



Université de Montréal

**Application d'une stratégie de lutte intégrée contre le  
parasite *Varroa destructor* dans les colonies d'abeilles  
mellifères du Québec**

par Pierre Giovenazzo

Département de sciences cliniques  
Faculté de médecine vétérinaire

Thèse présentée à la Faculté de médecine vétérinaire en vue de  
l'obtention du grade de *philosophiae doctor* (Ph. D.)  
en sciences vétérinaires

Avril 2011

© Pierre Giovenazzo, 2011

« *Abeille : Petit insecte capable de fabriquer du miel.* »

Pierre Elie Ferrier

## Résumé

Le parasite *Varroa destructor* provoque depuis plus de 30 ans la perte de nombreuses colonies à travers le monde. L'utilisation d'acaricides de synthèse s'est avérée inefficace au Canada et ailleurs dans le monde à la suite de la sélection de varroas résistants. Dans ce contexte, il est devenu impératif de trouver de nouveaux moyens pour contrôler cette peste apicole. Ce travail original de recherche a pour but de déterminer les paramètres fondamentaux d'une lutte intégrée contre la varroase fondée sur l'utilisation périodique de différents pesticides organiques (l'acide oxalique, l'acide formique et le thymol) associée à des seuils d'interventions.

Les seuils d'intervention ont été déterminés à l'aide de régressions linéaires entre les taux de parasitisme par *V. destructor* et la formance zootechnique des colonies d'abeilles mellifères (production de miel et force des colonies). Un total de 154 colonies d'abeilles du Centre de recherche en sciences animales de Deschambault (CRSAD) ont été suivies de septembre 2005 à septembre 2006. Les seuils calculés et proposés à la suite de cette recherche sont de 2 varroas par jour (chute naturelle) au début mai, 10 varroas par jour à la fin juillet et de 9 varroas par jour au début septembre.

L'efficacité des traitements organiques avec l'acide oxalique (AO), l'acide formique (AF) et le thymol a été vérifiée en mai (avant la première miellée) en juillet (entre deux miellées), en septembre (après la miellée et pendant le nourrissage des colonies) et en novembre (avant l'hivernage). L'acide oxalique a été appliqué en

utilisant la méthode d'égouttement (4% d'AO p/v dans un sirop de sucrose 1 :1 p/v). L'acide formique a été appliquée sous forme de MiteAwayII™ (tampon commercial imbibé d'AF 65% v/v placé sur le dessus des cadres à couvain), Mitewipe (tampons Dri-Loc™ 10/15cm imbibés de 35 mL d'AF 65% v/v placés sur le dessus des cadres à couvain) ou Flash (AF 65% coulé directement sur le plateau inférieur d'une colonie, 2 mL par cadre avec abeilles). Le thymol a été appliqué sous forme d'Apiguard™ (gélose contenant 25% de thymol p/v placée sur le dessus des cadres à couvain). Les essais d'efficacité ont été réalisés de 2006 à 2008 sur un total de 170 colonies (98 appartenant au CRSAD et 72 appartenant au privé). Les résultats montrent que les traitements de printemps testés ont une faible efficacité pour le contrôle des varroas qui sont en pleine croissance durant cette période. Un traitement avec l'AF à la mi-été permet de réduire les taux de parasites sous le seuil en septembre mais il y a risque de contaminer la récolte de miel avec des résidus d'AF. Les traitements en septembre avec le MiteAwayII™ suivis par un traitement à l'acide oxalique en novembre (5 mL par égouttement entre chaque cadre avec abeilles, 4% d'AO p/v dans un sirop de sucrose 1 :1 p/v) sont les plus efficaces : ils réduisent les niveaux de varroase sous le seuil de 2 varroas par jour au printemps. Nos résultats montrent également que les traitements réalisés tôt en septembre sont plus efficaces et produisent des colonies plus fortes au printemps comparativement à un traitement réalisé un mois plus tard en octobre.

En conclusion, ce travail de recherche démontre qu'il est possible de contenir le développement de la varroase dans les ruchers au Québec en utilisant une méthode

de lutte intégrée basée sur une combinaison d'applications d'acaricides organiques associée à des seuils d'intervention.

**Mots-clés :** *Varroa destructor*, *Apis mellifera*, seuil d'intervention, pesticide organique, acide formique, acide oxalique, thymol.

## **Abstract**

For nearly 30 years, *Varroa destructor* has been responsible for the loss of many honey bee colonies around the world. The continued use of synthetic acaricides has resulted in their reduced efficacy against this pest in Canada and in other countries because of the selection of resistant mite populations. With this situation still present, it has become of utmost importance to develop efficient methods to control this apicultural pest. The major goal of this original work is to determine the fundamental parameters underlying the use of an integrated pest management (IPM) strategy against the varroa mite. The IPM strategy developed in this research is based on the periodic use of organic pesticides (oxalic acid, formic acid and thymol) and treatment threshold.

Treatment thresholds were determined from linear regressions between the varroa mite levels and the zootechnical performances (honey production and colony strength) of honey bee colonies. A total of 154 honey bee colonies from the livestock of the “Centre de recherche en sciences animales de Deschambault” (CRSAD) were monitored from September 2005 to September 2006. Based on our findings, we propose economic treatment thresholds for three periods in the year: early May, late July and early September that are respectively 2, 10 and 9 varroa mites per day.

Efficacy of the various organic treatments: formic acid (FA), oxalic acid (OA) and thymol was evaluated in May (before the first honey flow), in July between two

honey flows, in September (after the honey flow and before the fall feeding of colonies) and in November (before wintering). OA was applied using the trickling method (4% OA w/v in a sucrose syrup 1:1 w/v). FA was applied using MiteAwayII™ (pads imbedded with FA 65% v/v placed on top of brood frames), Mitewipe (Dri-Loc™ pads 10/15cm imbedded with 35 mL FA 65% v/v placed on top of brood frames), Flash (FA 65% poured directly on the bottom board of colonies, 2 mL per frame with bees). Thymol was applied using Apiguard™ (gel with 25% de thymol w/v placed on top of the brood frames). Efficacy trials were realised from 2006 to 2008 on a total of 170 colonies (98 from the CRSAD and 72 owned by a commercial beekeeper). Results show that treatments applied in spring give low efficacy on reducing varroa mite populations that are in full growth at this time because of large amounts of brood available for mite reproduction. Application of a FA treatment in mid-summer offers the opportunity to reduce mite populations at the 11 mites per day September threshold but FA summer application is accompanied by a risk of incorporating residues in the harvested honey. Application of MiteAwayII™ in September followed by an oxalic acid treatment in November (trickling method 4% OA w/v in a sucrose syrup 1 :1 w/v, 5 mL between frames with bees) gave the best efficacy results: varroa mite levels are reduced below the 2 mites per day spring threshold. Our results also show that an early September management strategy of colonies for winter preparation (varroa treatment and fall feeding) gives greater varroa control, higher colony winter survival and stronger colonies in spring when compared to a later treatment in October.



In conclusion, this work shows that varroa mite control in honey bee colonies in Québec is possible by using an integrated pest management strategy based on the application of a combination of organic acaricides in association with treatment thresholds.

**Keywords:** *Varroa destructor*, *Apis mellifera*, treatment thresholds, organic pesticide, formic acid, oxalic acid, thymol

# Table des matières

Résumé.....	III
Abstract.....	VI
Table des matières.....	IX
Liste des tableaux.....	XIII
Liste des figures.....	XV
Liste des sigles et abréviations.....	XVII
Remerciements.....	XVIII
Introduction générale, hypothèse et objectifs de l'étude.....	1
Introduction générale.....	1
Hypothèse et objectifs de l'étude.....	3
Chapitre 1    Revue de la littérature : Impact de <i>Varroa destructor</i> sur l'abeille domestique et son contrôle en apiculture.....	5
Le parasite <i>Varroa destructor</i> :.....	6
Nomenclature.....	6
Historique de l'invasion du parasite.....	7
Morphologie sommaire de <i>Varroa destructor</i> (selon Robaux 1986).....	8
Impact de la varroase sur l'abeille.....	9
Cycle saisonnier de <i>Varroa destructor</i> en relation avec l'abeille domestique <i>Apis mellifera</i> .....	12
Dépistage et l'évaluation du taux de parasitisme de <i>Varroa destructor</i> .....	16
La dynamique des populations de <i>Varroa destructor</i> .....	21
Les méthodes de contrôle de <i>Varroa destructor</i> en apiculture.....	26
La lutte intégrée contre <i>Varroa destructor</i> .....	43

Chapitre 2	Treatment thresholds for control of the honey bee mite <i>Varroa destructor</i> in eastern Canada.....	48
	Abstract .....	50
	Introduction.....	52
	Materials and Methods.....	54
	Honey bee colonies .....	54
	Dependent variables measured.....	55
	Statistical analyses .....	57
	Results.....	58
	Estimation of varroa mite populations in the fall.....	59
	Varroa mite population and honey production .....	60
	Mite population in fall and spring in relation to strength of overwintered colonies .....	60
	Discussion.....	60
	Determination of economic thresholds for varroa mite control.....	62
	References.....	66

Chapitre 3	Evaluation of spring organic treatments against <i>Varroa destructor</i> (Acari: Varroidae) in honey bee <i>Apis mellifera</i> (Hymenoptera: Apidae) colonies in eastern Canada .....	80
	Abstract .....	82
	Introduction.....	84
	Materials and methods .....	85
	Bee colonies .....	85
	Treatments and experimental protocol.....	86
	Dependent variables measured.....	88
	Temperature .....	89
	Formic acid concentration in hives .....	90
	Statistical tests.....	90
	Results.....	91

Colonies and honey yields .....	92
Varroa population.....	93
Oxalic and formic acid residues in honey .....	94
Discussion .....	94
References .....	99
Chapitre 4    Impact of delaying fall <i>Varroa destructor</i> treatments and hive feeding on the winter survival of honey bee <i>Apis mellifera</i> colonies in Eastern Canada .....	108
Abstract .....	110
Introduction.....	111
Methodology .....	112
Honey bee colonies .....	112
Treatments and experimental protocol.....	113
Dependent variables .....	114
Ambient temperature.....	116
Statistical tests.....	116
Results .....	117
Discussion .....	119
References .....	122
Chapitre 5    Utilisation combinée d’acides organiques et de thymol pour le contrôle de <i>Varroa destructor</i> dans les colonies d’abeilles mellifères, <i>Apis mellifera</i> , au Québec .....	128
Résumé.....	129
Introduction.....	131
Matériel et méthode.....	133
Colonies et protocole.....	133
Les traitements anti-varroa et seuils d’intervention.....	134
Les variables dépendantes.....	136
Analyses statistiques .....	138

Résultats .....	139
Populations de <i>Varroa destructor</i> .....	139
Colonies d'abeilles mellifères et production de miel.....	140
Résidus d'acide formique et d'acide oxalique dans le miel.....	141
Présence d' <i>Acarapis woodi</i> et de <i>Nosema</i> sp.....	141
Discussion .....	141
Références.....	145
Chapitre 6    Discussion et conclusions générales .....	155
Évaluation des niveaux d'infestation .....	157
L'utilisation de seuils d'intervention .....	159
Efficacité des acaricides testés .....	164
Limites de ce travail .....	166
La varroase et le futur .....	169
Références.....	171

## Liste des tableaux

Tableau. 1-1 Comparaison entre les deux méthodes de dépistage et d'évaluation des populations de <i>Varroa destructor</i> les plus utilisées par les apiculteurs.....	20
Tableau. 1-2 Seuils d'intervention proposés par le Centre suisse de recherches apicoles pour les ruchers européens.....	47
Table 2-1 Comparison of natural varroa drop and ethanol wash for estimating varroa population in a honey bee colony. ....	78
Table 2-2 Proposed varroa economic thresholds during a beekeeping season. Thresholds are based on daily natural varroa mite drop measured during 5 to 7 consecutive days.....	79
Table 3-1 Description of the various experimental groups.....	103
Table 3-2 Impact of different treatments on honey bee colonies.....	104
Table 3-3 Daily varroa drop before treatment (pre-treatment), during treatment, after treatment (post-treatment) and during September control.. ....	105
Table 4-1 Description of the various experimental groups.....	124
Table 4-2 Impact of different fall strategies on honey bee colonies. ....	125
Table 4-3 Varroa and Nosema infestation levels in the various groups. ....	126
Tableau. 5-1 Description des traitements anti varroas dans les deux stratégies de lutte intégrée (SLI 1 et SLI 2) à l'essai ainsi que les seuils d'intervention utilisés..	151
Tableau. 5-2 Impact des deux stratégies de lutte intégrée SLI-1 et SLI-2 sur les paramètres zootechniques des colonies d'abeilles.. ....	152
Tableau. 5-3 Résidus d'acide formique et d'acide oxalique retrouvés dans le miel récolté des colonies dans les deux stratégies de lutte intégrées SLI-1 et SLI-2 au cours de la saison 2006.. ....	153
Tableau. 6-1 Seuils critiques pour <i>Varroa destructor</i> dans le Canada, les États-Unis et l'Europe.....	160

Tableau. 6-2 Seuils économiques des taux de parasitisme déterminés à partir d'une chute naturelle de varroas (varroas/jour, moyenne sur 7 jours consécutifs) au début mai, à la fin juillet et à la mi-septembre. ....	163
Tableau. 6-3 Recommandations pour l'utilisation de l'acide formique (MiteAwayII™, MiteWipe et Flash), l'acide oxalique (égouttement) et le thymol (Apigard™) durant la saison apicole active d'avril à novembre. ....	165

## Liste des figures

Figure 1-1. Cycle vital simplifié de <i>Varroa destructor</i> . La femelle varroa passe d'un mode de vie phorétique associé aux abeilles adultes vers un mode de vie reproducteur enfermé avec une larve d'abeille (ouvrière ou bourdon).....	13
Figure 1-2 Cycle de développement de <i>Varroa destructor</i> à l'intérieur du couvain operculé.....	14
Figure 1-3 Plateau anti-varroa utilisé au Centre de recherche en sciences animales de Deschambault.....	19
Figure 1-4 Représentation schématique du cycle vital de <i>Varroa destructor</i> . ....	22
Figure 1-5 Prédiction de l'évolution de la population de <i>Varroa destructor</i> dans une colonie d'abeilles mellifères durant trois années consécutives.....	25
Figure 1-6 Impact d'un traitement acaricide annuel (efficacité de contrôle > 99%) sur le développement de la population de <i>Varroa destructor</i> prédit par une modélisation. ....	27
Figure 2-1 Variation of the numbers of worker bees, worker brood and drone brood in honey bee colonies during the 2006 bee season (May-September).. ....	71
Figure 2-2 Daily varroa drop (measured over 5 or 7 consecutive days prior to indicated dates) in the different experimental colonies from May 12 to September 11, 2006.....	72
Figure 2-3 Pearson correlation index ( $r$ ) of the various varroa sampling methods tested.. ....	73
Figure 2-4 Linear regression between daily varroa drop measured in early September 2006 (September 6 to September 11) and the total number of mites in colonies measured during the MiteAwayII™ control treatment (September 11 to October 2 2006) .....	74
Figure 2-5 Linear regression between 2006 honey yield per colony (May 5 to September 6) and daily varroa drop (May 5 to 12).....	75



Figure 2-6 Linear regression between honey yield per bee colony (July to September 2006) and daily varroa drop in mid-July (July 19 to 26) .....	76
Figure 2-7 Linear regression between colony strength ((number frames with bees and brood viewed from above + number frames with bees and brood viewed from below) / 2)) in early May 2006 and daily varroa drop during September 2005 (September 1 to 7).....	77
Figure 3-1 (A) Formic acid concentration in colonies during treatment period. The R <sub>x</sub> symbol indicates an application of corresponding formic acid treatments .....	106
Figure 3-2 Daily average of varroa drop (measured over 7 days) in the different experimental groups during the summer period.....	107
Figure 4-1 Ambient temperatures during the fall management of the colonies in the various experimental groups. ....	127
Figure. 5-1 Évolution de la chute de varroas naturelle journalière pour les deux stratégies de lutte intégrée SLI-1 et SLI-2 pendant un cycle d'apiculture.....	154

## Liste des sigles et abréviations

AF : Acide formique

AO : Acide oxalique

CRSAD : Centre de recherche en sciences animales de Deschambault

EIT : Economic injury threshold

ET : Economic threshold

FA : Formic acid

IPM : Integrated pest management

L : Litre

MAPAQ : Ministère de l'agriculture, des pêcheries et de l'alimentation du Québec

mL : millilitre

OA : Oxalic acid

SLI : Stratégie de lutte intégrée

## Remerciements

Mes premiers remerciements vont à mon directeur de thèse, le professeur Pascal Dubreuil, qui m'a accompagné tout au long de ma formation. Sa disponibilité, son encouragement et ses généreux conseils au cours de certains de mes moments difficiles ont été d'une très grande qualité, et d'un immense réconfort; merci infiniment Pascal.

Cette recherche s'est réalisée grâce au dévouement de l'équipe apicole du CRSAD. La qualité de leur travail doit être soulignée car, sans eux, il n'y a pas de projet réalisable. Merci Émile Houle, technicien apicole; Merci Georges Martin, chargé de projet; Merci Michaël Benoit, ouvrier apicole et Merci Sylvain Gingras, ouvrier apicole.

Ce travail n'aurait pu être mené à bien sans le support du Centre de recherche en sciences animales de Deschambault et l'aide financière du Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec et du Conseil pour le Développement de l'Agriculture du Canada.

Mes remerciements vont également aux entreprises apicoles Les Miels Gauvin et les Miels Dubreuil pour leur précieuse collaboration durant les travaux de recherche sur l'impact des traitements d'automne (chapitre 4).

En terminant, je tiens à remercier monoureuse Natali pour sa confiance, sa patience et sa grande discrétion tout au long de ce travail. Natali, lorsque je doutais de mes capacités à mener à terme ce projet, tu étais ma source de courage et de motivation.

Je termine ce préambule avec une phrase dédiée à mon fils Léonard : *<Cultive tes rêves avec grands soins et poursuis tes projets avec ardeur, car sans eux la vie n'a plus de sens>*.

# **Introduction générale, hypothèse et objectifs de l'étude**

## **Introduction générale**

L'acarien *Varroa destructor* (Anderson and Trueman 2000) est un parasite de l'abeille mellifère, *Apis mellifera* (Linnaeus 1758), qui provoque toujours de nombreuses pertes de colonies à travers le monde. L'arrivée de ce parasite au Canada (province du Nouveau-Brunswick) date de 1989 selon le Conseil canadien du miel et l'introduction serait reliée au mouvement des colonies d'abeilles de l'état de la Floride (États-Unis) vers les états du nord (Maine, Vermont et New York). Au Québec, les premières infestations du parasite date de 1997 (Boucher 2000) et les niveaux de parasitisme du cheptel ont été contrôlés efficacement pendant quelques années avec l'utilisation d'une pyréthrine de synthèse (le fluvalinate-tau en bandes : Apistan™). L'utilisation annuelle répétée de ce produit (seul pesticide de synthèse homologué durant ces années) a provoqué le remplacement graduel des populations de varroas par des populations résistantes au fluvalinate-tau. L'apparition de cette résistance a mené aux importantes mortalités (40% à 50%) des colonies d'abeilles survenues lors de l'hivernage 2002-2003 (Boucher 2003). Suite à cet évènement, l'Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire (ARLA) de Santé Canada a émis une homologation d'urgence et temporaire du produit commercial CheckMite™ (bandes imprégnées de coumaphos) afin de contrôler plus efficacement les

populations de varroas dans les colonies d'abeilles. Quelques années plus tard, le même scénario se répète et le premier cas de résistance au coumaphos au Québec survient (Tremblay 2006). Cette nouvelle résistance mène l'ARLA à émettre une nouvelle homologation d'urgence et temporaire de bandes imprégnées d'amitraz : l'Apivar™. Dans ce contexte, il est devenu primordial d'offrir aux apiculteurs canadiens et principalement ceux de l'est du Canada de nouveaux moyens de lutte pour contenir l'action dévastatrice de la varroase.

Depuis l'arrivée de *Varroa* en Allemagne (1981) et suite à sa propagation à travers les pays de l'union européenne, plusieurs moyens de lutte ont été mis en place pour contrer cette peste apicole. Plusieurs chercheurs et apiculteurs européens avaient souligné l'importance de déterminer des taux de parasitisme spécifiques, c'est à dire des niveaux d'infestation (seuils d'infestation) qui guideraient les apiculteurs dans leur stratégie de lutte. Les travaux de recherche réalisés par le Centre suisse en recherche apicole ont permis d'établir des seuils d'intervention et de tester l'efficacité de nouveaux acaricides organiques (acides oxalique, acide formique et le thymol) dans le cadre d'une stratégie de lutte intégrée. Cette stratégie de lutte anti-varroa comprend trois points fondamentaux : 1) le dépistage et l'établissement des niveaux d'infestation; 2) l'utilisation de seuils d'intervention et 3) l'utilisation complémentaire de différents moyens de contrôle. Cette approche innovatrice en apiculture a été adoptée par plusieurs autres pays et est maintenant à la base de plusieurs programmes de lutte anti-varroa à travers le monde apicole. C'est à partir de ces notions fondamentales de la lutte intégrée que nous avons élaboré l'hypothèse de

ce travail et les objectifs spécifiques associés aux différents protocoles expérimentaux réalisés dans le cadre de ces études.

