFANTY, F (2005) Effect of early supplemental feeding honeybee colonies with a substitute of bee bread made of drone brood candy, glucose and honey on colony strength. *Journal of Apicultural Science* 49(1): 41-46.
- MANNING, R (2001) Pollen analysis of eucalypts in western Australia. Rural Industries Research and Development Corporation, Australia. Publication No. 01/53, 72 pp.

MAPAQ. MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE, DES PÊCHERIES ET DE L'ALIMENTATION DU QUÉBEC (1975) Composition chimique de pollens recueillis au rucher expérimental de Deschambault. Québec, Qc. 19 pp.

MATTILA, H R; OTIS, G W (2006a) Influence of pollen diet in spring on development of honey bee (Hymenoptera: Apidae) colonies. *Journal of Economic Entomology* 99(3): 604-613.

MATTILA, H R; OTIS, G W (2006b) The effects of pollen availability during larval development on the behavior and physiology of spring-reared honey bee workers. *Apidologie* 37: 533-546.

MORSE, R A; CALDERONE, N W (2000) The value of honey bees as pollinators of U.S. crops in 2000. *Bee Culture* 128(3): 15 pp (section spéciale).

MORITZ, B; CRAILSHEIM, K (1987) Physiology of protein digestion in the midgut of the honeybee (*Apis mellifera* L.). *Journal of Insect Physiology* 33(12): 923-931.

MURILHAS, A M (2002) *Varroa destructor* infestation impact on *Apis mellifera carnica* capped worker brood production, bee population and honey storage in a Mediterranean climate. *Apidologie* 33: 271-281.

- NABORS, R (2000) The effects of spring feeding pollen substitute to colonies of *Apis mellifera*. *American Bee Journal* 140: 322-323.
- NATION, J L; ROBINSON, F A (1971) Concentration of some major and trace elements in honeybees, royal jelly and pollen, determined by atomic absorption and spectrophotometry. *Journal of Apicultural Research* 10(1): 35-43.
- NELSON, D L; MCKENNA, D; ZUMWALT, E (1987) The effect of continuous pollen trapping on sealed brood, honey production and gross income in northern Alberta. *American Bee Journal* 127: 648-650.
- OTIS, G W; WHEELER, D E; BUCK, N; MATTILA, H R (2004) Storage proteins in winter honey bees. *Apicata* 38: 352-357.
- PAIN, J; MAUGENET, J (1966) Recherches biochimiques et physiologiques sur le pollen emmagasiné par les abeilles. *Annales de l'Abeille* 9(3): 209-236.
- PANKIW, T; PAGE, R E Jr; FONDRK, M K (1998) Brood pheromone stimulates pollen foraging in honey bees (*Apis mellifera*). *Behavioral Ecology and Sociobiology* 44: 193-198.

PERCIVAL, M S (1961) Types of nectar in angiosperms. *New Phytologist* 60(3): 235-281.

PERNAL, S F; CURRIE, R W (2000) Pollen quality of fresh and 1-year-old single pollen diets for worker honey bees (*Apis mellifera* L.). *Apidologie* 31: 387-409.

ROULSTON, T H; CANE, J H (2000) Pollen nutritional content and digestibility for animals. *Plant Systematics and Evolution* 222: 187-209.

ROULSTON, T H; CANE, J H; BUCHMANN, S L (2000) What Governs Protein Content of Pollen: Pollinator Preferences, Pollen-Pistil Interactions, or Phylogeny? *Ecological Monographs* 70(4): 617-643.

SCHMICKL, T; CRAILSHEIM, K (2001) Cannibalism and early capping: strategy of honeybee colonies in times of experimental pollen shortages. *Journal of Comparative Physiology A* 187: 541-547.

SCHMIDT, J O; HANNA, A (2006) Chemical nature of phagostimulants in pollen attractive to honeybees. *Journal of Insect Behavior* 19(4): 521-532.

- SCHMIDT, J O; THOENES, S C; LEVIN, M D (1987) Survival of Honey Bees, *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae), Fed Various Pollen Sources. *Annals of the Entomological Society of America* 80: 176-183.
- SEELEY, T D (1982) Adaptive Significance of the Age Polyethism Schedule in Honeybee Colonies. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 11: 287-293.
- SEELEY, T D (1985) *Honeybee Ecology, A Study of Adaptation in Social Life*. Princeton University Press, Princeton, NJ ; 201pp.
- SHUEL, R W (1992) The production of nectar and pollen, In: Graham, J.M. (ed) *The Hive and the Honey Bee*. Dadant & Sons; Hamilton, IL; pp 401-436.
- SOMERVILLE, D C (2005) Fat bees, skinny bees – a manual on honey bee nutrition for beekeepers. Rural Industries Research and Development Corporation, Australia. Publication No. 05/054, 142 pp.
- SOUTHWICK, E E; HELDMAIER, G (1987) Temperature control in honey bee colonies. *BioScience* 37(6): 395-399.
- STANDIFER, L N; HAYDAK, M H; MILLS, J P; LEVIN, M D (1973) Influence of pollen in artificial diets on food consumption and brood production in honey bee colonies. *American Bee Journal* 113: 94-95.

STANGER, W; LAIDLAW, H H (1974) Supplemental feeding of honeybees (*Apis mellifera* Linnaeus). *American Bee Journal* 114(4): 138-141.

STATISTIQUE CANADA (2008) Production et valeur du miel et des produits de l'érable. Bulletin No 23-221-X, obtenu le 20 novembre 2008 de <http://www.statcan.ca/francais/freepub/23-221-XIF/23-221-XIF2008000.pdf>

SVOBODA, J A; THOMPSON, M J; HERBERT, E W Jr; SHIMANUKI, H (1980) Sterol utilization in honey bees fed a synthetic diet : analysis of prepupal sterols. *Journal of Insect Physiology* 26: 291-294.

SZOLDERITS, M J; CRAILSHEIM, K (1993) A comparison of pollen consumption and digestion in honeybee (*Apis mellifera carnica*) drones and workers. *Journal of Insect Physiology* 39(10): 877-881.

VISSCHER, P K; CRAILSHEIM, K; SHERMAN, G (1996) How do honey bees (*Apis mellifera*) fuel their water foraging flights? *Journal of Insect Physiology* 42(11-12): 1089-1094.

WINSTON, M L (1987) *The Biology of the Honey Bee*. Harvard University Press, Cambridge, MA ; 281pp.

WINSTON, M L (1992) The honey bee colony: life history, In: Graham, J.M. (ed)

The Hive and the Honey Bee. Dadant & Sons; Hamilton, IL; pp 73-93.