## **Hypothèse et objectifs de l'étude**

Ce travail de recherche vise à développer les connaissances et les moyens de contrôles de la varroase et de proposer une méthode de lutte intégrée contre la varroase pour l'apiculture québécoise.

### Hypothèse

L'utilisation de différents varroacides en conjoncture avec des seuils d'intervention permet de contrôler efficacement *Varroa destructor* dans les colonies d'abeilles domestiques, *Apis mellifera*, au Québec.

Objectif 1 : Comparer différentes méthodes de dépistage du parasite *V. destructor* dans une colonie d'abeilles mellifères.

Objectif 2 : Décrire la dynamique de la relation entre le parasite *V. destructor* et son hôte *A. mellifera* au cours d'une saison apicole et proposer des seuils d'intervention.

Objectif 3 : Faire une évaluation de l'efficacité de différents moyens de luttés contre *V. destructor* dans les ruchers du Québec à différentes périodes de l'année. Les produits testés sont différents acaricides organiques : acide oxalique; acide formique et le thymol.

Objectif 4 : Vérifier l'efficacité de deux stratégies de lutte intégrée originales en combinant des acaricides organiques et des colonies d'abeilles mellifères présentant des taux d'infestation correspondants aux seuils d'intervention trouvés.



**Chapitre 1    Revue de la littérature : Impact de  
*Varroa destructor* sur l'abeille domestique et son  
contrôle en apiculture**

Cette revue de littérature porte sur *Varroa destructor* et son hôte *Apis mellifera* et *Apis cerana*. Une attention particulière est donnée sur les interactions physiopathologiques et sur les moyens de luttés contre ce parasite en préconisant une approche intégrée. Les références sont limitées aux articles de langues anglaise et française répertoriés dans les bases de données usuelles, complétées par des livres et résumés de conférence jugés pertinents.

## **Le parasite *Varroa destructor* :**

### **Nomenclature**

*Varroa destructor* (Anderson and Trueman 2000) est un acarien dont la cladogenèse en débutant avec les Euarthropodes est : Euarthropodes, Chélicérates, Arachnides, Acariens, Mesostigmata, Varroidae, *Varroa destructor* (Lecointre et Le Guyadier 2008, Krantz et Walter 2009).

Les Varroidae regroupent des ectoparasites obligatoires qui se nourrissent exclusivement de l'hémolymphe des abeilles du genre *Apis*. Les deux espèces les plus connues sont : *Varroa jacobsoni*, parasite d'*Apis cerana* et *Varroa destructor*, parasite d'*Apis mellifera*.

## Historique de l'invasion du parasite

Selon Le Conte et Jeanne (1991), suivant la deuxième guerre mondiale plusieurs importations d'abeilles mellifères *A. mellifera*, provenant d'Europe, furent effectuées vers l'Indonésie afin d'améliorer le rendement de leur production apicole. Le rapprochement d'*A. mellifera* avec l'abeille indigène asiatique *A. cerana* fit en sorte que son parasite *V. jacobsoni* a rapidement réussi à s'établir sur ce nouvel hôte. Malgré le fait que *Varroa* ne semblait guère affecter *A. cerana* et même vivre avec un certain équilibre écologique avec son hôte (Rath 1999), il s'avéra un parasite important pour *A. mellifera*. Des exportations d'abeilles à partir de ce premier foyer d'infestation (Indonésie) vers le continent asiatique et vers le Japon ont créé de nouveaux sites d'infestation et fait en sorte d'accentuer sa propagation. On découvre les varroas en U.R.S.S. en 1967 et la propagation s'effectue rapidement à toute l'Europe de l'Est. En 1981, des colonies d'abeilles infestées par la varroase sont retrouvées en Allemagne (Ritter et Ruttner 1981) et l'année suivante on en retrouve en France.

Son arrivée dans les Amériques semble s'être produite selon 2 origines d'après les analyses génomiques du parasite (de Guzman et al. 1997). En Amérique du Sud, il apparaît pour la première fois au Paraguay en 1971 et serait d'origine japonaise. En Amérique du Nord, il apparaît pour la première fois aux États-Unis en 1987 dans l'État de la Floride et serait d'origine européenne. On le retrouve au

Canada en 1989 dans la province du Nouveau-Brunswick et malgré toutes les précautions du transport interprovincial des colonies d'abeilles, ce parasite se retrouve au Québec en 1997 et, peu longtemps après, dans toutes les provinces canadiennes à l'exception de Terre-Neuve.

C'est à la suite des travaux d'Anderson et Trueman (2000) que l'on reconnaît qu'il y a deux espèces de varroas qui infestent les abeilles *A. cerana* et *A. mellifera*. La nouvelle classification proposée par ces chercheurs est basée sur une analyse génomique, phénotypique et reproductive : il y a deux haplotypes distincts au niveau du gène mtDNA CO-I (identifiés type coréen et type japonais), les femelles ont une forme différente (largeur et structure sphérique) et il y a une isolation reproductive entre les femelles. La varroase de l'abeille *A. mellifera* est donc causée par l'haplotype type coréen que ces chercheurs ont identifié comme étant *V. destructor* présent en Europe et en Amérique du Nord. Dans la littérature datant de 2000 et moins, la varroase est erronément attribuée à l'impact du parasite *V. jacobsoni* sur l'abeille européenne *A. mellifera*.

### **Morphologie sommaire de *Varroa destructor* (selon Robaux 1986)**

*V. destructor* est un ectoparasite de l'abeille domestique et de ses formes larvaires. La femelle adulte que nous détectons facilement est de forme elliptique, aplatie dorso-ventrale et de couleur brun-rouge (Bautz et Coggins 1992). Elle mesure

1.1-1.2 mm de long par 1.5-1.6 mm de large. Le mâle, qui ne se retrouve que durant le cycle larvaire de l'abeille, est plus petit et blanc-jaune. Il mesure environ 0.7 mm de long par 0.7 mm de large. Les mâles ne se nourrissent pas et se retrouvent uniquement à l'intérieur des cellules de couvain.

### **Impact de la varroase sur l'abeille**

Les varroas femelles se nourrissent de l'hémolymphe des larves et des adultes des abeilles ouvrières, des faux-bourçons et même des reines abeilles (Ifantidis 1983). La forme aplatie et la forte musculature des pattes munies de crochets permet aux varroas de bien s'accrocher à son hôte. Les pièces buccales des varroas leur permettent de percer la cuticule des abeilles et des larves et de se nourrir de leur hémolymphe. Cette invasion du milieu interne de l'abeille par *V. destructor* est à la base de la pathologie de la varroase et est fort probablement la cause de plusieurs infections virales et bactériennes secondaires (Ball et Allen 1989; Chen et Siede 2007; Sammataro et al. 2000).

Les larves d'abeilles qui se développent en présence de varroas vont souffrir de malnutrition, de perte d'hémolymphe ayant comme répercussion à l'âge adulte une diminution de l'activité générale, une diminution de la capacité de vol et une diminution de la durée de vie (Dejong et al. 1982). Plus le nombre de varroas est grand, plus les symptômes se manifestent avec virulence et mènent à des

malformations (souvent une déformation des ailes), l'apparition d'infections secondaires (surtout virales) et la mort. Ces abeilles sont éliminées de la colonie. On les observe souvent sur l'herbe, devant la colonie, incapables de s'envoler. Quant à eux, les faux-bourçons démontrent une réduction du potentiel reproductif et leur nombre baisse considérablement dans les colonies (Duay 2002; Duay et al. 2003).

Au niveau de la colonie, les symptômes de la varroase se manifestent en fonction du degré d'infestation. À de faible taux, les symptômes sont absents. Plus les niveaux d'infestation augmentent, plus les symptômes sont apparents. On observe la surface du couvain perforée de cellules vides et que les ouvrières et les mâles naissent avec des ailes difformes (symptôme également associé au virus des ailes déformés) et des abdomens de taille réduite (Duay 2002). Ces abeilles ont de la difficulté à voler et marchent difficilement sur les cadres. On retrouve des larves à l'entrée de la colonie qui auront été retirées par les abeilles des alvéoles. Une colonie fortement infestée durant la saison estivale aura beaucoup de difficulté à produire des jeunes abeilles en santé à l'automne et verra sa survie à l'hivernage fortement hypothéquée (Fries et al. 2003; 2006). Une colonie fortement infestée par la varroase s'effondre graduellement au bout de deux saisons (Buchler 1994; Fries et al. 2006). Cet effondrement de la colonie est associé à un syndrome typique communément appelé le syndrome parasitaire aigu de la varroase (<parasitic mite syndrome>, (Shimanuki et al. 1994).

La découverte assez récente de la complexité de la réponse immunitaire chez les insectes et chez les abeilles (Hoffmann 1995), a permis de mieux comprendre le fonctionnement d'une variété de peptides antimicrobiens sécrétés par divers tissus des

insectes. Chez les abeilles en santé, la présence d'un pathogène dans son milieu interne provoque l'enclenchement d'une grande variété de mécanismes de défenses qui partagent des ressemblances avec la réponse immunitaire humorale des vertébrés (Hoffmann 1996; Hoffmann et al. 1999).

La revue de littérature par Sammataro et al. (2000) identifie plusieurs implications physiopathologiques de la varroase sur les abeilles mellifères. Ces auteurs soulignent le potentiel pathogène non pas de l'action directe du parasitisme sur la santé de l'abeille mais plutôt de l'impact des pathogènes associées à la présence des varroas. À ce jour, 18 virus des abeilles ont été identifiés et on reconnaît maintenant que les varroas peuvent agir comme vecteurs ou hôtes multiplicateurs de plusieurs de ces virus (Ball et Allen 1988; Noel 1997; Bowen-Walker et al. 1999; Hung et Shimanuki 1999; Martin 2001; Bakonyi et al. 2002; Elzen 2003; Nordstrom 2003; Chen et al. 2004; Tentcheva et al. 2004; Shen et al. 2005; Chantawannakul et al. 2006; Chen et al. 2006; Tentcheva et al. 2006; Tentcheva et al. 2008). Le travail de Shen et collaborateurs (2005) souligne quatre points pertinents qui supportent l'hypothèse de la présence d'interactions physiopathologiques complexes entre les varroas et l'abeille domestique. Premièrement, l'apparition de signes cliniques associés à des maladies virales dans le monde apicole coïncide avec l'émergence de la varroase sur *A. mellifera* dans les années 1970. Lorsque les varroas ont envahi les États-Unis en 1987, les cas d'infections virales ont augmenté significativement et celles-ci correspondent à une croissance du nombre de pertes de colonies d'abeilles à travers le pays. Deuxièmement, plusieurs virus de l'abeille ne sont pas habituellement

létaux pour une colonie. En Grande-Bretagne, par exemple, avant l'arrivée de *V. destructor* en 1992, le virus de la paralysie aigue de l'abeille n'a jamais causé la mort de colonies. Par contre, depuis 1992, les infections jumelées de ces deux pathogènes causent souvent la mort d'une colonie. Troisièmement, on mesure des concentrations virales plus grandes dans les abeilles infestées avec la varroase comparativement aux abeilles sans varroase (par exemple le virus des ailes difformes et le virus de la paralysie aigue). Quatrièmement, on a détecté des virus dans les tissus des varroas. Ces informations suggèrent qu'il y a une action synergique du parasite *V. destructor* avec certains virus. La pathogénèse de la varroase facilite l'infestation par certains virus et potentialise leur virulence. Cette action synergique est peut être à l'origine de plusieurs cas de mortalité d'abeilles et même de l'effondrement complet de colonies (Martin 2001).

### **Cycle saisonnier de *Varroa destructor* en relation avec l'abeille domestique *Apis mellifera***

La phénologie de *V. destructor* se réalise en étroite relation avec le cycle de développement de l'abeille mellifère *A. mellifera*. Le cycle vital de ce parasite est bien connu en apiculture et a fait l'objet de plusieurs travaux de recherche. Les informations ci-dessous résument principalement les écrits de Donzé et Guerin (1994), Ifantidis (2007), Le Conte (1991), Robaux (1986), Rosenkranz (2009) et Sammataro et al. (2000).



Il y a deux phases distinctes dans le cycle vital des femelles *V. destructor* : une phase phorétique sur les abeilles et une phase reproductive dans le couvain operculé des ouvrières et des bourdons (Figure 1-1).

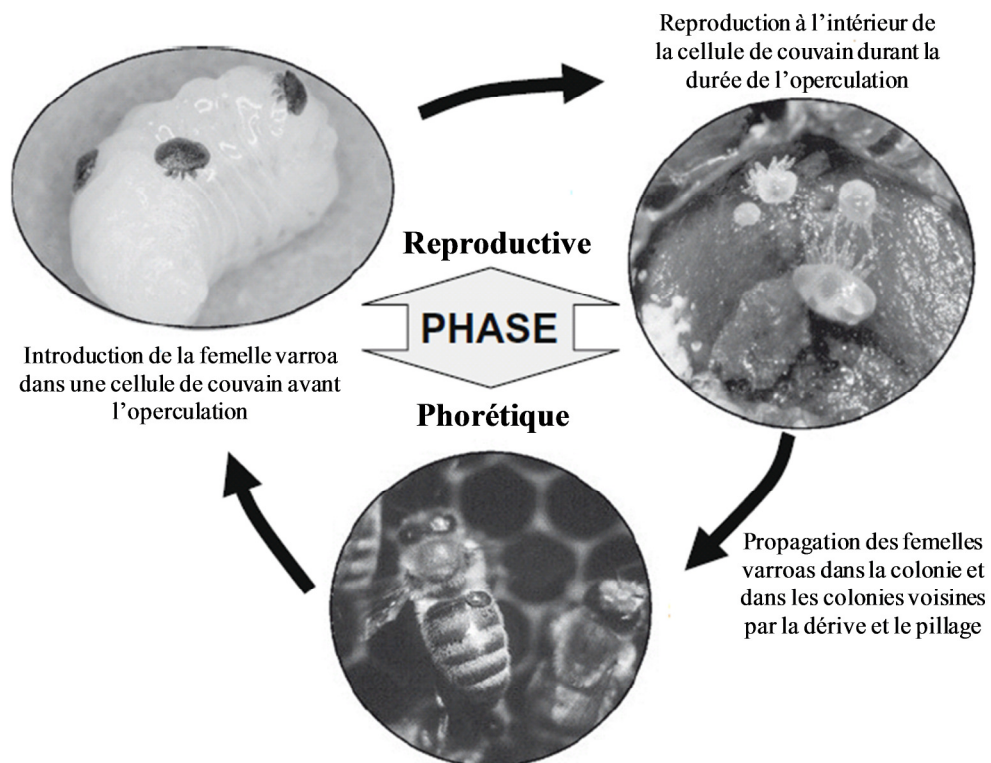


Figure 1-1. Cycle vital simplifié de *Varroa destructor*. La femelle varroa passe d'un mode de vie phorétique associé aux abeilles adultes vers un mode de vie reproducteur enfermé avec une larve d'abeille (ouvrière ou bourdon). Figure adaptée de Rosenkranz (2009).

La phase phorétique sur l'abeille adulte peut durer quelques jours en période de développement des abeilles, à plusieurs mois en hiver. En présence du couvain, la femelle varroa quitte l'abeille adulte et pénètre dans une cellule contenant une larve de 5 à 6 jours (Figure 1-2). Elle se dirige au fond de la cellule et se cache en attendant que la cellule soit operculée et que la larve commence sa nymphose.

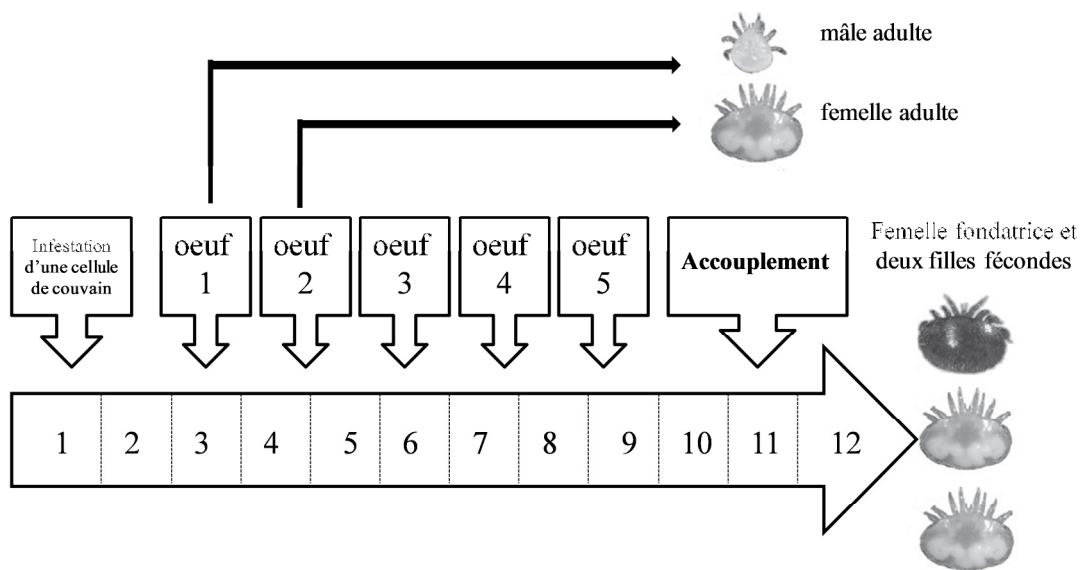


Figure 1-2 Cycle de développement de *Varroa destructor* à l'intérieur du couvain operculé. L'infestation d'une cellule de couvain par une femelle fondatrice se fait juste avant l'operculation de la cellule. Environ trois jours après l'operculation, un premier œuf est pondu qui donnera un mâle. Les autres œufs (5 œufs au total) seront pondus à des intervalles d'environ 30 heures et donneront des jeunes femelles. Les premières jeunes femelles seront fécondées par le mâle. À l'émergence de l'abeille ouvrière il y a en moyenne 2 femelles varroas fécondées avec la femelle fondatrice. Figure adaptée de Rosenkranz (2009).

Par contre, lors de fortes densités parasitaires, plusieurs femelles peuvent entrer dans une même cellule et ainsi contribuer à augmenter le flux génétique. A l'émergence de la jeune abeille, la femelle varroa fondatrice est libérée de la cellule avec ses filles fécondées, alors que les stades immatures des femelles, les derniers œufs et le mâle sont éliminés par les abeilles nettoyeuses. La femelle fondatrice produit en moyenne 1,3-1,45 fille fécondée dans le couvain d'ouvrières et 2.2-2.6 dans le couvain de mâles (Donzé et al. 1996; Martin 1994; Martin 1995a; Martin 1995b). Durant sa vie, une femelle varroa peut réaliser entre 2 et 7 cycles de reproduction (Deruijter 1987; Fries et Rosenkranz 1996; Martin et Kemp 1997). Le parasite est très mobile et peut se déplacer d'une abeille à l'autre pour se propager dans la colonie. Il se disperse aussi d'une ruche à l'autre et à travers différents ruchers en s'accrochant sur les faux-bourçons qui sont acceptés par toutes les colonies, par la dérive des ouvrières et lors de pillage (Kralj et Fuchs 2006). Mais la propagation la plus efficace s'opère avec les apiculteurs lors des transhumances et des déplacements d'abeilles parasitées qui se produisent dans le monde entier. De nombreux facteurs semblent agir sur la dynamique des populations de varroa, comme par exemple l'espèce ou la race d'abeilles et le climat. Certaines abeilles peuvent développer ou posséder des comportements innés aidant à combattre cet acarien en détruisant les cellules de couvain infestées. Ce comportement a récemment été identifié sous le nom de "Varroa sensitive hygiene" (VSH) par les chercheurs Dr. John Harbo et Dr. Jeffrey Harris du « Honey Bee Breeding Laboratory » à Baton Rouge en Louisiane (Harbo and Harris 2005; Harris 2007).

## **Dépistage et l'évaluation du taux de parasitisme de *Varroa destructor***

C'est par le dépistage qu'il est possible de contrôler l'arrivée puis de suivre la progression de la varroase dans un cheptel apicole. Par ailleurs, il est important de connaître le taux de parasitisme dans une colonie avant ou après un traitement. C'est donc une intervention essentielle dans la gestion de ce parasite en apiculture. Plusieurs méthodes sont disponibles et elles ont chacune leur niveau de sensibilité, leurs avantages et leurs inconvénients (Devlin 2001). Il est important de souligner qu'en période d'absence de couvain les varroas sont phorétiques et qu'en période de développement de la colonie (printemps et début de l'été) la majorité des acariens sont en phases reproductives enfermés avec le couvain operculé. Voici donc une brève description des méthodes les plus couramment utilisées pour estimer le niveau de parasitisme dans une colonie.

- **Inspection visuelle :** Cette méthode permet un dépistage sommaire de la présence du varroa dans une colonie ou un rucher. À la suite de l'ouverture de la colonie, il faut observer attentivement les abeilles sur les cadres de la chambre à couvain. Les varroas peuvent être vus cachés entre les segments abdominaux des abeilles laissant seulement une petite portion de leur corps exposé. Quelquefois, on peut les observer se déplacer sur les abeilles et sur les cadres. C'est une méthode sans précision mais rapide.
- **Inspection du couvain :** Cette méthode offre une estimation peu précise du niveau d'infestation des varroas dans une colonie. Les varroas ayant une

préférence pour le couvain de mâle, il est donc possible de détecter la présence des varroas dans celui-ci (Ritter et Ruttner 1981; Schulz 1984; Fuchs 1985). On peut utiliser un peigne à <désoperculation> pour extraire environ 100 pupes de mâles operculées et de les examiner pour la présence de varroas. Certains travaux de recherche ont vérifié l'efficacité de cette méthode en échantillonnant le couvain d'ouvrières (Fries et al. 1991; Floris 1997) et ont démontré qu'il faut vérifier beaucoup plus de couvain d'ouvrières (près du double soit 200 pupes d'ouvrières) comparativement au couvain de mâles pour atteindre la même précision.

- Lavage à l'éthanol : Cette méthode permet d'obtenir un taux d'infestation des abeilles. Des abeilles (environ 200 abeilles) sont recueillies sur les cadres de la chambre à couvain et placées dans un bocal contenant 250 mL d'alcool éthylique ou isopropylique (Dejong et al. 1982; Calderone et Turcotte 1998). On place un couvercle et on secoue le bocal pour au moins une minute afin de bien déloger les varroas. On verse le tout à travers une passoire qui retiendra les abeilles suivi d'une autre passoire qui retiendra les varroas mais laissera s'écouler l'alcool. Un comptage des varroas permet de calculer un taux d'infestation (nombre de varroas par 100 abeilles). Cette méthode est peu coûteuse, assez précise et se fait en une visite au rucher. Par contre, elle nécessite l'ouverture de la colonie et le sacrifice de quelques centaines de jeunes abeilles.

- Chute naturelle sur carton autocollant (Figure 1-3) : c'est la plus sensible des méthodes de dépistage dans une colonie avec ou sans couvain (Fries et al. 1991). Cette méthode ne permet pas de calculer un pourcentage d'infestation par contre la chute naturelle de parasites est fortement corrélée au nombre total de varroas dans la colonie (Delaplane 1997; Delaplane et Hood 1999; Delaplane et al. 2005). La méthode consiste à placer sur le plancher de la ruche un carton collant aux dimensions du plancher et recouvert d'un grillage (8 mailles au pouce) qui retient les abeilles mais laisse passer les varroas. Le nettoyage des alvéoles, le nettoyage des abeilles sur elles-mêmes et entre elles, de même que les varroas morts résultent en une chute naturelle des varroas au fond de la ruche (Calderone 1999; Ostiguy et Sammataro 2000; Harris 2007). Ces varroas, ainsi que plusieurs débris, peuvent être récupérés sur un carton collant placé sous le grillage au fond de la ruche. Un plateau muni d'un tel montage est connu sous le nom de plateau anti-varroa. Pour une détection efficace, on laisse le carton pendant plusieurs jours (jusqu'à une semaine). Après ce délai, il est retiré et tous les varroas tombés sont comptés. Normalement la valeur du taux de parasitisme est donnée sous forme du nombre de varroas tombés en 24 heures (moyenne sur plusieurs jours de dépistage). C'est une méthode simple, précise et ne nécessite pas l'ouverture de la colonie. Par contre, la ruche nécessite une modification importante (plateau anti-varroa) et deux visites consécutives.

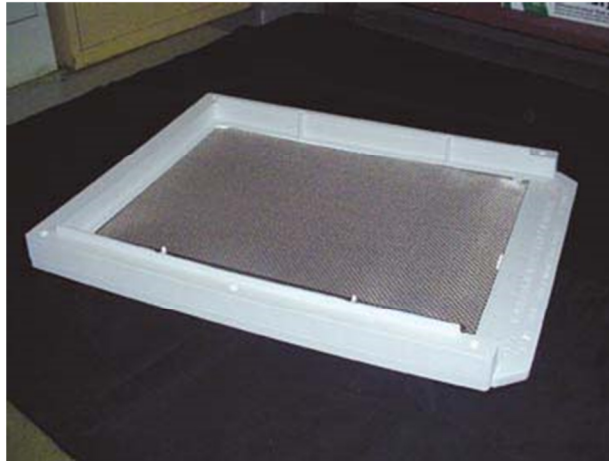
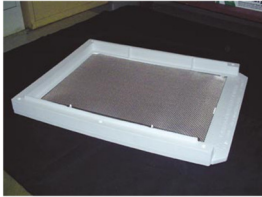



Figure 1-3 Plateau anti-varroa utilisé au Centre de recherche en sciences animales de Deschambault. Ce plateau de fabrication commerciale (Varroa-nator™, Dimo's Tool & Die Ltd) est placé sur la base de la ruche sous la première hausse à couvain. (photo<http://www.halross.com/English/product-varroa.asp>).

Selon nos observations chez plusieurs apiculteurs du Québec et du Canada, les deux méthodes de dépistage et d'évaluation des populations de varroas les plus couramment utilisées sont le lavage à l'éthanol et la chute naturelle. Ces méthodes offrent des avantages et des désavantages (Tableau 1) et chaque apiculteur choisira la méthode qui convient à son entreprise. Peu importe la méthode choisie, l'apiculteur doit être conscient de l'importance de connaître l'état d'infestation par le varroa dans les colonies de son cheptel. Cette information lui permettra de bien cibler et synchroniser les traitements anti-varroa au cours de la saison apicole.

Tableau. 1-1 Comparaison entre les deux méthodes de dépistage et d'évaluation des populations de *Varroa destructor* les plus utilisées par les apiculteurs.

Paramètres du dépistage	Méthodes de dépistage et d'évaluation des populations de varroas	
	Chute naturelle	Lavage à l'alcool
		
Valeur mesurée	Mesure de l'abondance (chute de varroas/jour)	Mesure de densité (% d'abeilles parasitées)
Corrélation avec la population de varroas dans la colonie	élevée	moyenne
Effet de la répétition sur la colonie	peu	important
Ouverture ruche	non	oui
Modification ruche	oui	non
Travail	important	important
Déplacement vers les colonies	2 fois	1 fois
Attentions particulières		
Force des colonies	Important	+ou – important
Échantillonnage	Plusieurs jours consécutifs	300 jeunes abeilles
Coût approximatif / colonie (en 2010)		
Investissement initial	15 à 20\$ /plateau anti-varroa 2\$ / carton collant	3\$ / pot + éthanol
Récurrent / échantillonnage	2\$ temps de travail	1\$ temps de travail



## **La dynamique des populations de *Varroa destructor***

Lorsqu'une colonie d'abeilles infestées par des varroas n'est pas traitée efficacement contre ce parasite, cette colonie s'effondrera au bout de quelques années (Fries et al. 1991; Buchler 1994; Martin 1995). Le niveau de parasitisme qui provoque l'effondrement d'une colonie dépend de plusieurs facteurs et ne correspond pas nécessairement à un nombre fixe de parasites. Il dépend de plusieurs facteurs associés au parasite et à la colonie d'abeilles infestée (Rosenkranz 1985; Rosenkranz et Engels 1994; Call et al. 1996; Calis et al. 1999; Delaplane and Hood 1999; Fries et al. 2003; Currie et Gatién 2006; Currie et Tahmasbi 2008).

Le développement des acariens dans une colonie est fortement influencé par la densité de la population d'abeilles et de couvain (ouvrières et mâles), la période de l'année, le climat, la miellée, l'essaimage, l'expression du comportement d'auto-nettoyage des abeilles et la présence d'autres pathogènes (par exemple les virus). Certains auteurs ont tenté de créer des modèles mathématiques afin de décrire la dynamique des populations de varroas dans les colonies d'abeilles mellifères. L'objectif de tels modèles est de maximiser les stratégies de lutte visant à contrôler ce parasite. Les modèles proposés par Martin (1998) et par Fries et al. (1994) intègrent plusieurs facteurs associés au développement des varroas dans une colonie. Les interactions entre ceux-ci et leur impact sur la dynamique d'une colonie et des varroas sont présentés à la Figure 1-4.

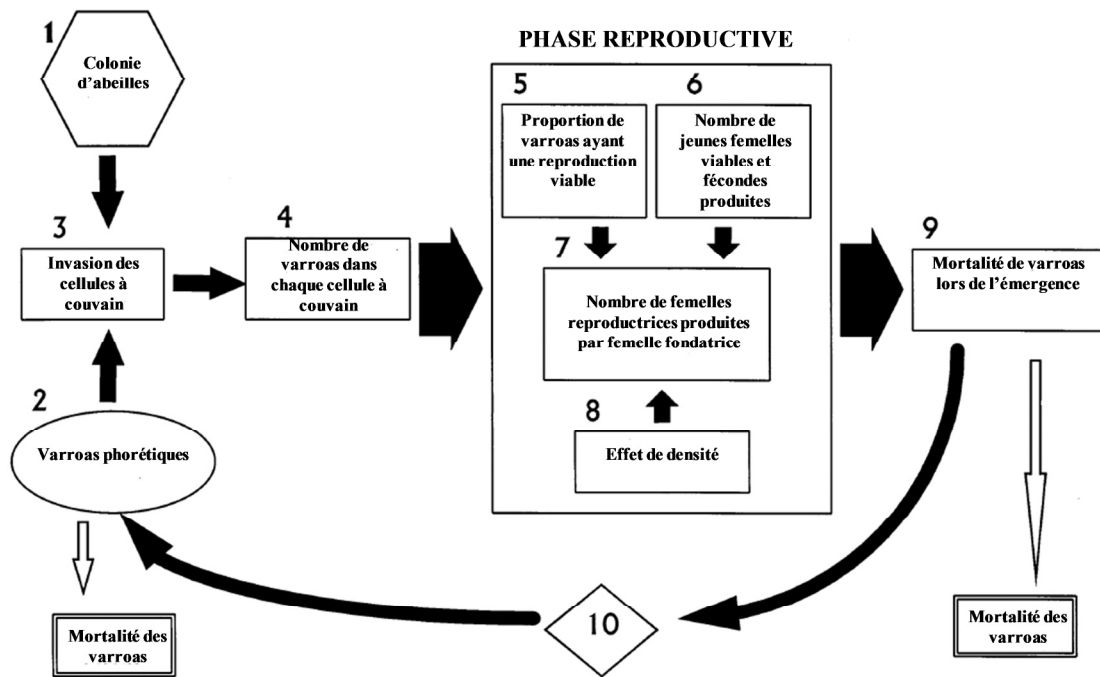


Figure 1-4 Représentation schématique du cycle vital de *Varroa destructor*. Chaque numéro indique un facteur intégré dans la modélisation mathématique décrivant la dynamique de population de varroas dans une colonie d'abeilles mellifères. Chaque facteur est brièvement décrit dans le texte principal. Figure adaptée de Martin (1998).

Dans la modélisation présentée à la Figure 1-4, les facteurs intégrés dans la formule mathématique sont :

- Facteur 1. La colonie d'abeilles : le nombre total d'abeilles ouvrières et de couvain d'ouvrières et de faux-bourdons (œufs, larves et pupes) présents dans une colonie au cours de la saison apicole. Ces valeurs sont connues et dépendent de l'ontogenèse des ouvrières et des mâles dans la colonie.

- Facteur 2. Les varroas phorétiques : nombre total de varroas dans la colonie. Il faut tenir compte du taux de mortalité des varroas.
- Facteur 3. Le taux d'invasion des varroas dans les cellules de couvain. Ce taux d'invasion est en relation avec la quantité de couvain (des ouvrières et des mâles) et le nombre d'abeilles ouvrières dans la colonie.
- Facteur 4. Nombre de varroas qui entrent dans chaque cellule de couvain. Une ou plusieurs femelles varroas fondatrices peuvent envahir une cellule à couvain. Ce nombre augmente avec l'augmentation de la densité des varroas dans une colonie.
- Facteur 5. Proportion de varroas ayant une reproduction viable : Ce n'est pas toutes les femelles fondatrices qui réussissent à produire des jeunes femelles viables et fécondes. Parmi les explications possibles, il y a la mort de la femelle fondatrice ou la mort du mâle.
- Facteur 6. Nombre de jeunes femelles viables et fécondes produites : Cette variable dépend du nombre d'œufs pondus et de la survie de la descendance femelle.
- Facteur 7. Nombre de femelles reproductrices produit par femelle fondatrice : Cette valeur est obtenue par la multiplication du facteur 6 par le facteur 5.
- Facteur 8. Effet de la densité : Avec l'augmentation de la population de varroas, il y a une augmentation de la probabilité qu'une cellule de couvain se fasse envahir par plus d'une femelle varroa fondatrice. Cette augmentation du nombre de varroas dans les cellules de couvain augmente la compétition

alimentaire des varroas et réduit le nombre de descendants produits par chaque varroa.

- Facteur 9. Mortalité des varroas à l'émergence : incapacité des jeunes femelles varroas de s'accrocher à une abeille ou l'auto nettoyage des abeilles peut causer la chute des varroas.
- Facteur 10. C'est le lien entre la phase reproductive et la phase phorétique.

À partir de ces facteurs, le modèle de Martin (1988) permet de prédire la dynamique de la population de varroas dans une colonie située dans une région tempérée avec un climat continental. La croissance d'une population de varroas avec des niveaux d'infestation initiale au temps 0 de 1, 10 et 100 varroas dans une colonie est présentée à la Figure 1-5.

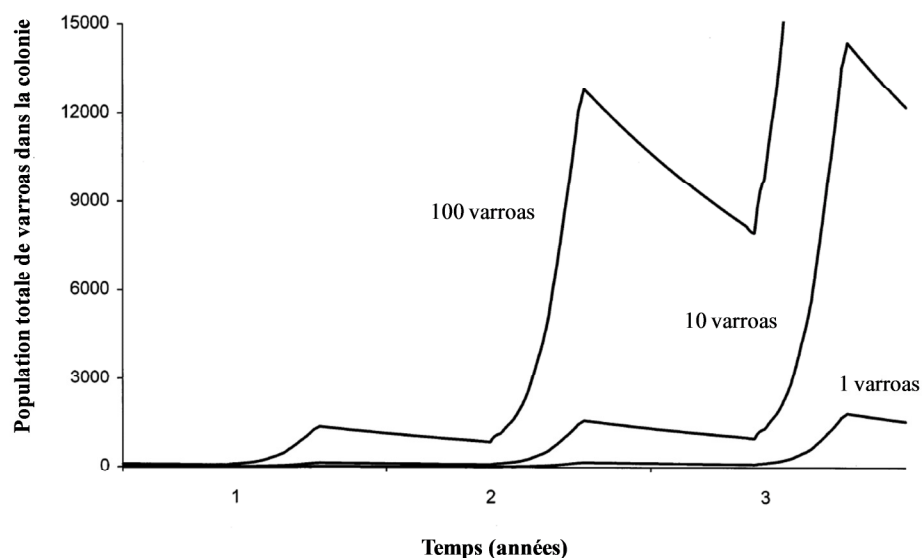


Figure 1-5 Prédiction de l'évolution de la population de *Varroa destructor* dans une colonie d'abeilles mellifères durant trois années consécutives. Chaque tracé correspond à un nombre différent de varroas au départ de la modélisation (1, 10 et 100 varroas). Figure adaptée de Martin 1998.

Tel que prédit par la modélisation, la population de varroas augmente durant les périodes de présence de couvain dans la colonie. Selon ce modèle basé sur la présence de couvain pendant 6 mois, la population augmente par un facteur de 12 à chaque année.

Cette nouvelle compréhension de la dynamique d'une population de varroas offre la possibilité d'envisager plusieurs moyens de contrôle contre ce parasite et de bien synchroniser l'application d'un traitement antiparasitaire avec l'évolution de la population de varroas. Le premier élément à être utilisés actuellement en apiculture

dans le contrôle de la varroase est le dépistage des populations et l'évaluation de leur densité dans une colonie. Avec la connaissance de la densité des varroas, les apiculteurs peuvent mieux cibler les moyens de contrôle et de les intégrer dans le cadre d'une stratégie de lutte.

## **Les méthodes de contrôle de *Varroa destructor* en apiculture**

### **Les pesticides de synthèse**

L'utilisation d'un pesticide efficace est essentielle afin de minimiser l'impact de la varroase sur les colonies d'abeilles. Un pesticide qui éliminera 99% de la population de varroas permet de contenir efficacement le développement de la varroase dans une colonie (Figure 1-6) (Martin 1998).

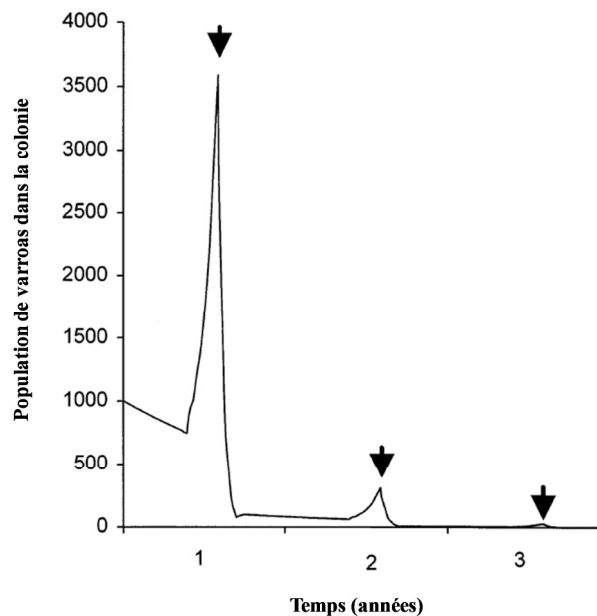


Figure 1-6 Impact d'un traitement acaricide annuel (efficacité de contrôle > 99%) sur le développement de la population de *Varroa destructor* prédit par une modélisation. Figure adaptée de Martin (1998).

En 2011, les traitements les plus efficaces contre les varroas (efficacité > 99%) offerts par l'industrie pharmaceutique canadienne et homologués par l'Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire de Santé Canada (ARLA) sont des traitements chimiques à base de trois molécules acaricides de synthèse : le fluvalinate-tau (Apistan<sup>TM</sup>), le coumaphos (CheckMite+<sup>TM</sup>) et l'amitraz (Apivar<sup>TM</sup>). Mais l'utilisation de ces produits peut présenter des inconvénients tels que leur toxicité éventuelle vis-à-vis des abeilles, le risque de contamination des produits de la ruche et surtout l'apparition d'acariens résistants à ces molécules acaricides (Collins

et al. 2006). C'est déjà le cas au Canada depuis 2002 pour le fluvalinate et depuis 2004 pour le coumaphos. Dans ces conditions, leur utilisation résulte malheureusement en une efficacité moindre (< 50%). L'impact sur la colonie est dévastateur car les populations poursuivent leur croissance vers des niveaux qui produisent des dommages irréversibles sur les colonies. Selon nos observations au Québec et celles rapportées ailleurs dans le monde, la vie utile d'un pesticide de synthèse utilisé en apiculture est d'environ 3 à 5 ans d'utilisation annuelle consécutive (Elzen et al. 1999; Mozes-Koch et al. 2000; Martin 2004; Rodriguez-Dehaibes et al. 2005; Sammataro et al. 2005). Après cette période, la proportion de varroas résistants à l'acaricide est suffisante pour neutraliser l'effet du traitement. Le pesticide de synthèse amitraz utilisé au Canada seulement depuis 2008 a déjà montré les signes d'une diminution de son efficacité à l'automne 2009 (deuxième année d'utilisation) sur les colonies du rucher expérimental du Centre de recherche en sciences animales de Deschambault (observation personnelle). C'est pourquoi des méthodes alternatives de contrôle de la varroase doivent être rapidement envisagées. Parmi celles-ci, les méthodes de lutte intégrée utilisant différents outils chimiques, biotechniques et biologiques peuvent constituer de bonnes solutions.

### **Les méthodes biotechniques**

En raison du rythme de reproduction très rapide du varroa, les moyens de lutte alternatifs aux acaricides de synthèse ne donnent pas toujours des résultats suffisants.



De plus, les méthodes biotechniques s'avèrent être plus ou moins intéressantes selon les différentes opérations apicoles. Elles sont plus complexes à maîtriser et demandent plus de temps à réaliser. Voici une description de différents moyens de lutte alternative anti-varroa :

- Le retrait de couvain de mâles : Cette méthode de contrôle met à profit l'attraction préférentielle des femelles varroas fondatrices envers le couvain de mâle (Boot et al. 1994; 1995; Charrière et al. 2003). Cette préférence a déjà été évaluée à un facteur d'environ 8 (varroas par cellules de mâles / varroa par cellules d'ouvrières) par des chercheurs allemands (Schulz 1984; Fuchs 1990). Certains auteurs européens ont démontré que dans leur région respective, le retrait partiel de couvain de mâles permet de diminuer de 50% les populations de parasites dans les colonies (Imdorf et al. 1996; Wilkinson et Smith 2002; Wilde et al. 2003; Wantuch et Tarpy 2009). La méthodologie de base est d'introduire un cadre de couvain de mâle dans la colonie et le laisser en place jusqu'à l'operculation. Une fois le couvain operculé, il suffit de le retirer et de le détruire. Ce type d'intervention vise à freiner le développement des populations de varroas au début de la saison apicole et de diminuer ainsi la pression d'infestation au cours de l'été. Les avantages de cette intervention sont qu'elle peut être réalisée même lorsqu'il y a récolte de miel et qu'elle s'intègre dans un contexte d'une production biologique. Par contre, le travail nécessaire pour sa réussite n'est pas négligeable.

- Lignées d'abeilles tolérantes à la varroase : Parmi les méthodes biotechniques de contrôle, il faut souligner tous les efforts déployés par plusieurs chercheurs apicoles à travers le monde afin de développer des lignées d'abeilles résistantes aux acariens. Il y a plusieurs programmes de sélection en Europe et en Amérique du Nord bien connus par les apiculteurs. Il faut souligner le travail de sélection qui a mené à la lignée légendaire Buckfast (Zimmer 1999). Cette lignée, développée par le frère Adam de l'Abbaye de Buckfast en Angleterre au début du 20<sup>e</sup> siècle, possède un certain niveau de résistance à l'acariose (*Acarapis woodi*). Cette lignée est toujours disponible et fait désormais partie de plusieurs programmes d'élevage à travers le monde dont celui du Centre de recherche en sciences animales de Deschambault (communication personnel Pierre Giovenazzo). L'Allemagne, la France et la Belgique et l'Italie mettent beaucoup d'effort au maintien de programme de sélection génétique. On tente de produire des lignées d'abeilles résistantes aux maladies tout en ayant de bons niveaux de production de miel (Büchler 1990, Bienenfeld et al. 2008, Büchler et al. 2010). Les efforts de sélection de l'abeille mellifère sont aussi importants aux USA et sont réalisés dans plusieurs centres de recherche (Rinderer et al. 2010). La plupart des programmes aux USA sont malheureusement situés dans les régions où il y a présence de l'abeille africaine (<killer bees>). Ceci rend très difficile leur importation au Canada car les autorités canadiennes interdisent l'importation d'abeilles vivantes en provenance de ces régions. Voici un aperçu des efforts d'amélioration génétique présentement en cours en Amérique du Nord :

- "The Bee Lab" : Dr. Marla Spivac et son équipe ont développé et maintiennent la lignée « Minnesota Hygienic ». Cette lignée montre une excellente tolérance envers plusieurs maladies dont la varroase et un bon développement.
- "Harry H. Laidlaw Jr. Honey Bee Research Facility" : Sue Cobey et son équipe ont développé et maintiennent la lignée « New World Carniolan ». Cette lignée montre également une excellente tolérance envers plusieurs maladies dont la varroase et un bon développement.
- USDA, "Agricultural Research Center, Honey Bee Breeding, genetics and physiology Research Center", Baton Rouge : le Dr. Thomas E. Rinderer et son équipe sont responsables de l'introduction des reines « Primorsky » en Amérique du Nord durant les années 1990. Ils ont plus récemment développé et maintiennent la lignée « Varroa Sensitive Hygiene » (VSH), une lignée qui se défend bien contre la varroase à cause d'un comportement de détection et de retrait des cellules de couvain infestées par les varroas.
- Glenn Apiaries : cette entreprise commerciale unique en Amérique du Nord offre plusieurs lignées qui proviennent des programmes scientifiques de sélection mentionnés précédemment. Cette entreprise multiplie ces différentes lignées et les vend aux apiculteurs des États-Unis.
- "Ontario bee breeding project" : Ce projet est mené par le « Ontario Technical Transfer Team » et il offre aux éleveurs de reines des

services d'évaluation des colonies (dont l'évaluation du taux de varroase dans les colonies) afin que chaque éleveur puisse réaliser son propre programme de sélection. Ce projet est la suite des travaux de sélections menés par le chercheur Tibor Szabo à l'université Guelph (Szabo 1998, 1999).

- "The Saskatraz project" : Ce projet est mené par Albert Robertson en Saskatchewan et il vise à développer une lignée <Saskatraz> dont les caractéristiques de performance correspondent aux exigences des apiculteurs de cette province. La tolérance à la varroase fait partie de leurs critères de sélection. Il y a aussi un volet qui vise à produire leurs reines au Chili afin de les offrir aux apiculteurs canadiens dès le début du printemps.
- "British Columbia Bee Breeders Association Queen Testing Project" : Ce projet est mené par Elizabeth Huxter (Kettle valley Queens) et vise à développer des indices de sélection et une lignée VSH en sol canadien. Les reines initiales proviennent d'une importation exclusive de reines VSH en provenance des États Unis. Le Centre de recherche en sciences animales de Deschambault (CRSAD) a réalisé une entente d'achat de reines Productrices avec cette éleveuse de la Colombie-Britannique.
- Le CRSAD, sous la supervision de Pierre Giovenazzo, a réalisé des projets ponctuels d'évaluation des différents stocks d'abeilles disponibles au Québec et en Ontario depuis 2002. Ces projets

d'évaluation avaient pour but de guider les éleveurs du Québec dans leur sélection de reines en tenant compte de la tolérance à la varroase. Il avait également pour but d'inciter la collaboration entre les éleveurs de reines et le centre de recherche du CRSAD. Chaque éleveur du Québec recevait la descendance des reines les plus performantes après une saison apicole d'évaluation. Les éleveurs introduisaient ces individus à génétique améliorée dans leur cheptel et l'offrait aux apiculteurs. Ces projets nous ont démontré l'importance d'établir un processus constant d'évaluation des stocks et la nécessité de centraliser et de perfectionner le processus de sélection à partir de l'insémination artificielle.

Cependant, bien que l'apparition d'abeilles résistantes puisse constituer un espoir pour l'apiculture, il faut constater que la lutte contre cet acarien à l'aide de pesticides efficaces est un impératif pour les apiculteurs.

### **Les acides organiques et les huiles essentielles**

Les acides organiques oxalique et formique ainsi que le thymol (composé d'huile essentielle de thym) sont couramment utilisés pour le contrôle de la varroase à travers le monde. Il existe un très grand nombre de travaux de recherche

fondamentaux et appliqués sur l'utilisation de ces produits dans les colonies d'abeilles mellifères et quelques revues de littérature excellentes sont disponibles (Imdorf et al. 1999; Rademacher et Harz 2006; Rosenkranz et al. 2010). Les travaux de recherche réalisés depuis plus de 20 ans visaient à déterminer : les concentrations optimales, la synchronisation de l'application en fonction de la saison apicole, les résidus dans les produits de la ruche, la toxicité envers la colonie, les différentes méthodes d'application, les spécificités d'application en fonction du climat, du type de ruche et des méthodes apicoles et plusieurs autres thèmes de recherche. Globalement ces recherches sur l'utilisation des acides organiques contre la varroase arrivent aux conclusions générales suivantes :

- Leur efficacité est adéquate lorsque ces acides sont bien utilisés.
- L'acide formique et le thymol sont des produits volatiles ce qui rend leur efficacité variable en fonction de la température extérieure.
- L'acide formique est le seul acaricide ayant démontré une toxicité sur les varroas phorétiques et sur les varroas dans les cellules de couvain operculé.
- L'acide oxalique est efficace sur les varroas phorétiques seulement. Pour obtenir un maximum d'efficacité, l'application doit se faire durant une période d'absence de couvain. Donc l'utilisation de l'acide oxalique est favorisée dans les régions où il y a un arrêt de la ponte durant l'année. C'est le cas des régions tempérées en automne et en hiver.
- Le thymol est liposoluble et il se lie et s'accumule dans la cire. Par contre, il se dégrade entre les périodes de traitements. Une accumulation problématique

des résidus de thymol dans la cire ne survient pas dans l'encadrement d'un programme d'utilisation règlementé (Bogdanov et al. 1998).

- Il y a peu de risque de résidus et d'accumulation des acides organiques dans les produits de la ruche. De plus ces acides sont hydrosolubles (ne se retrouvent pas dans la cire), se retrouvent naturellement dans le miel et l'acide formique est volatile.
- À date, il n'y a pas de résistance rapportée à ces trois produits.

#### *L'acide oxalique*

Cet acide se retrouve naturellement dans le miel à différentes concentrations variant de 1 à 225 mg/kg (Bogdanov et al. 1999). Par exemple, dans le miel multi floral d'origine espagnol, on a mesuré des concentrations variant de 14.5 à 49.8 mg/kg de miel (Nozal et al. 2003). Il est difficile de retracer les origines de l'utilisation de cet acide contre la varroase mais les premiers travaux publiés sur son utilisation contre *V. destructor* sont ceux de Popov en 1989 (Rademacher et Harz 2006). Son utilisation est maintenant très commune dans tous les pays apicoles confrontés au problème de la varroase (Nanetti et al. 2003; Rademacher et Harz 2006; Rosenkranz et al. 2010). Cet acide est sans contredit l'acide organique ayant démontré la plus grande efficacité contre *Varroa* jusqu'à maintenant (Mutinelli et al. 1997; Charriere et Imdorf 2002; Gregoric et Planing 2002; Rademacher et Harz 2006; Bacandritsos et al. 2007; Emsen et al. 2007; Chen et Chen 2008; Akyol et Yeninar

2009). Cet acide est utilisé dans une solution sucrée (35-40 g d'acide par litre de solution de sucrose 1 :1) qui est égouttée directement sur les abeilles entre les cadres d'abeilles (5-6 mL par entre cadre avec abeilles), par sublimation dans la ruche (1-2 g par colonie à une hausse) ou par pulvérisation directement sur les abeilles d'une solution aqueuse contenant de l'acide oxalique (30 g par litre, vaporisation de 3 à 4 mL par face de cadre avec abeilles). Les travaux scientifiques ont démontré une efficacité au-dessus de 95% pour ces 3 méthodes en absence de couvain operculé dans la ruche. En présence de couvain, l'efficacité est inférieure à 50% (Charriere et Imdorf 2002; Gregoric et Planing 2002; Gregorc 2005; Rademacher et Harz 2006; Chen et Chen 2008). Cela limite l'emploi de l'AO aux régions où il y a des arrêts de couvain. Ce traitement revêt un grand intérêt en tant que traitement complémentaire (après thymol ou acide formique par exemple).

Il semble d'après certaines études que les solutions d'AO agissent par leur acidité (pH voisin de 0,9) (Charrière et Imdorf 2002). Il est établi que l'AO traverse la cuticule des insectes et des acariens par voie topique et se retrouve dans les tissus de l'abeille quelques heures après l'administration. Cependant, son mécanisme d'action reste à découvrir (Nanetti et al. 2003).

Dans les colonies d'abeilles au Québec, l'absence de couvain survient en novembre lorsque la ponte de la reine est interrompue à la suite du nourrissage d'automne. L'acide oxalique est très efficace à la condition que les ruches puissent se rendre jusqu'à ce moment sans subir des dommages irréversibles occasionnés par les fortes densités de varroas. Souvent, l'apiculteur doit faire un autre type de traitement



en fin d'été (acaricide de synthèse, acide formique ou thymol) afin de permettre aux ruches infestées de survivre jusqu'au moment propice pour réaliser un traitement d'acide oxalique avant l'hivernage. À la suite du traitement d'acide oxalique les colonies hivernent avec peu de varroas et débutent la saison suivante sans la nécessité d'un traitement printanier. Les traitements printaniers anti-varroa doivent être réalisés seulement lorsque nécessaire (Giovenazzo et Dubreuil 2011).

L'acide oxalique est couramment utilisé par plusieurs pays européens (Rademacher et Harz 2006). Les chercheurs membres du groupe européen pour la lutte intégrée contre la varroase ont conduit plusieurs travaux sur l'utilisation de l'acide oxalique et leurs travaux ont servi de modèle pour les travaux réalisés depuis 2003 au Québec. Le CRSAD et la Faculté de médecine vétérinaire de l'Université de Montréal (Dr. Pascal Dubreuil) ont réalisé plusieurs tests d'efficacité avec l'acide oxalique (Giovenazzo et Dubreuil 2004, 2009, 2011). Les résultats (efficacité et analyses de résidus dans les produits de la ruche) ont été utilisés dans le cadre de la demande d'homologation déposée par le Conseil canadien du miel au début de 2005 auprès de l'ARLA. C'est en septembre 2005 que l'ARLA a accepté d'homologuer l'acide oxalique comme pesticide contre la varroase. Cette décision a été bien accueillie par l'industrie apicole canadienne.

### *L'acide formique*

L'acide formique est un produit naturel pouvant se retrouver dans le miel à des concentrations variant de 5 à 600 mg/kg (Bogdanov et al. 1999; Liu 1991). Plusieurs travaux de recherches démontrent son efficacité pour contrôler les acariens parasites des abeilles mellifères *V. destructor*, *Acarapis woodi*, et *Tropilaelaps clarae* (Bracey et Fischer 1989; Fries 1991; Hoppe et al. 1989; Feldlaufer et al. 1997; Liu et Nasr 1992; Underwood et Currie 2009;).

L'acide formique est un produit volatile irritant et toxique qui produit une acidose métabolique et une inhibition du métabolisme respiratoire des varroas (Bolli et al. 1993). On l'utilise contre *V. destructor* en Europe depuis le début de son infestation en 1981 (Koeniger et al. 1981; Ritter et Ruttner 1981). Toutes les méthodes d'application profitent de la forte volatilité de cet acide qui amène dans la colonie des concentrations de vapeurs toxiques pour les varroas. Peu importe le moyen d'application d'AF, l'atteinte d'un niveau de plus de 50 ppm d'AF pendant au moins 24 heures dans une ruche de type Langstroth aura un effet acaricide (Giovenazzo et Dubreuil 2011; Underwood and Currie 2007) L'application se fait normalement au printemps ou en début d'automne, en dehors des périodes de miellés.

Par sa nature volatile et sa nature hydrophile, l'évaporation de l'acide et son efficacité sont fortement dépendantes de la température et de l'humidité relative qui règnent dans la ruche (Charrière et al. 1993; Skinner et al. 2001; Underwood et Currie 2003; Ostermann et Currie 2004; Calderone 2010). Son efficacité est optimale

lorsque les températures extérieures se situent entre 18° et 25°C et qu'il n'y a pas de miellée qui augmente l'humidité relative dans l'air ambiant de la ruche (Giovenazzo et al. 1999; Osterman et Currie 2004).

L'acide formique à une concentration de 65% (p/p) avait une homologation temporaire canadienne depuis 1994. En 2011, ce produit a reçu l'homologation complète. On trouvait, jusqu'à récemment sur le marché canadien, un mode d'application d'AF commercialisé et homologué par l'ARLA : le MiteAwayII™ (Nod Apiaries Inc.). Pour application, l'acide formique (48,4% p/p) est imbibé dans un matériel absorbant enveloppé d'un sachet de plastique troué. Les ouvertures de l'enveloppe sont ajustées afin d'optimiser l'évaporation de l'acide et atteindre les niveaux désirés dans l'air ambiant de la ruche. Ce genre de distributeur a été abondamment testé dans plusieurs pays et son efficacité serait supérieure à 90% (Bracey et Fischer 1989; Abotaka et Eldin 1992; Calis et al. 1998; Eischen 1998; Calderone et Nasr 1999; Daniels et al. 1999; Calderon et al. 2000; Calderone 2000; Skinner et al. 2001; Elzen 2003; Bahreini et al. 2004; Elzen et al. 2004; Ostermann et Currie 2004; Satta et al. 2005; Calderone 2010). Certains chercheurs ont tenté de développer des formulations d'acide formique sous forme de gel ou de travailler avec d'autres types de diffuseurs d'acide (Feldlaufer, Pettis et al. 1997; Eguaras et al. 2003; Underwood et Currie 2004; 2005; Amrine et Noel 2006; Amrine et al. 2007; Underwood et Currie 2007; 2008; Vanengelsdorp et al. 2008). Par contre, ces systèmes de sont pas au point avec des taux d'efficacité variables sous 70%.

En 2010 le MiteAwayII™ a été retiré du marché par le fabricant pour faire place au nouveau MiteAway Quick Strips™ (Nod Apiaries Inc). Dans cette nouvelle formulation, l'acide formique est imprégné dans un gel sous forme de bandes semi-rigides. L'application dure trois jours et offre des taux d'efficacité supérieurs à 90% selon le fabricant. Selon l'étiquette, le traitement peut être réalisé en période de miellée sans danger de résidus dans le miel. Il est maintenant homologué au Canada (2012) et dans plusieurs états américains (2011).

Le CRSAD et la faculté de médecine vétérinaire de l'Université de Montréal ont réalisé plusieurs tests d'efficacité avec l'acide formique (Giovenazzo et Dubreuil 2004, 2009, 2011). Les résultats ont démontré l'efficacité et l'innocuité de son utilisation contre la varroase. Par contre, son utilisation au printemps peut produire un effet négatif sur le développement de la colonie. On a observé un arrêt de la ponte de la reine, une mortalité accrue d'ouvrières, une diminution temporaire de la quantité de couvain, un arrêt temporaire de la ponte de la reine et même des mortalités de reines.

### *Le thymol*

Depuis plusieurs années, des huiles essentielles et leurs composés ont été utilisés pour contrôler *V. destructor* (Rosenkranz et al. 2010). Depuis 1996, des produits commerciaux à base de thymol, eucalyptol, camphre ou de menthol sont disponibles dans plusieurs pays du monde.

Le thymol se trouve dans les huiles essentielles d'un grand nombre de végétaux, en particulier dans le thym (*Thymus vulgaris*) (Lee et al. 2005). Dans le miel de tilleul, le thymol est un constituant naturel qui est présent à la valeur mesurée de 0.16 mg/kg (Santé Canada 2010).

Le thymol s'est avérée l'un des composés d'huiles essentielles des plus efficaces contre la varroase. C'est une huile volatile qu'on retrouve dans l'huile de thym. Bien qu'on ne connaisse pas son mode d'action, on pense qu'il agit sur le système nerveux des insectes (Bogdanov 2003).

Deux formulations commerciales sont couramment utilisées dans plusieurs pays : Le Thymovar™ (Andermat Biocontrol Inc.) et l'Apigard™ (Vita Ltd.). Le premier est un produit sous forme de tissu éponge imprégné de thymol (15 g/plaquette) et le second est sous forme de gel (thymol 25%). Les abeilles supportent très bien la concentration de thymol émise, alors qu'elle s'avère être très toxique pour la Varroa. Ces traitements sont simples, rapides et efficaces. Ils ont fait l'objet de plusieurs travaux de recherche visant à tester leur efficacité dans différentes conditions d'apiculture (Imdorf et al. 1995; Calderone 1999; Melathopoulos et Gates 2003; Floris et al. 2004; Gregorc 2005; Gregorc et Planinc 2005; Emsen et al. 2007; Palmeri et al. 2007; Akyol et Yeninar 2008; Chen et al. 2009). En général, ces travaux montrent une efficacité qui varie entre 54% et 98%. Les plus hautes efficacités sont obtenues lorsque les températures se situent entre 15° et 25°C et lorsque le couvain est absent.

Le CRSAD et la Faculté de médecine vétérinaire de l'Université de Montréal ont réalisé plusieurs tests d'efficacité anti-varroa avec l'application automnale de deux produits commerciaux de thymol: Apigard™ et Thymovar (Giovenazzo et Houle 2004, Giovenazzo et Dubreuil 2009). Les résultats issus de ces tests démontrent une efficacité équivalente et supérieure à 90% pour ces deux produits. Par contre, avec l'Apigard™, il y a eu une réduction de la force des colonies à la suite du traitement d'automne et au printemps suivant de près d'un cadre d'abeilles comparativement à des colonies traitées à l'acide formique (MiteAwayII™). Ces travaux et autres travaux similaires avec le thymol (Bogdanov et al. 1999; Calderone 1999; Floris et al. 2004; Gregorc et Planinc 2005; Palmeri et al. 2007) démontrent également que la quantité de thymol présent sous forme de résidu dans le miel après application dans les ruches d'abeilles, ne dépassent pas les quantités de thymol naturel ou artificiel utilisées habituellement pour parfumer les aliments et les boissons (Bogdanov et al. 1999). Lorsqu'il est appliqué immédiatement avant la miellée, ce qui représente le pire moment pour une exposition potentielle aux résidus, la concentration des résidus de thymol dans le miel n'a pas dépassé le seuil de gustation de 1,1 à 1,3 ppm (Adamczyk et al. 2005). La concentration de résidus de thymol mesurée dans le miel récolté de ruches traitées était en moyenne de 0,384 ppm (0,270 à 0,600 ppm), tandis que celle des ruches témoins était en moyenne de 0,036 ppm (0,02 à 0,06 ppm). Par conséquent, l'application directe par l'introduction des produits imprégnés de thymol dans les ruches d'abeilles ne devrait poser aucun risque de toxicité alimentaire du miel.

En 2009, une demande d'homologation pour le Thymovar™ fut déposée à l'Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire (ARLA) de Santé Canada, en vertu de la *Loi sur les produits antiparasitaires* et de ses règlements. Les études sur l'efficacité réalisées à divers endroits, notamment au Québec, en Suisse, au Portugal, en Turquie, en Italie, en Allemagne, en Grèce et aux Pays-Bas (travaux discutés plus haut) ont été examinées en appui au produit Thymovar™. Ces études ont révélé, en général, que Thymovar™ est efficace à plus de 90 % pour supprimer des varroas lorsqu'il est appliqué conformément au mode d'emploi sur l'étiquette : deux applications consécutives d'une demi-plaquette, pour les ruchettes à nucléus, d'une plaquette, pour les ruches à une hausse, et de deux plaquettes, pour les ruches à deux hausses. Les plaquettes sont laissées dans la ruche de trois à quatre semaines. Elles ne doivent être installées que lorsque la température se situe entre 12 et 30 °C. Il est donc maintenant possible d'utiliser ce produit au Canada.

### **La lutte intégrée contre *Varroa destructor***

Malgré l'origine récente de l'appellation «IPM-Integrated Pest Management» la lutte stratégique contre les pestes en agriculture a sûrement débuté avec le début de l'agriculture et évolué avec le développement de l'agriculture intensive (Smith 1978). Peu importe la peste agricole en cause, lorsqu'il y a absence de pesticides de grande efficacité, les spécialistes, en manque de moyens, cherchent à approfondir leurs connaissances sur la relation entre la peste et son hôte. Avec une meilleure

compréhension de leur relation, il est possible de développer une stratégie multi-tactique qui utilise à la fois des moyens de contrôles biologiques et chimiques (Kogan 1998). Typiquement, une stratégie de lutte intégrée identifie les activités fondamentales suivantes : 1) identifier les niveaux d'infestation; 2) établir des seuils d'intervention et 3) utiliser différents moyens de contrôle.

Cette approche repose sur l'utilisation d'une stratégie de contrôle qui prime sur les interventions de dépistage et préventives afin d'en arriver à des interventions curatives ciblées. Elle nécessite de la part de l'intervenant, une bonne connaissance de la maladie, une surveillance de l'évolution du taux de parasitisme au cours de la saison apicole et l'utilisation de moyens de contrôle variés. L'intervenant utilise donc une stratégie complexe afin de réduire les populations de varroas dans ses ruches.

Plusieurs travaux, dont ceux du Centre suisse de recherche en apiculture (Imdorf et al. 1996; 2010) démontrent que la lutte intégrée est un moyen efficace pour contrer la progression du parasite. Il existe plusieurs produits disponibles mais seulement quelques-uns offrent une efficacité reconnue scientifiquement selon le Groupe de recherche européen sur la lutte intégrée contre la varroase. Au cours d'une réunion sur la lutte intégrée contre *Varroa* (8th European Meeting on integrated Varroa Control, Kirchain Germany – 22 et 23 mai 2003) plusieurs des produits ont fait l'objet de présentations scientifiques et de publications. Trois varroacides ont été clairement identifiés comme étant efficaces dans le cadre d'une lutte intégrée contre *V. destructor* : l'acide oxalique, l'acide formique et le thymol. Ces produits doivent être utilisés à des moments précis de la saison apicole et chacun des produits offre des



avantages et des inconvénients (voir les sections précédentes de ce chapitre). De plus, il faut souligner que la réussite d'une lutte intégrée repose sur une bonne connaissance de l'interaction entre les varroas et les colonies d'abeilles.

Comme principe de base de lutte intégrée on trouve l'importance de connaître l'état de la varroase dans les colonies sous observation. Il faut impérativement que le processus de lutte intégrée soit accompagné d'un moyen de dépistage qui permet l'évaluation du taux de parasitisme dans les colonies. Ces notions permettront de bien cibler le moment optimal des traitements en les synchronisant avec les différentes étapes de la saison apicole (production de miel, préparation à l'hivernage, l'hivernage et le développement printanier).

### **Surveillance des populations de varroas**

La lutte contre le varroa doit commencer par un dépistage régulier tant pour détecter la présence du varroa que pour évaluer son importance une fois l'infestation commencée. La surveillance des populations de *V. destructor* qui vivent dans les colonies est donc essentielle afin de contrôler ce parasite. Cette opération permet de déceler à temps l'approche de taux élevés d'infestation de varroas et d'appliquer un moyen de contrôle. Chaque apiculteur doit faire régulièrement une évaluation du taux de parasitisme en utilisant un moyen de dépistage recommandé par les autorités locales.

Le nombre de varroas qui peuvent être tolérés dans une colonie dépend de plusieurs facteurs. Les conditions climatiques, les périodes de miellées et la région d'un rucher sont tous des facteurs qui agissent sur le développement des varroas et des abeilles. Il est donc important de connaître l'évolution des populations de varroas dans nos conditions apicoles afin d'être en mesure d'appliquer efficacement les différents moyens de lutte existant. Cette problématique avait été soulevée lors du dernier Congrès Nord-Américain d'apiculture (Niagara 2002). Plusieurs chercheurs et apiculteurs avaient souligné l'importance de déterminer les niveaux d'infestation qui guideraient les apiculteurs dans leur stratégie de lutte. La stratégie de lutte en Suisse utilise depuis plusieurs années des seuils qui ont été obtenus à la suite de travaux de recherche de leur centre de recherche apicole national (Anton Imdorf et al. 1996; Charrière et Imdorf 2003). Le Tableau 1-2 indique les différents seuils d'intervention périodiques issus de ces travaux et maintenant utilisés en Europe. Il faut noter que selon le concept du centre de recherche Suisse en apiculture, le seuil de la chute naturelle quotidienne en fin juillet a dû être abaissé de dix à cinq varroas par jour à cause de l'augmentation des infections virales en automne, responsables de nombreuses pertes de colonies en hiver (Imdorf et al. 2010). Ces seuils établis en Suisse sont difficilement transposables au Québec compte tenu des différences entre nos exploitations apicoles. La saison apicole au Québec est beaucoup plus courte et le développement des colonies plus rapide. La dynamique entre les varroas et les abeilles est donc spécifique à chaque région. Il s'avère primordial d'obtenir les seuils qui s'appliquent à notre apiculture.

Tableau. 1-2 Seuils d'intervention proposés par le Centre suisse de recherches apicoles pour les ruchers européens (Charrière et Imdorf 2003).

<b>Période</b>	<b>Tombée journalière Varroas/jour (plus de)</b>	<b>Mesures à prendre</b>
Fin mai	3	Effectuer un traitement de longue durée à l'acide formique immédiatement après la récolte du printemps
Fin juillet, début août	5	Deux traitements de longue durée à l'acide formique sont nécessaires
Toute la saison	30	Le seuil dommageable est dépassé et un traitement immédiat est nécessaire

# **Chapitre 2 Treatment thresholds for control of the honey bee mite *Varroa destructor* in eastern Canada**

Pierre Giovenazzo and Pascal Dubreuil

Faculté de médecine vétérinaire, Université de Montréal, Québec, Canada

Corresponding author:

Pierre Giovenazzo

Département de biologie

Pavillon Vachon

Université Laval

Québec(Québec)

Canada

G1K 7P4

Tel. 418-656-2131 (8081)

Fax. 418-656-2043

# **Seuils d'intervention pour contrôler le parasite *Varroa destructor* dans les colonies d'abeilles mellifères, *Apis mellifera*, du Québec**

## **Présentations orales :**

Colloque de la Fédération des apiculteurs du Québec, 2007 (Drummondville)

Congrès canadien du Conseil Canadien du Miel, 2007 (Winnipeg)

Congrès de l'Association Nationale des Éleveurs de Reines

et des Centres d'Élevages Apicoles de la France, 2010 (Limoges, France).

Congrès de l'Association des apiculteurs de l'Alberta, 2011 (Edmonton)

Congrès de L'association des apiculteurs de la Colombie-Britannique 2011  
(Vancouver)

Congrès annuel de l'association des apiculteurs de l'Ontario (Lindsay, mars 2012)

Eastern Apicultural Society (Burlington 2012)

## **Abstract**

The objective of this study was to test different methods used to detect and assess the level of parasitism by *Varroa destructor* in honey bee colonies, and to determine treatment thresholds that could be included in an integrated pest management strategy in eastern Canada.

A total of 113 hives infested with varroa mites were monitored from September 2005 to May 2006, and for 44 hives selected from among these from May to September 2006. The impact of fall varroa infestation on wintering colonies and the development of the varroa mite population were evaluated using four different methods: 1) daily natural mite drop (5 to 7 consecutive days); 2) an alcohol wash of a sample of 250-300 bees from the brood chamber; 3) a count of the number of mites per 100 capped drone cells; 4) a count of the number of varroa mites per 200 worker cells. This data was correlated with honey bee colony population build-up (growth of bee and brood population; overwintering survival) and honey production.

Comparison of the data obtained through each of the methods shows that counting the number of mites per 100 drone cells in May provides the best early estimate ( $r=0.70$ ) of the colony's mite population in September. Estimates of the same variable based on natural drop (varroa mites/day) are low in June compared with other methods, but improves during the summer (July and August) and, ultimately, predicts the real parasite population in September with the highest accuracy ( $r=0.89$ ).

Based on our findings, we propose economic thresholds based on the economic damage associated with honey production loss and colony honey bee population loss. Thresholds were calculated for three periods in the year: early May, late July and mid-September, and are 2, 10 and 9 varroa/day respectively. These thresholds are associated with specific climatic and apicultural practices.

Keywords: varroa sampling; treatment threshold; *Varroa destructor*; *Apis mellifera*.

## Introduction

The parasitic mite *Varroa destructor* (Anderson and Trueman 2000) contributes to significant honey bee (*Apis mellifera*; Linnaeus) colony losses throughout the world (Le Conte et al. 2010). This parasite was first observed in Quebec, Canada, in 1997 (Boucher 2000), and effectively controlled for some years using a synthetic pyrethroid insecticide (fluvalinate-tau: Apistan™ strips). Repeated use of this product has led to the gradual selection of mites resistant to it. In this context, providing Canadian beekeepers with new means to contain the parasite's proliferation is a major concern.

Prevention and control of various honey bee pathogens can be achieved by implementing a series of management strategies that together are referred to as Integrated Pest Management (IPM). This process includes a range of methods from genetic selection to physical and chemical strategies to minimise the risk of infection and transmission of disease (Kogan 1998). Monitoring is an important aspect of IPM that facilitates timely treatment when the recommended economic threshold is reached. *V. destructor* IPM is a promising sustainable control option that will help reduce or eliminate beekeepers' dependence on synthetic acaricides. Three methods for in-hive mite detection are currently in use (Webster 2001): sampling for mites on adult bees, sampling for mites on larvae in brood frames and sampling for mites that have fallen naturally from bees and their brood. Unfortunately, these methods have not yet been completely standardized and incorporated into a sampling plan for Canadian beekeepers. A number of other studies have explored the effectiveness of



various detection methods (Floris 1997; Brodsgaard and Brodsgaard 1998; Calderone and Turcotte 1998; Reich and Fuch 1998; Calderone 1999; Frazier and Finley 2000; Ostiguy and Sammataro 2000; Wilkinson and Smith 2002; Calderone and Lin 2003; Hendrickson 2009) and have compared their effectiveness (Fries and Aarhus 1991, Devlin 2001). In short, these studies show that each method has its advantages and disadvantages.

Sampling plans have also been proposed for researchers to estimate mite populations in colonies. Martin (1998) developed a plan based on the phenology of the mite in a bee colony, whereby the total number of mites in a colony is extrapolated from measured densities of mites on samples of adult bees and brood. Alternatively, Branco and Kidd (2006) and Sammataro and al. (2002) propose a method that measures natural mite drop to establish a correlation with the total number of mites in the colony.

By determining treatment thresholds based on mite population estimates as part of an IPM strategy, colonies are treated when infestation rates reach a level at which health and productivity are threatened. Treatment thresholds vary by region (Delaplane and Hood 1999; Strange and Sheppard 2001; Currie and Gatién 2006), in part because climate and length of the brood-rearing season have a strong influence on mite reproduction (Fries and Camazine 1994). Other factors affecting thresholds are the risk of mite immigration (Greatti and Milani 1992) and, most likely, beekeeping methods. Since these influences are so variable, it is essential to evaluate

the specific conditions of apiculture in Quebec in order to determine appropriate thresholds for treatment.

This aim of this study was to evaluate various aspects of the dynamic relationship between the parasite *V. destructor* and its honey bee host, *A. mellifera*, in Quebec, Canada. The objectives were to measure the development of the mite population (phoretic mites and mites in capped brood) in bee colonies during a single season, to perform a correlation study between the actual mite population in a colony in September and different mite population estimators based on various detection methods, and to propose treatment thresholds for an IPM strategy against varroaosis.

## **Materials and Methods**

### **Honey bee colonies**

The colonies used in this research were situated in apiaries within a 50 km radius, on farmland adjacent to the Deschambault Animal Science Research Center (46°38'57" N, 71°55'59" W), in south-eastern Quebec. All colonies were kept in Langstroth-style hives fitted with screen inserts (plastic varroa stainless steel screen bottom board, manufactured by Dadant & Sons Inc., #M01650), under an identical management approach. The initial 113 colonies came from nucleus colonies created in June 2005 naturally infested with *V. destructor*. The queens were obtained from a Quebec queen breeder (Reines Chapleau Inc.). Queens were bred from lines selected

for hygienic behaviour, honey production, winter survival and gentleness. These young colonies did not receive a varroa treatment in fall 2005, and were overwintered in a common environmentally controlled room (3-5<sup>0</sup>C and 30-40% RH) from November 22, 2005 to April 17, 2006. From the surviving wintered colonies, 44 colonies of similar strength were randomly selected, placed in two apiaries on May 15, 2006 and monitored in situ during the 2006 beekeeping season.

### **Dependent variables measured**

- Variation in natural varroa drop: sticky boards sized to cover the entire hive floor were inserted under the frames and left in place for 5 or 7 consecutive days. In 2005, measurements were made on September 1-7, and in 2006 on May 5-12, June 6-13, July 19-26, August 4-11 and September 6-11.
- Number of mites per 200 worker brood cells: 200 capped brood cells of all ages were examined to count the number of live foundress mites (dark carapace). Measurements were made on May 5, June 6, July 19, August 4 and September 6, 2006.
- Number of varroa mites per 100 drone brood cells: 100 drone cells of all ages (on different frames) were examined to count the number of live foundress mites. Measurements were made on the same five dates as above.
- Number of mites per 250-300 bees: a volume of 250 mL of bees was sampled on frames from the brood chamber of a colony and washed by

vigorous shaking for 10 seconds in an ethanol solution (70% V:V). The resulting ethanol solution was passed through a 0.7 mm mesh sieve to count the number of mites. Each bee sample was washed two times. Measurements were made on the same five dates as above.

- Total number of mites in colony: the number of mites collected on sticky boards throughout the duration of a fall control treatment was counted. Treatment involved application of MiteAwayII™ for 21 days as per manufacturer's recommendations (from September 11 to October 2, 2006).
- Honey yield: was assessed by measuring the weight gain of each colony from May until September. Hives were weighed individually each time a honey super was added or removed by placing the entire colony (brood chamber and honey supers) on a platform scale (total capacity of 500 kg, minimum weight sensitivity of 0.1 kg). Honey yield was divided into two periods during 2006: May 5 to July 19 and July 19 to September 4.
- Spring hive strength and overwintering survival: for each colony, the size of the cluster of bees was measured after wintering (May 5, 2006) by opening each hive and counting the number of frames occupied by the bee cluster around the brood as viewed from above and the number of frames as viewed from below. The index varies between 0 (dead colony) and 10 and is calculated using the following formula: (number frames with bees and brood viewed from above + number frames with bees and brood viewed from below) / 2.

- Honey bee population (mature and immature): the number of mature worker bees was evaluated by comparing the surface of the frames in the colony with pictures of hive frames on which the number of bees had previously been counted. Our reference number for one side of a Langstroth frame is 1100 mature honey bees. The number of immature honey bees (eggs + larva + capped brood) in colonies was evaluated by measuring the area (width and length) on each side of every brood frame. The rectangular surface obtained was multiplied by 0.8 to compensate for the elliptic form of the brood pattern. These values were added, in order to calculate the total brood surface in each colony. A factor of 25 worker cells per 6.25 cm<sup>2</sup> (i.e., a square inch) was used to convert the area to the number of immature worker honey bees. These measures were carried out on May 6, June 6, July 19, August 4 and September 6, 2006.

## **Statistical analyses**

The data were analysed using Microsoft Excel's Analysis ToolPak (Microsoft Office 2007). Correlations and linear regressions were calculated using Pearson's index and the least squares method respectively. Correlation analysis was performed between different mite population estimators (natural varroa drop, ethanol wash, varroa/100 brood cells and varroa/200 worker cells) at different dates and the total mite drop during the fall 2006 control treatment with MiteAwayII™. Treatment

thresholds were determined using the linear regression equations obtained between: natural varroa drop in September 2005 and honey yield or hive strength in May 2006; natural varroa drop in May 2006 and honey yield or hive strength in early September 2006; natural varroa drop in mid-July 2006 and honey yield or hive strength in early September 2006. If a colony experienced queen problems (superseded or mortality), it was eliminated from the protocol, but any data collected prior to this event was used in the statistical analysis.

## **Results**

### Build-up of honey bee and varroa mite populations from May to September 2006

The number of bees (mature worker bees, immature worker bees and immature drones) in colonies increased from May to August (Fig. 2-1). The highest populations were measured in early August. At this time, the colonies had an average of  $27\,757 \pm 1\,888$  (mean  $\pm$  standard deviation) mature honey bees and  $24\,580 \pm 753$  worker brood cells. Drone brood populations also reached a peak at this time, with  $14\,860 \pm 891$  cells.

Variation in natural mite drop (Fig. 2-2) showed a slight reduction from May to June in most colonies during the 2006 season with no treatment applied. Varroa drop then increased later in the summer, from August to September.

## **Estimation of varroa mite populations in the fall**

The different methods used to estimate the total mite population in the colony in September show a correlation (Pearson r index) that varies monthly (Fig. 2-3). For the daily natural drop measure, the closer to September, the higher the correlation index accounting for the variation ( $r = 0.89$  in September). The proportion of infested worker brood follows a similar trend, but with a lower correlation index than that of natural drop throughout the season. The highest correlation for this method was measured in September ( $r = 0.52$ ). The alcohol wash method is the least accurate method for estimating the number of mites in the fall ( $r < 0.40$  from May to September). The proportion of infested drone brood gives the best estimation at the start of the season ( $r = 0.70$ ), but in September the correlation is similar to that of worker brood ( $r = 0.55$ ).

There is a significant linear regression (Fig. 2-4) between daily varroa drop in September and the total varroa drop during the MiteAwayII™ control treatment ( $R^2=0.75$ ,  $F=136.3$ ,  $P<0.001$ ,  $n=38$ ). The regression equation indicates that the total number of varroa in a colony in September can be estimated by multiplying the daily varroa drop by a factor of 79.2, considering MiteAwayII™ treatment as 100% efficient.

## **Varroa mite population and honey production**

The findings show a negative relationship between seasonal honey production and natural mite drop in May and July (Fig. 2-5 and 2-6 respectively). Mite drop in May is associated with a significant regression of honey production from May to September ( $R^2=0.60$ ,  $F=52.5$ ,  $P<0.001$ ,  $N=37$ ). Regression is also significant between mite drop in July and honey production between July and September ( $R^2=0.18$ ,  $F=13.6$ ,  $P<0.01$ ,  $N=37$ ).

## **Mite population in fall and spring in relation to strength of overwintered colonies**

There is a significant regression (Fig. 2-7) between natural mite drop per day in September 2005 and colony strength after overwintering from November 2005 to May 2006 ( $R^2=0.36$ ,  $F=61.8$ ,  $P<0.001$ ,  $n=110$ ).

## **Discussion**

The main objective of this study was to determine *V. destructor* economic thresholds that would allow beekeepers to evaluate whether varroa control action is justified. We therefore tested the efficacy of different methods for estimating varroa mite population densities in honey bee colonies. We also evaluated the relationship



between pest numbers, host response to injury and resultant economic losses. They are the basis of IPM assessment and decision making (Pedigo 1986). Three IPM elements formally proposed by Stern et al. (1959) must be clearly defined: economic damage, economic injury level and economic threshold. Economic damage is the level of injury that would justify the cost of control measures, before any economic loss has occurred, i.e. the point where the cost of damage equals the cost of pest control. Economic injury level is the lowest pest population density inflicting economic damage. It is the measure against which we evaluate the destructive status and potential of a pest population. An economic threshold is a practical or operational guideline, expressed as the pest density at which control action should be taken to prevent an increasing pest population from reaching economic injury level. It is therefore both a measure of pest density and a cue to take action. Our study provides the necessary data to evaluate economic damage, economic injury levels and economic thresholds that should be used in an IPM strategy to control varroa mites in southeastern Quebec.

Our findings support the conclusions of previous studies of varroa mite detection methods and their comparative effectiveness, which showed that the natural drop and alcohol wash methods are both acceptable for estimating mite populations in colonies. In fact, each method has particular advantages and disadvantages (Table 2-1). The natural drop method is more accurate, but requires modification of the hive floor and two trips to the colonies. The alcohol wash method, while less accurate, does not require hive modification, can be accomplished in a single visit to each

colony, but requires opening the colony to sample bees from the brood chamber. We demonstrated that natural varroa mite drop (measured during 5 or 7 consecutive days) most accurately estimates the size of the varroa mite population present in a bee colony in fall. For this reason, we chose this method to determine varroa economic thresholds using regression analysis with honey yield and honey bee colony strength. To our knowledge, this is the first use of this method to calculate varroa economic thresholds for beekeeping in northern climates.

### **Determination of economic thresholds for varroa mite control**

*Varroa economic damage* equals the cost of a varroa control action. Varroa control implicates beekeeper time/work, logistics and purchase of a recommended pesticide. We estimate that the total cost of a varroa control action amounts to approximately \$10 CDN per colony when using medicated varroacide strips (Apistan™, CheckMite™, Apivar™ or Thymovar™, all recommended by Health Canada).

*Varroa economic injury level (EIL)* is the varroa density level that will cause economic damage, i.e. necessitate implementation of a control action. In the beekeeping industry, honey bee population size and honey yield determine profitability. For the May and June EIL, we used summer honey production to determine this value. With an approximate bulk honey value of \$2 per pound and using the regression equations in Fig 2-5 and Fig 2-6, we calculated varroa economic injury levels for May and July using the value of 5 pounds of honey (\$10=economic

damage). May EIL and July EIL correspond respectively to a mite fall of 2.2 and 29.3 varroa per day. For the September EIL, we used the surviving honey bee population after wintering to determine the EIL. With an approximate honey bee population value based on the cost of a four frame nucleus in early spring (\$140 CDN – \$20 CDN for the queen = \$30 per frame with bees), we calculated the EIL in September using 0.33 frames of bees (\$10=economic damage) and the regression equation in Fig 2-7. September EIL corresponds to a mite fall of 14.7 varroa per day. This mite drop is associated to a honey bee colony varroa population density of 1164 mites, estimated using the regression equation from Fig. 2-4.

*Economic thresholds:* The economic thresholds (ET) we propose as part of an IPM strategy against varroosis in Quebec apiaries are indicated in Table 2-2. As action thresholds, they are practical and operational, and intended for use as a reference by Quebec beekeepers. To determine the ET, we calculated an error margin based on the variance not explained by our model ( $1-R^2$ ) for each EIL regression. This variance, expressed as  $1-R^2$ , was used as a percentage error margin of the slope for each regression model (Fig 2-5, 2-6 and 2-7). Economic thresholds for May, July and September are thus presented as ranges of varroa mite fall per day, and are respectively: [1.6 - 3.7], [10.2 - 55.6], [8.7 - 47.1]. We suggest the use of the minimum value of each range as the ET for each period. These ET differ from those proposed by other researchers (Delaplane and Hood 1999; Delaplane and Berry 2005; Currie and Gatién 2006), who identified levels at which varroa mites can be tolerated by the colony without affecting its health and profitability.

Various researchers have noted the importance of timing and climate in determining varroa ET (Delaplane and Hood 1999; Strange and Sheppard 2001; Delaplane and Berry 2005). These factors contribute to regional variations in the length of the beekeeping season and management practices (Fries and Camazine 1994; Delaplane 1997; Delaplane and Hood 1999; Delaplane and Berry 2005). These factors can also be influenced by mite immigration (Greatti and Milani 1992) and presence of bee lines resistant to varroosis (Kulincevic and Rinderer 1992; Moritz 1994; Harbo and Harris 1999; Buchler 2000; Rinderer and de Guzman 2001; Harbo and Harris 2005; Bourgeois and Rinderer 2009).

Beekeeping practices and constraints do not offer beekeepers the possibility of applying treatments at all times. Treatments should be timed to interfere as little as possible with beekeeping production, and must coincide with the absence of honey flow in order to avoid residues in honey. Ideally, this would be in early spring, following overwintering and before first honey flow; in late July between the first and second honey flow; in early fall, after the last honey flow or during the fall feeding of colonies. Consequently, our ET recommendations have been calculated for early May, late July and mid-September.

Despite regional variations in] treatment thresholds, the ET proposed in this study should be useful for Quebec beekeepers, and perhaps those in other regions with similar climates and management procedures. These ET can also facilitate monitoring the development of varroa mite population densities. They form part of an

IPM strategy in which all measures and observations concerning global colony health status are analysed as a whole, prior to implementation of any treatment.

## References

- Anderson, D. L., and J. W. H. Trueman. 2000. *Varroa jacobsoni* (Acari : Varroidae) is more than one species. *Experimental and Applied Acarology* 24: 165-189.
- Boucher C., 2000. Bilan de la saison apicole 1999. *Bulletin zoo sanitaire RAIZO* 22, p. 1-3.
- Bourgeois, A. L. and T. E. Rinderer 2009. Genetic Characterization of Russian Honey Bee Stock Selected for Improved Resistance to *Varroa destructor*. *Journal of Economic Entomology* 102(3): 1233-1238.
- Branco, M. R and N. A. C. Kidd 2006. A comparative evaluation of sampling methods for *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) population estimation. *Apidologie* 37(4): 452-461.
- Brodsgaard, C. J. and H. F. Brodsgaard 1998. Monitoring method as a basis for need-based control of varroa mites (*Varroa jacobsoni*) infesting honey bee (*Apis mellifera*) colonies, Frame.
- Buchler, R. 2000. Design and success of a German breeding program for Varroa tolerance. *American Bee Journal* 140(8): 662-665.
- Calderone, N. W. 1999. Evaluating subsampling methods for estimating numbers of *Varroa jacobsoni* mites (Acari: Varroidae) collected on sticky-boards. *Journal of Economic Entomology* 92(5): 1057-1061.

- Calderone, N. W. and S. Lin 2003. Rapid determination of the numbers of *Varroa destructor*, a parasitic mite of the honey bee, *Apis mellifera*, on sticky-board collection devices. *Apidologie* 34(1): 11-17.
- Calderone, N. W. and R. M. Turcotte 1998. Development of sampling methods for estimating levels of *Varroa jacobsoni* (Acari : Varroidae) infestation in colonies of *Apis mellifera* (Hymenoptera : Apidae). *Journal of Economic Entomology* 91(4): 851-863.
- Currie, R. W. and P. Gatién 2006. Timing acaricide treatments to prevent *Varroa destructor* (Acari : Varroidae) from causing economic damage to honey bee colonies. *Canadian Entomologist* 138(2): 238-252.
- Delaplane, K. S. 1997. Practical science - research helping beekeepers - 3. *Varroa*. *Bee World* 78(4): 155-164.
- Delaplane, K. S. and J. A. Berry 2005. Integrated pest management against *Varroa destructor* reduces colony mite levels and delays treatment threshold. *Journal of Apicultural Research* 44(4): 157-162.
- Delaplane, K. S. and W. M. Hood 1999. Economic threshold for *Varroa jacobsoni* Oud. in the southeastern USA. *Apidologie* 30(5): 383-395.
- Devlin M. S. 2001. Comparative analyses of sampling methods for *Varroa* mites (*Varroa destructor*) on Honey bees (*Apis mellifera*). M. Sc. Thesis. Simon Fraser University. 52pp.
- Floris, I. 1997. A sequential sampling technique for female adult mites of *Varroa jacobsoni* Oudemans in the sealed worker brood of *Apis mellifera ligustica* Spin. *Apidologie* 28(2): 63-70.

- Frazier, M. T. and J. Finley 2000. A sequential sampling scheme for detecting infestation levels of tracheal mites (Heterostigmata : Tarsonemidae) in honey bee (Hymenoptera : Apidae) colonies. *Journal of Economic Entomology* 93(3): 551-558.
- Fries, I. and A. Aarhus 1991. Comparison of diagnostic methods for the detection of low infestation levels of *Varroa jacobsoni* in honey bee *Apis mellifera* colonies. *Experimental and Applied Acarology* 10(3-4): 279-288.
- Fries, I. and S. Camazine 1994. Population dynamics of *Varroa jacobsoni* - a model and a review. *Bee World* 75(1): 5-28.
- Greatti, M. and N. Milani 1992. Reinfestation of an acaricide treated apiary by *Varroa jacobsoni*. *Experimental & Applied Acarology* 16(4): 279-286.
- Harbo, J. R. and J. W. Harris 1999. Selecting honey bees for resistance to *Varroa jacobsoni*. *Apidologie* 30(2-3): 183-196.
- Harbo, J. R. and J. W. Harris 2005. Suppressed mite reproduction explained by the behaviour of adult bees. *Journal of Apicultural Research* 44(1): 21-23.
- Hendrickson, R. 2009. The Field Alcohol Wash Provides a Consistent Sampling Method for Determining Colony Varroa Mite Loads. *American Bee Journal* 149(1): 55-56.
- Kogan M., 1998. Integrated Pest Management. Historical Perspectives and Contemporary Developments. *Annual Review of Entomology*, 43:243-270.
- Kulincevic, J. M. and T. E. Rinderer 1992. 5 year of bidirectional genetic selection for honey bees resistant and susceptible to *Vaorra Jacobsoni*. *Apidologie* 23(5): 443-452.



- Le Conte, Y. and M. Ellis 2010. Varroa mites and honey bee health: can Varroa explain part of the colony losses? *Apidologie* 41(3): 353-363.
- Martin, S. 1998. A population model for the ectoparasitic mite *Varroa jacobsoni* in honey bee (*Apis mellifera*) colonies. *Ecological Modelling* 109(3): 267-281.
- Moritz, R. F. A. (1994). Selection for varroosis resistance in honey bees. *Parasitology Today* 10(6): 236-238.
- Ostiguy, N. and D. Sammataro 2000. A simplified technique for counting *Varroa jacobsoni* Oud. on sticky boards. *Apidologie* 31(6): 707-716.
- Pedigo, L. P., S. H. Hutchins, and L. G. Higley. 1986. Economic injury levels in theory and practice. *Annual Review of Entomology*. 31:341-368.
- Reich, S. E. and S. Fuchs 1998. Geometric approximation of the infestation of honey bee brood cells by *Varroa jacobsoni* and implications for the estimation of brood infestation, for population models and for the proportion of non-sibling matings. *Journal of Apicultural Research* 37(2): 115-123.
- Rinderer, T. E. and L. I. de Guzman 2001. Resistance to the parasitic mite *Varroa destructor* in honey bees from far-eastern Russia. *Apidologie* 32(4): 381-394.
- Rinderer, T. E., W. H. Jeffrey, J. H. Gregory and L. I. De Guzman 2010. Breeding for resistance to *Varroa destructor* in North America. *Apidologie* 41 (3): 409-424.
- Sammataro, D., N. Ostiguy and M. Frazier (2002). How to use an IPM sticky board to monitor varroa levels in honey bee colonies. *American Bee Journal* 142(5): 363-366.
- Stern, V. M., R. F. Smith, R. van den Bosch, and K. S. Hagen. 1959. The integrated control concept. *Hilgardia* 29:81-101.

- Strange, J. P. and W. S. Sheppard 2001. Optimum timing of miticide applications for control of *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) in *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) in Washington State, USA. *Journal of Economic Entomology* 94(6): 1324-1331.
- Webster T.C. 2001. Detection and measurement of Varroa populations, pp. 163=178. In T.C. Webster and K.S Delaplane (eds.). *Mites of the honey bee*. Dadant & Sons, Hamilton, IL.
- Wilkinson, D. and G. C. Smith 2002. Modeling the efficiency of sampling and trapping *Varroa destructor* in the drone brood of honey bees (*Apis mellifera*). *American Bee Journal* 142(3): 209-212.

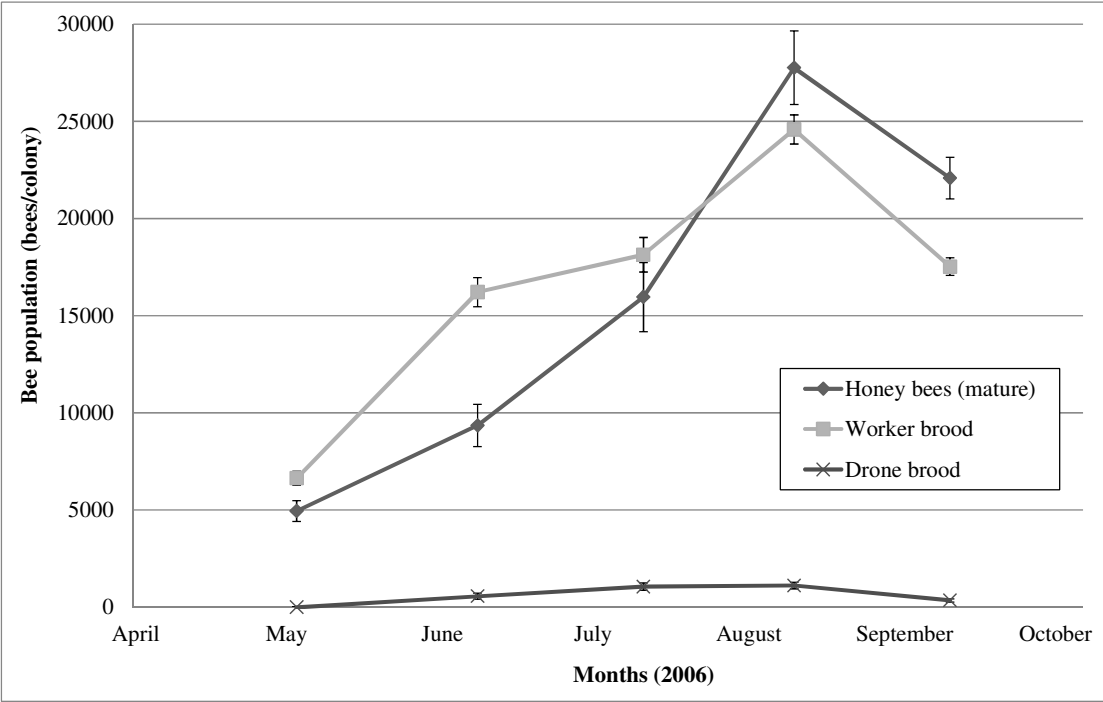


Figure 2-1 Variation of the numbers of worker bees, worker brood and drone brood in honey bee colonies during the 2006 bee season (May-September). Average  $\pm$  standard error (n=44 hives in spring and n=38 in late summer).

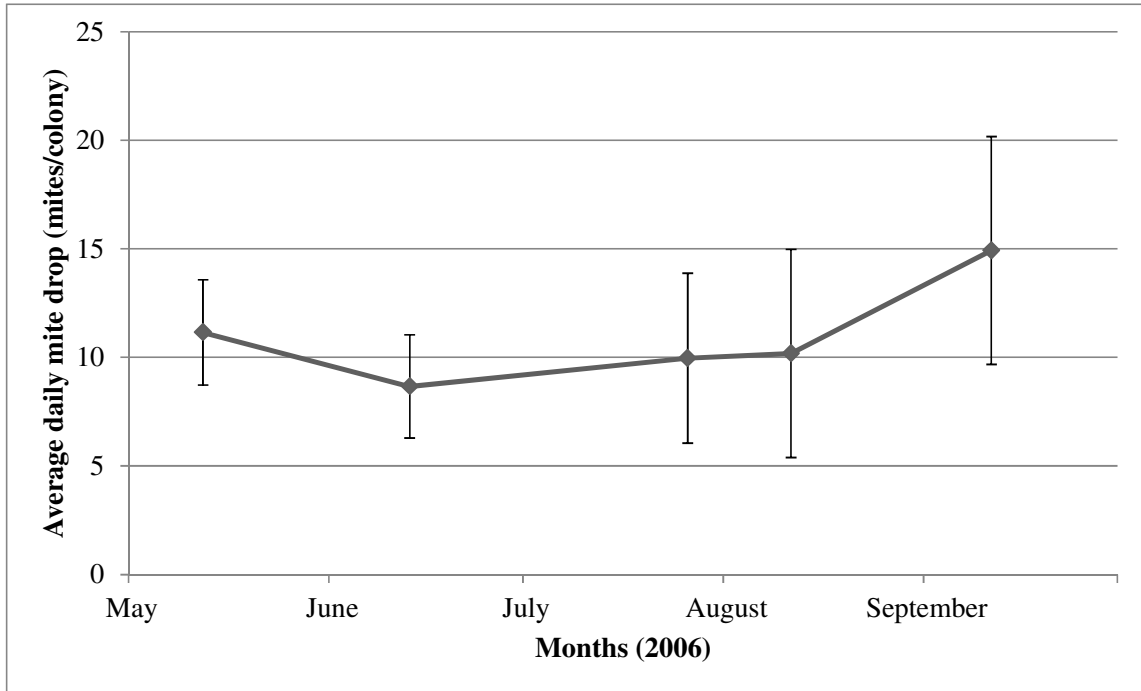


Figure 2-2 Daily varroa drop (measured over 5 or 7 consecutive days prior to indicated dates) in the different experimental colonies from May 12 to September 11, 2006. All colonies were taken out of the wintering room on April 17, 2006 and placed in two different apiaries on May 15. Average  $\pm$  standard error (N=44 hives in spring and n=38 in late summer).

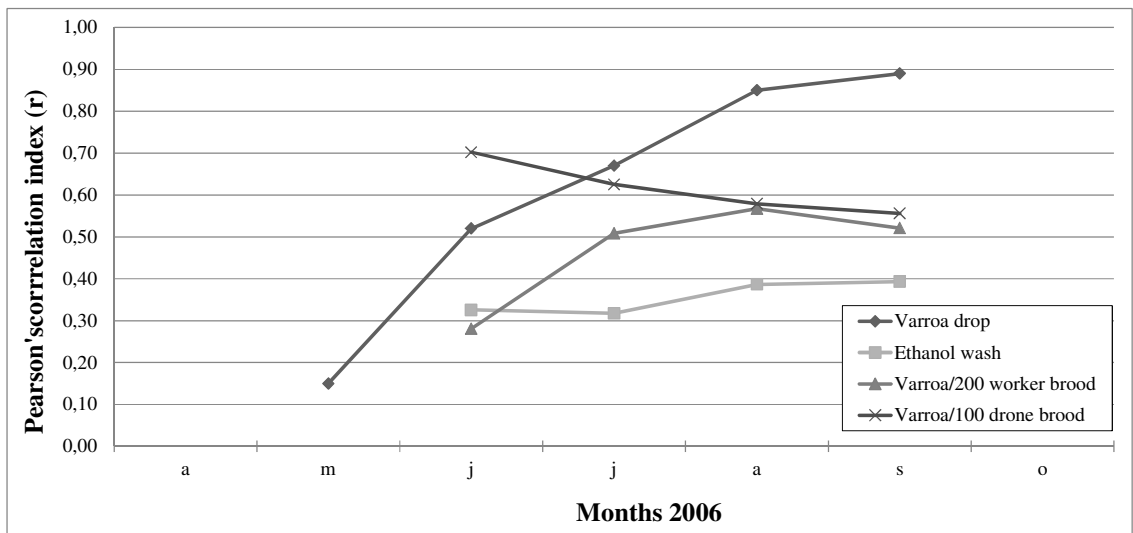


Figure 2-3 Pearson correlation index (r) of the various varroa sampling methods tested. All correlations are calculated between sampling dates and the total number of mites in colonies measured during the MiteAwayII™ control treatment (September 11 to October 2, 2006) (n=38).

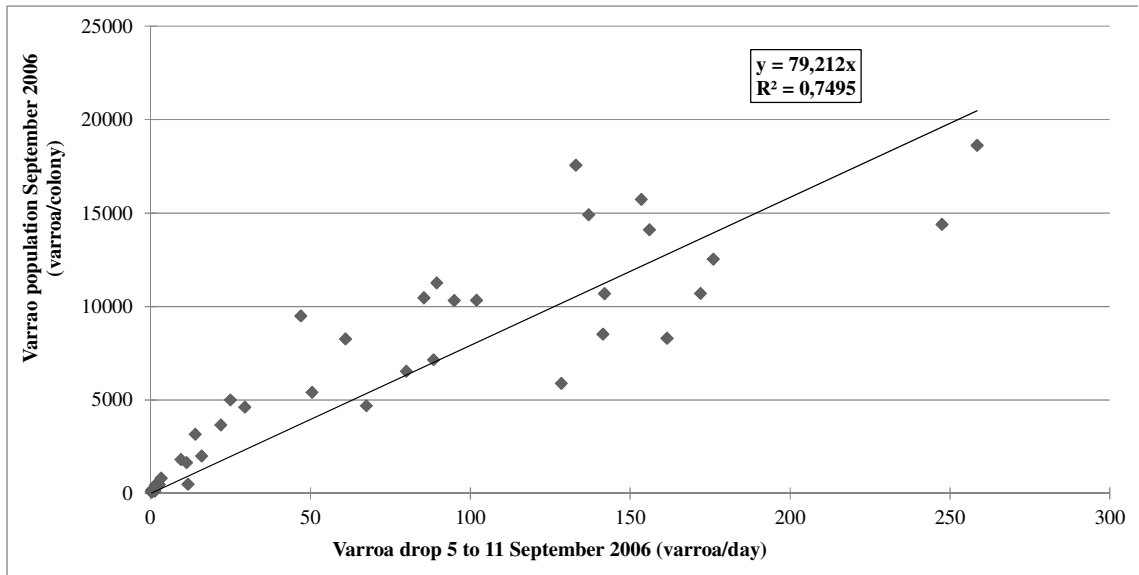


Figure 2-4 Linear regression between daily varroa drop measured in early September 2006 (September 6 to September 11) and the total number of mites in colonies measured during the MiteAwayII™ control treatment (September 11 to October 2 2006) (n=38, F=136.3, P<0.001).

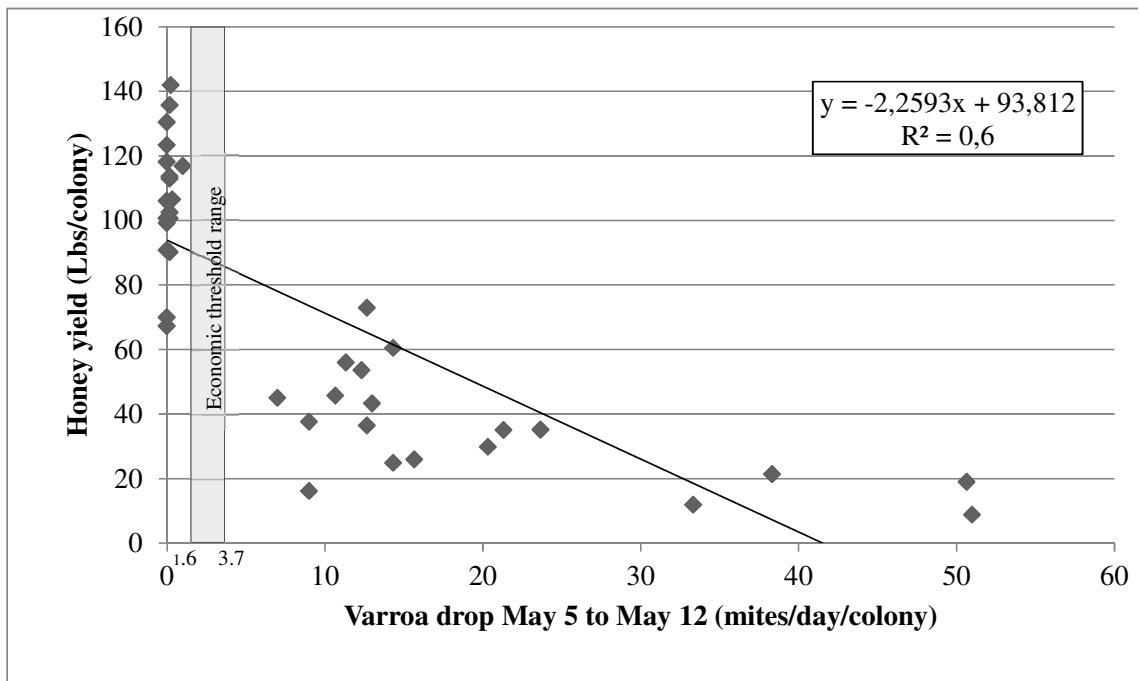


Figure 2-5 Linear regression between 2006 honey yield per colony (May 5 to September 6) and daily varroa drop (May 5 to 12) (n= 37, F= 52.5, P<0.001). The economic threshold range is indicated (see discussion in text for explanation).

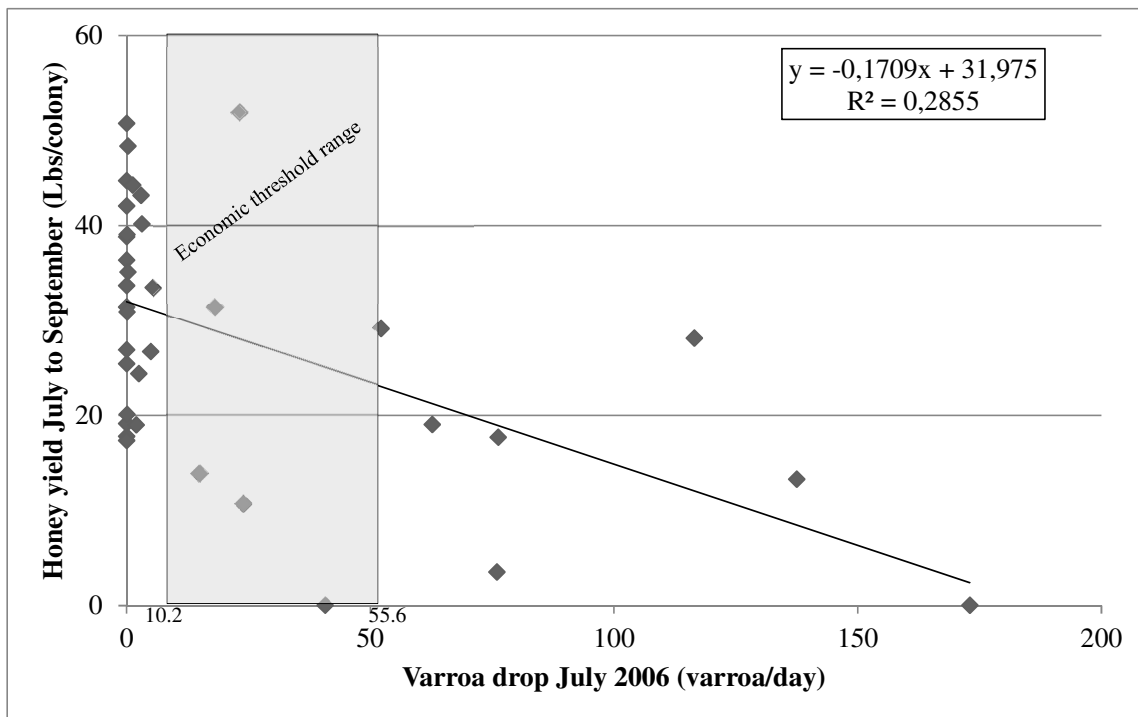


Figure 2-6 Linear regression between honey yield per bee colony (July to September 2006) and daily varroa drop in mid-July (July 19 to 26) (N= 36, F= 13.6, P<0.001). ). The economic threshold range is indicated (see discussion in text for explanation).



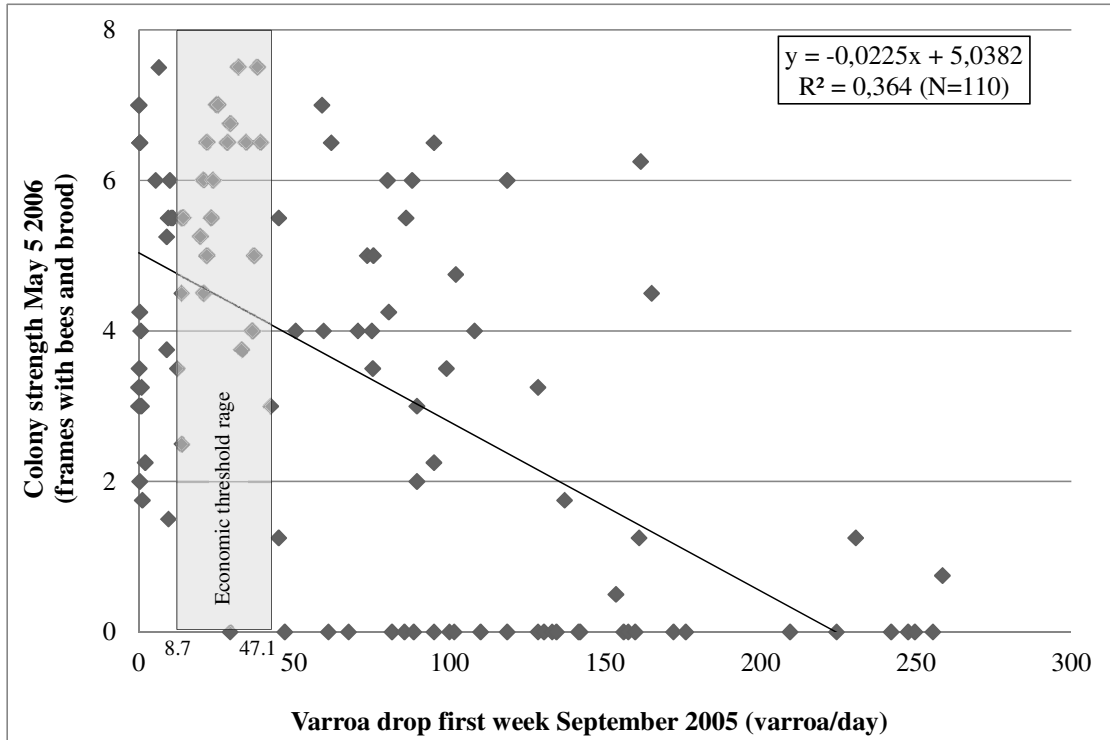


Figure 2-7 Linear regression between colony strength ((number frames with bees and brood viewed from above + number frames with bees and brood viewed from below) / 2) in early May 2006 and daily varroa drop during September 2005 (September 1 to 7) (N=110, F=61.8 , P<0.001). The economic threshold range is indicated (see discussion in text for explanation).

Table 2-1 Comparison of natural varroa drop and ethanol wash for estimating varroa population in a honey bee colony.

	<b>Natural varroa drop</b>	<b>Ethanol wash</b>
Correlation with varroa hive population (Pearson's index)	- high	- low
Hive modification	- yes (Screened bottom board)	- no
Opening of the hive	- no	- yes
Beekeeper work load	- two trips to bee yard - insertion and retreat of sticky boards - varroa counting	- one trip to bee yard - sampling of bees on brood frames - varroa counting
Impact on bee colony	- no	- yes - exposure of brood chamber - 300 bees/sample
Equipment required	- screened bottom boards - sticky boards	- containers, ethanol and screen mesh

Table 2-2 Varroa economic thresholds during a beekeeping season. Thresholds are based on daily natural varroa mite drop measured during 5 to 7 consecutive days and calculated using regression equations (Fig 2-5, 2-6 and 2-7). Discussion section explains method for calculating these economic thresholds.

	Varroa economic thresholds (daily varroa drop measured during 5 to 7 consecutive days)		
Varroa population estimation period	From May to September	From July to September	From September to May
<b>Spring</b> (early May)	<b>1.6 mites/day</b>	<b>10.2 mites/day</b>	<b>8.7 mites/day</b>
<b>Mid summer</b> (end of July)			
<b>Late summer</b> (mid September)			

**Chapitre 3 Evaluation of spring organic treatments against *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) in honey bee *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) colonies in eastern Canada**

Article disponible à: "springerlink.com"

<b>Journal title</b>	<b>Article title</b>
Experimental and Applied Acarology	Evaluation of spring organic treatments against <i>Varroa destructor</i> (Acari: Varroidae) in honey bee <i>Apis mellifera</i> (Hymenoptera: Apidae) colonies in eastern Canada
<b>DOI</b>	<b>Corresponding Author</b>
10.1007/s10493-011-9447-3	Pierre Giovenazzo
<b>Copyright transferred to</b>	<b>Transferred on</b>
Springer Science+Business Media B.V.	Mon Mar 14 19:23:03 CET 2011

**Traitements de printemps contre l'acarien *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) dans les colonies d'abeilles mellifères *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) de l'est du Canada**

**Présentations orales**

Congrès annuel des apiculteurs de l'Alberta (Edmonton, février 2011)

Congrès annuel des apiculteurs du Manitoba (Winnipeg, mars 2011)

Congrès annuel de l'association des apiculteurs de l'Ontario (Lindsay, mars 2012)

Eastern Apicultural Society (Burlington 2012)

## **Abstract**

The objective of this study was to measure the efficacy of two organic acid treatments, formic acid (FA) and oxalic acid (OA) for the spring control of *Varroa destructor* (Anderson & Trueman) in honey bee (*Apis mellifera* L.) colonies. Forty-eight varroa-infested colonies were randomly distributed amongst six experimental groups (n=8 colonies per group): one control group (G1); two groups tested applications of different dosages of a 40 g OA/l sugar solution 1:1 trickled on bees (G2 and G3); three groups tested different applications of FA: 35 mL FA in an absorbent Dri-Loc™ pad (G4) and 35 mL of 65% FA poured directly on the hive bottom board (G5); MiteAwayII™ (G6). The efficacy of treatments (varroa drop), colony development, honey yield and hive survival were monitored from May until September. Five honey bee queens died during this research, all of which were in the FA treated colonies (G4, G5 and G6). G6 colonies had significantly lower brood build-up during the beekeeping season. Brood populations at the end of summer were significantly higher in G2 colonies. Spring honey yield per colony was significantly lower in G6 and higher in G1. Summer honey flow was significantly lower in G6 and higher in G3 and G5. During the treatment period, there was an increase of mite drop in all the treated colonies. Varroa daily drop at the end of the beekeeping season (September) was significantly higher in G1 and significantly lower in G6. The average number of dead bees found in front of hives during treatment was significantly lower in G1, G2 and G3 versus G4, G5 and G6. Results suggest that varroa control is obtained from all spring treatment options. However, all groups treated with FA showed slower summer hive population build-up resulting in reduced honey flow and

weaker hives at the end of summer. FA had an immediate toxic effect on bees that resulted in queen death in five colonies. The OA treatments that were tested have minimal toxic impacts on the honey bee colonies.

**Key words:** Spring treatments; Oxalic acid; Formic acid; *Varroa destructor*; *Apis mellifera*.

## Introduction

Efficient control of the honey bee (*Apis mellifera* L.) parasite *Varroa destructor* (Anderson and Trueman 2000) is a major concern for beekeepers around the world. Medicated strips impregnated with synthetic acaricides such as fluvalinate-tau (Apistan™) and coumaphos (CheckMite™) have been used for many years; however, the appearance of resistant mite populations rapidly followed their introduction (Trouiller 1998; Milani 1999; Lodesani and Costa 2005; Sammataro, Untalan et al. 2005). The other treatment options available for the control of varroa are organic acids such as formic acid (FA), oxalic acid (OA) and essential oil components such as thymol. These pesticides have lower efficacy against the varroa mite but when used in an integrated pest management strategy they have been proven to provide an efficient way to control varroa populations (Rice, Winston et al. 2004; Sammataro, Hoffman et al. 2004; Delaplane, Berry et al. 2005; Calderone 2010).

Many studies have demonstrated the efficacy of FA and OA in controlling varroosis in autumn. Recent review papers have summarized most of this research (Rademacher and Harz 2006; Rosenkranz, Aumeier et al. 2010). FA is most effective by evaporation of an impregnated substrate with 65% FA inside the hive and OA is most effective when applied in honey bee colonies either by dripping or spraying a solution of OA, or through fumigation. One of the advantages of using FA rather than OA is its efficacy on mites within the sealed brood (Fries 1991; Vanengelsdorp, Underwood et al. 2008). Toxic effect of OA acts primarily on phoretic mites and in order to maximize its efficacy it must be applied under



broodless conditions (Gregorc and Planinc 2001; Charriere and Imdorf 2002).

Spring varroosis control with FA and OA is less documented than other seasonal controls. Existing studies have shown variable efficacy of both chemicals due to the lower numbers of phoretic mites and their rapid invasion of the growing number of available brood cells (Currie and Gatién 2006; Rademacher and Harz 2006). FA has toxic effects on all development stages of mites in colonies; however, it causes a break in queen egg laying and kills brood, thus creating a negative impact on future colony build-up (Fries 1989; Fries 1991; Elzen, Westervelt et al. 2004; Ostermann and Currie 2004; Vanengelsdorp, Underwood et al. 2008).

The objectives of the current study were twofold: (1) to verify the efficacy of spring varroosis control using three methods of application of FA and two methods of application of OA in a temperate northern climatic zone, and (2) to measure the impact of these treatments on zootechnical performances of honey bee colonies.

## **Materials and methods**

### **Bee colonies**

Forty-eight colonies of *A. mellifera* were selected amongst the livestock of our bee research facility (Deschambault, Québec, Canada) on April 19, 2006. Young sister queens had been introduced in these colonies in July 2005. These queens were hybrid Italian stock obtained from a local queen breeder (Les reines

Chapleau Inc.) and were marked with a dot of coloured paint on their thorax. Each colony was comprised of a 9-frame Langstroth hive body mounted with a Plastic Varroa Stainless Steel Screen Bottom Board (Dadant & Sons Inc., #M01650). Selected colonies were of equivalent strength (6 to 7 frames of bees/brood) and overwintered in a common environmentally controlled room (3-5 °C and 30-40% RH) between November 22, 2005 and April 15, 2006. All colonies had received a fall varroa treatment starting on September 25, 2005 (MiteAwayII™ for 21 days, Nod Apiaries Ltd.) and an oxalic acid treatment on November 26, 2005 using the trickling method: a concentrate sucrose solution 50% w/w added with 4% OA dehydrate w/v is trickled (5 mL per Langstroth comb occupied by bees) onto bees between each pair of combs in brood chamber.

## **Treatments and experimental protocol**

Colonies were randomly distributed amongst the control group and the five treatment groups (Table 3-1). Oxalic acid was applied using the trickling method as described previously. G2 and G3 colonies received a single or a double application of OA, respectively. The single application consisted of dripping 10 mL of the OA solution between frames and the double application consisted of dripping 5 mL of the OA solution with a repetition after 7 days. A Dispensette pump™ (Brinkmann™) was used to give the appropriate dosages.

- Formic acid was applied in three different ways to the remaining treatment groups.

- MiteWipe method: 65% FA was delivered by placing two Dri-Loc™ pads (10 x 15 cm) imbedded each with 35 mL of acid on top of frames (posterior portion of hives) in brood chamber.
- Flash method: 65% FA was delivered by pouring acid (2mL per frame of bees) directly on a piece of absorbent ScottTowel™ paper placed on the bottom board of the hive.
- MiteAwayII™ pads: FA was delivered by using single application of these commercially available pads. Each MiteAwayII™ pad was placed on top of the frames in brood chambers (posterior portion of hives). As recommended by the manufacturer, we used a 4-cm (i.e., 1.5 inch) spacer rim to elevate the hive roof and placed the pad on 1.3-cm (0.5 inch) sticks to insure adequate evaporation of acid in the hive. The duration of the MiteAwayII™ treatment lasted 21 days.

The treatment period started on May 10, 2006, and brood was present in all colonies. After 7 days, experimental groups G3, G4 and G5 received a second application as planned (Table 3-1). On May 31, all hives were placed in two apiaries and a second brood box was added. The hives from each experimental group were randomly and equally distributed amongst each apiary where they stayed all summer for honey production. Honey supers were added when needed. At the end of August, honey supers were removed and colonies were reduced to one brood box. On September 27, all colonies received a varroa control treatment consisting of two CheckMite™ strips placed in brood box. Preliminary tests

showed no evidence of resistance to this treatment within our research colonies (Pettis and Jadczyk 2005).

### **Dependent variables measured**

- *Varroa population:* fallen varroa mites were counted on sticky-boards placed on the bottom boards of all hives. Sticky-boards covered all the bottom surface of hives and were changed every week during the following periods: April 19-26, 2006 (pre-treatment), May 10 to June 7 (treatment period), June 13-21 (post treatment), July 5-12, August 8-15, and September 6-13 (summer), and September 27 to October 11 (control treatment CheckMite™).
- *Honey bee brood population:* The area occupied by immature worker honey bees (eggs + larva + capped brood) in colonies was evaluated by measuring width and length of the brood surface on each side of every brood frame. The rectangular surface obtained was multiplied by 0.8 to compensate for the elliptic form of the brood pattern. These values were added in order to calculate the total brood surface in each colony. A factor of 25 worker cells per 6.25 cm<sup>2</sup> (i.e., a square inch) was used to convert the area to obtain a number for immature worker honey bees.
- *Bee mortality:* A square piece of polyester geotextile cloth (1 m<sup>2</sup>) was placed in front of each hive. Dead bees that accumulated on this surface were counted and removed every 3 days from May 10 until June 7 (treatment period).

- *Honey yield:* Hives were weighed individually throughout the season each time a honey super was added or removed. Weighing was accomplished by placing the entire colony (brood chamber and honey supers) on a platform scale (total capacity of 500 kg, minimum weight sensitivity of 0.1 kg). Honey yield was divided into two periods: first (May-July) and second honey flow (July-September).
- *Oxalic and formic acid residues in honey:* At the end of the first honey flow (mid-July), honey was extracted from hives and pooled for each experimental group. Two 50-g samples of honey were taken from the bulk honey extracted from each group. Samples were stored in sealed containers at -20 °C until they were analyzed for acid residues. FA and OA residues in honey were determined after extraction with sulphuric acid 0.2 N. The organic acids were separated and quantified using a high-performance liquid chromatograph (HPLC, Waters Corporation, MA, USA) equipped with a separation column (Aminex HPX-87H, 7.8 mm, DI × 30 cm; Bio-Rad Laboratories, CA USA). The mobile phase consisted of sulphuric acid 0.0025 N with a flow rate of 0.4 mL/min at 40 °C. The detection of organic acids was done with a refractive index detector (Waters 410). The minimum detection limit of OA and FA is 1 ppm.

## **Temperature**

Ambient temperature data from May to September was obtained from the

nearest weather station (2 km) and average values for the daily minimum, maximum and overall daily temperatures (24-h basis) were calculated.

### **Formic acid concentration in hives**

The concentration of FA vapour in hives during treatments (MiteWipe, Flash or MiteAwayII™) was measured in two colonies from each experimental groups (G4, G5 and G6) using Gastec™ Formic Acid Dosimeter Tubes (#81D Acetic Acid 0.55-110 ppm, secondary application with a correction factor needed for formic acid). Gastec tubes were inserted through small holes drilled in the front board of the selected hives and air from within the hive was drawn directly in the tubes using the associated pump. Application of different FA treatments started at 11:00 a.m. and vapour measurements were made after 3, 6, 24, 48, 72, and 144 hours. Daily FA vapour measurements always started at 11:00 a.m.

### **Statistical tests**

Statistical tests were done using SAS software (ver. 9.2). All dependent variables were tested for normality using the Wilk Shapiro test. Nonparametric variables (varroa drop: pre-treatment, during treatment, post-treatment and control treatment) were analysed using the Kruskal-Wallis test with the NPAR1WAY procedure. When a significant difference was observed ( $P < 0.05$ ), the ranges between the means of experimental groups were obtained using repeated pair-wise Wilcoxon tests. Parametric variables were analyzed using the General Linear

Model (GLM) procedure. The various treatments were modeled as a fixed effect, and the apiary was modeled as a random effect. The contrasts between the means of the experimental groups were obtained using the Least Significant Difference (LSD) method. If a colony experienced queen problems (supersedure or mortality) it was eliminated from the protocol, but any data collected prior to this event was used in the statistical analysis.

## **Results**

Apiary ambient temperature and average formic acid concentrations measured in two hives during the treatment period (May 10-24) are shown in Figs 3-1 A and B. The evolution of FA vapour concentrations in MiteAwayII™ treated hives and daily temperature followed a similar pattern. There was a drop of FA vapours from a high of 60 ppm on day 2 to 5 ppm on day 3. At the same time there was a daily average temperature drop from 15 to 5 °C on day 3. After day 5, FA vapours remained below 20 ppm and their evolution pattern was similar to the apiary ambient temperature curve. The application of FA using the flash method produced two short periods of the highest FA vapour concentration 3 hours after application (>100 ppm). Eight hours later, intra-hive concentrations dropped rapidly and were below 5 ppm after 24 hours and null after 4 days. MiteWipe FA application also produced two short periods of FA vapour bursts, but were of lower intensity than those observed with the Flash method. After 24 hours, FA vapour was also below 5 ppm and null after 4 days.

## **Colonies and honey yields**

All queens from control group colonies (G1) and oxalic acid treated colonies (G2 and G3) survived until the end of the experiment (October 12, see Table 3-1). Queens were lost during the application of formic acid in G4 (one queen), G5 (two queens) and G6 (two queens).

Before treatments (May 10), the mean number of brood cells in hives was comparable among groups ( $P=0.68$ ) (Table 2). Thirty days after the application of the various spring organic treatments (June 10) the mean number of brood cells in hives increased in all groups but was significantly lower in G6 MiteAwayII™ treated colonies ( $P=0.04$ ). In this group, the mean number of brood cells per colony was 14,766 after treatment, whereas the mean number of brood cells varied between 26,000 and 33,000 in all the other groups. At the end of summer, the mean number of brood cells was different between groups ( $P=0.04$ ). It was significantly higher in G2 OA treated colonies (mean  $\pm$  SE =  $25,057 \pm 1,059$ ) and lower in MiteAwayII™ treated colonies ( $13,670 \pm 862$ ) (Table 2).

Average spring honey yield (May-July) was different among groups ( $P=0.04$ ) (Table 2). The control colonies produced significantly more honey when compared to MiteAwayII™ treated colonies ( $82.1 \pm 6.2$  and  $44.0 \pm 10.7$  kg, respectively). The three groups of FA treated colonies (G4, G5 and G6) produced similar amounts of honey during the same period. Summer honey yield was also significantly different between groups ( $P=0.01$ ). It was significantly higher in G3



OA treated colonies and in G5 FA Flash treated colonies with an average of  $28.8 \pm 5.6$  and  $24.0 \pm 6.9$  kg, respectively (Table 3-2). Summer honey yield was significantly lower in G4 FA MiteWipe treated colonies with  $18.1 \pm 1.9$  kg.

The mean number of dead bees in front of colonies during the treatment period was significantly different among groups ( $P=0.02$ ) (Table 3-2). It was significantly higher in G6 MiteAwayII™ treated colonies. Dead bee values for control colonies (G1) and OA treated colonies (G2 and G3) were similar and significantly lower than the three FA treated colonies.

### **Varroa population**

The pre-treatment varroa populations (daily natural mite drop) were similar ( $P=0.38$ ) and less than 1 mite/day in both control and experimental groups (Table 3-3). During treatments there was an increase of mite drop in all treated colonies (G2-G6). Mite drop was significantly lower ( $P=0.05$ ) in control colonies ( $0.5 \pm 0.1$  mites/day) and higher in G3 OA treated colonies ( $2.1 \pm 0.9$  mites/day). During the post-treatment period, the average daily mite drop was significantly higher ( $P=0.04$ ) in control colonies ( $1.0 \pm 0.1$  mites/day).

The change of varroa populations during the summer from June 13 (end of the post-treatment period) until September 13 (before the September control period) is represented in Fig. 3-2. On September 13, the daily varroa drop was significantly different among groups ( $P=0.03$ ). It was significantly higher in the untreated colonies (control group G1) and significantly lower in the FA treated

colonies (G4, G5 and G6). The daily mite drop in the OA treated colonies had similar intermediate values.

### **Oxalic and formic acid residues in honey**

Results indicate that honey from the control group and the OA and FA treated groups did not contain any of the organic acids tested, implying that OA and FA levels must have been <1 ppm (= minimum detection limit).

### **Discussion**

This study provides a comparative evaluation of different applications of formic acid and oxalic acid for the spring control of *V. destructor* in honey bee colonies. At the time of the treatments, all the honey bee colonies strength and brood amount were average for our apiary conditions. Our colonies had low varroa counts and normally they would not have been treated against varroa before September. Under these conditions, this study gives us the opportunity to test the colony impact of various varroa treatment options using FA and OA without an important bias caused in high spring varroa populations. The results do not provide a direct measure of the efficacy of the treatments. Rather, they indicate the changes of varroa populations from the start of the treatments (spring) until the end (fall), and offer a comparative analysis of the impact of the various spring treatments on the zootechnical performance characteristics of the colonies.

Our results show that the spring organic treatments that were tested increased mite drop during the treatment period (May 10 to June 7) when compared to the control (untreated) hives. This demonstrates the varroacide effect of OA and FA as applied in the various treatment groups of this experiment. Research has shown that FA is toxic to varroa within the sealed brood (Fries 1991; Vanengelsdorp, Underwood et al. 2008) and that OA acts mainly on the phoretic mites and should only be used under broodless conditions (Gregorc and Planinc 2001; Charriere and Imdorf 2002; Rademacher and Harz 2006). In this study, the use of OA during spring (when brood is present) yielded interesting results. The measured mite drop during the treatment period was significantly higher in colonies treated with a double dosage of OA (G3). Colonies within this group had no queen loss and showed similar colony development and honey yield during summer, when compared to the control group. When considering these results, we believe that an OA treatment consisting of dripping 5 mL of the OA 40 g/l solution between frames (trickling method) with a repetition after 7 days is a good treatment option during spring. The other dosage application of OA tested (G2, single application dripping 10 mL OA 40 g/l between frames) produced a lower varroa drop during the treatment period and colonies also had no queen loss and showed similar colony build-up and honey production.

Formic acid treated colonies (G4 MiteWipe, G5 Flash, and G6 MiteAwayII™) showed good control of varroa build-up. When compared to the control group colonies, FA treated colonies showed a higher varroa drop during the treatment period, smaller varroa populations during the summer and lower mite counts during the September control with CheckMite™. FA treated colonies

also showed higher levels of adult bee death during treatment, thus indicating the toxicity of FA on bees. The highest toxicity of FA was measured in colonies treated with the commercial product MiteAwayII™. This application of FA killed more bees than all of the other treatments that were tested and it also reduced brood populations in June. With the application of MiteAwayII™, the decrease of varroa populations seemed to have been achieved at the expense of a reduction of the colony bee population and, consequently, a reduction in honey production. These results are consistent with previous work showing that spring treatment with FA may cause a reduction of brood rearing and it may affect the physiology of the young bees (Bolli, Bogdanov et al. 1993; Westcott and Winston 1999). This would explain the smaller than average brood populations in the colonies treated with MiteAwayII™. Furthermore, there was queen loss only in the FA treated colonies. This confirms the results of other studies that have measured a certain level of queen loss when using FA for varroa treatment (Underwood and Currie 2004; Underwood and Currie 2007; Underwood and Currie 2008).

The MiteAwayII™ label indicates that varroa control is partially dependent on outside temperature. The label states that ‘Outside daytime temperature highs should be between 50 – 79 °F [= 10 – 26 °C] at the time of application’, and that ‘pads [should be] removed from the hives in the event of a heat wave (if daily temperature highs exceed 82 °F)’ [= 28 °C]. The toxicity of MiteAwayII™ on bees and queens was higher than expected, given that the outside maximum temperatures during this study were within the recommended range for the duration of the treatment period. Our results also showed that FA volatility is temperature-dependent when using MiteAwayII™. With this type of

application, FA vapour levels reached a high after a 24-hour period, and thereafter they were dependent on outdoor temperatures. When daily mean temperatures went from 25 to 5 °C on the second day of application, the FA vapours dropped from 70 to 5 ppm. This result supports MiteAwayII™ label information that efficacy of the product is temperature-dependent. The Flash and MiteWipe methods of applying FA produced a sudden burst of FA vapours in hives that receded after 24 hours. This suggests that the varroacide effect of FA is obtained after 24 hours of exposure to FA acid vapours over 80 ppm. These results support the findings of a previous study (Underwood and Currie 2007) that showed a varroacide effect when in-hive FA concentrations were over 58 ppm. The Flash and MiteWipe methods of application do not have a significant negative impact on colony development and honey production when compared to the control group hives.

Levels of control obtained during a spring treatment do not necessarily have to attain an efficacy of 100%. One European study established September economic thresholds at 11 mites/day natural drop (Charriere and Imdorf 2002). It is assumed that keeping the pest density below this threshold will ensure that the colony will remain healthy (Delaplane and Hood 1997; Delaplane and Hood 1999; Currie and Gatién 2006). In this study, all spring treated groups (G2-G6) had varroa drop levels below the European September threshold, whereas in the control group the varroa drop was above this threshold. The FA and OA treatments that were tested slowed down varroa population build up during summer and succeeded in maintaining the mite levels below an economic threshold, thereby minimizing the negative impact of varroa in these colonies.

Our study shows that spring treatments with OA and FA can be made without the risk of residues in honey provided honey supers are not present when acids are applied. During our experiment, a second brood box was added at the end of the treatment period and first honey supers were added after 2 weeks.

Additional studies are required to determine the efficacy of OA and FA under higher levels of spring varroa infestation. This study does provide insight on the impact of different applications of FA and OA during spring.

## References

- Bolli, H. K., S. Bogdanov, A. Imdorf, and P. Fluri. 1993. Action of formic acid on *Varroa jacobsoni* and the honeybee (*Apis mellifera*). *Apidologie* 24: 51-57.
- Calderone, N. W. 2010. Evaluation of Mite-Away-II (TM) for fall control of *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) in colonies of the honey bee *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) in the northeastern USA. *Experimental and Applied Acarology* 50: 123-132.
- Charrière, J. D., and A. Imdorf. 2002. Oxalic acid treatment by trickling against *Varroa destructor*: recommendations for use in central Europe and under temperate climate conditions. *Bee World* 83: 51-60.
- Currie, R. W., and P. Gatién. 2006. Timing acaricide treatments to prevent *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) from causing economic damage to honey bee colonies. *Canadian Entomologist* 138: 238-252.
- Delaplane, K. S., and W. M. Hood. 1997. Effects of delayed acaricide treatment in honey bee colonies parasitized by *Varroa jacobsoni* and a late-season treatment threshold for the southeastern USA. *Journal of Apicultural Research* 36: 125-132.
- Delaplane, K. S., and W. M. Hood. 1999. Economic threshold for *Varroa jacobsoni* Oud. in the southeastern USA. *Apidologie* 30: 383-395.
- Delaplane, K. S., J. A. Berry, J. A. Skinner, J. P. Parkman, and W. M. Hood. 2005. Integrated pest management against *Varroa destructor* reduces colony mite levels and delays treatment threshold. *Journal of Apicultural Research* 44: 157-162.

- Elzen, P. J., D. Westervelt, and R. Lucas. 2004. Formic acid treatment for control of *Varroa destructor* (Mesostigmata: Varroidae) and safety to *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) under southern United States conditions. *Journal of Economic Entomology* 97: 1509-1512.
- Fries, I. 1989. Short-interval treatments with formic acid for the control of *Varroa jacobsoni* in honey bees (*Apis mellifera*) colonies in cold climates. *Swedish Journal of Agricultural Research* 19: 213-216.
- Fries, I. 1991. Treatment of sealed honey bee brood with formic acid for the control of *Varroa jacobsoni*. I. *American Bee Journal* 131: 313-314.
- Gregorc, A., and I. Planinc. 2001. Acaricidal effect of oxalic acid in honeybee (*Apis mellifera*) colonies. *Apidologie* 32: 333-340.
- Lodesani, M., and M. Costa. 2005. Limits of chemotherapy in beekeeping: development of resistance and the problem of residues. *Bee World* 86: 102-109.
- Milani, N. 1999. The resistance of *Varroa jacobsoni* Oud. to acaricides. *Apidologie* 30: 229-234.
- Ostermann, D. J., and R. W. Currie. 2004. Effect of formic acid formulations on honey bee (Hymenoptera: Apidae) colonies and influence of colony and ambient conditions on formic acid concentration in the hive. *Journal of Economic Entomology* 97: 1500-1508.
- Pettis, J. S., and T. Jadczyk. 2005. Detecting coumaphos resistance in *Varroa* mites. *American Bee Journal* 145: 967-970.
- Rademacher, E., and M. Harz. 2006a. Oxalic acid for the control of varroosis in honey bee colonies - a review. *Apidologie* 37: 98-120.



- Rademacher, E., and M. Harz. 2006b. Effectiveness of oxalic acid for controlling the varroa mite. *American Bee Journal* 146: 614-617.
- Rice, N. D., M. L. Winston, and H. A. Higo. 2004. Integrated Pest Management for the parasitic mite *Varroa destructor* (Anderson and Trueman) in colonies of honey bees (*Apis mellifera*). *American Bee Journal* 144: 791-795.
- Rosenkranz, P., P. Aumeier, and B. Ziegelmann. 2010. Biology and control of *Varroa destructor*. *Journal of Invertebrate Pathology* 103: S96-S119.
- Sammataro, D., P. Untalan, F. Guerrero, and J. Finley. 2005. The resistance of varroa mites (Acari: Varroidae) to acaricides and the presence of esterase. *International Journal of Acarology* 31: 67-74.
- Sammataro, D., G. D. Hoffman, G. Wardell, J. Finley, and N. Ostiguy. 2004. Testing of a combination of control tactics to manage *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) population levels in honey bee (Hymenoptera: Apidae). *International Journal of Acarology* 30: 71-76.
- Trouiller, J. 1998. Monitoring *Varroa jacobsoni* resistance to pyrethroids in western Europe. *Apidologie* 29: 537-546.
- Underwood, R. M., and R. W. Currie. 2004. Indoor winter fumigation of *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) colonies infested with *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) with formic acid is a potential control alternative in northern climates. *Journal of Economic Entomology* 97: 177-186.
- Underwood, R. M., and R. W. Currie. 2007. Effects of release pattern and room ventilation on survival of varroa mites and queens during indoor winter fumigation of honey bee colonies with formic acid. *Canadian Entomologist*

139: 881-893.

Underwood, R. M., and R. W. Currie. 2008. Indoor winter fumigation with formic acid does not have a long-term impact on honey bee (Hymenoptera: Apidae) queen performance. *Journal of Apicultural Research* 47: 108-112.

Van Engelsdorp, D., R. M. Underwood, and D. L. Cox-Foster. 2008. Short-term fumigation of honey bee (Hymenoptera: Apidae) colonies with formic and acetic acids for the control of *Varroa destructor* (Acari: Varroidae). *Journal of Economic Entomology* 101: 256-264.

Westcott, L. C., and M. L. Winston. 1999. Chemical acaricides in *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) colonies; do they cause nonlethal effects? *Canadian Entomologist* 131: 363-371.

Table 3-1 Description of the various experimental groups (n=8 colonies / group).

Group	Spring treatments (starting on May 10, 2006)
1	Control, no treatment
2	Oxalic acid, 1 application 40 g/l in a sugar syrup (1:1); 10 mL dripped between frames with bees
3	Oxalic acid, 2 applications (7-day interval) 40 g/l in a sugar syrup (1:1); 5 mL dripped between frames with bees
4	Formic acid, 2 applications (7-day interval) 1 MiteWipe wetted with 35 mL formic acid 65%, on top of frames
5	Formic acid, 2 applications (7-day interval) Flash method, 35 mL formic acid 65%, on bottom board
6	Formic acid, 1 application MiteAwayII™ method (as indicated by the label), on top of frames

Table 3-2 Impact of different treatments on honey bee colonies. The initial queen is in an active colony and producing brood. May 10 represents the pre-treatment period, June 10 the post-treatment period, and September 12 the period prior to the control treatment with CheckMite™.

Variables		Group 1 No treatment	Group 2 Oxalic acid 1x	Group 3 Oxalic acid 2x	Group 4 Formic acid MiteWipe 2x	Group 5 Formic acid Flash 2x	Group 6 Formic acid MiteAwayII™
Active colonies (N)	- May 10	8 (100%)	8 (100%)	8 (100%)	8 (100%)	8 (100%)	8 (100%)
	- June 10	8 (100%)	8 (100%)	8 (100%)	8 (100%)	6 (100%)	6 (100%)
	- Sept 12	8 (100%)	8 (100%)	8 (100%)	7 (87%)	6 (75%)	6 (75%)
Hive strength (mean brood cells/colony ± SE)	- May 10	13,173 ± 1,486a	10,913 ± 712a	10,542 ± 1,448a	9,907 ± 2,109a	12,353 ± 1, 548a	10,508 ± 2,218a
	- June 10	28,756 ± 3,540b	26,095 ± 2,558b	32,382 ± 3,731b	27,671 ± 4,579b	29,096 ± 5,260b	14,766 ± 4,036a
	- Sept 12	19,460 ± 3, 046ab	25,057 ± 1,059b	19,400 ± 1, 427ab	17,803 ± 2, 833ab	20,703 ± 2,006ab	13,670 ± 862a
Honey yield (mean kg/colony ± SE)	- May-July	82.1 ± 6.2b	70.9 ± 6.8ab	70.9 ± 8.0ab	58.7 ± 6.0ab	63.6 ± 6.8ab	44.0 ± 10.7a
	- July-Sept	22.6 ± 5.8ab	21.5 ± 5.5ab	28.8 ± 5.6b	10.3 ± 4.2a	24.0 ± 6.9b	18.1 ± 1.9ab
Dead bees (mean total number ± SE)	per treatment	135.4 ± 26.0a	166.4 ± 28.9a	159.5 ± 29.7a	334.7 ± 122.7ab	300.7 ± 64.8ab	468.2 ± 133.0b

Means within a row followed by different letters are significantly different (LSD test: P<0.05).

Table 3-3 Daily varroa drop (mean number of mites per day  $\pm$  SE) before treatment(pre-treatment), during treatment, after treatment (post-treatment) and during September control. Varroa counts were done during 7 consecutive days for the pre-, post-treatment and September control periods, and 14 consecutive days during the treatment period.

Variables	Group 1	Group 2	Group 3.	Group 4	Group 5	Group 6
	No treatment	Oxalic acid 1x	Oxalic acid 2x	Formic acid MiteWipe 2x	Formic acid Flash 2x	Formic acid MiteAwayII™
Pre-treatment	0.5 $\pm$ 0.2a	0.1 $\pm$ 0.1a	0.3 $\pm$ 0.1a	0.3 $\pm$ 1.0a	0.1 $\pm$ 0.1a	0.2 $\pm$ 0.1a
During treatment	0.5 $\pm$ 0.1a	0.8 $\pm$ 0.2ab	2.1 $\pm$ 0.9b	0.7 $\pm$ 0.1ab	1.8 $\pm$ 0.5ab	1.0 $\pm$ 0.3ab
Post-treatment	1.0 $\pm$ 0.4b	0.3 $\pm$ 0.1a	0.3 $\pm$ 0.2a	0.1 $\pm$ 0.2a	0.2 $\pm$ 0.1a	0.1 $\pm$ 0.1a
September control	117.8 $\pm$ 47.0b	82.6 $\pm$ 22.3ab	68.1 $\pm$ 28.2ab	53.1 $\pm$ 19.6ab	75.7 $\pm$ 25.6ab	15.4 $\pm$ 6.7a

Means within a row followed by different letters are significantly different (LSD test:  $P < 0.05$ ).

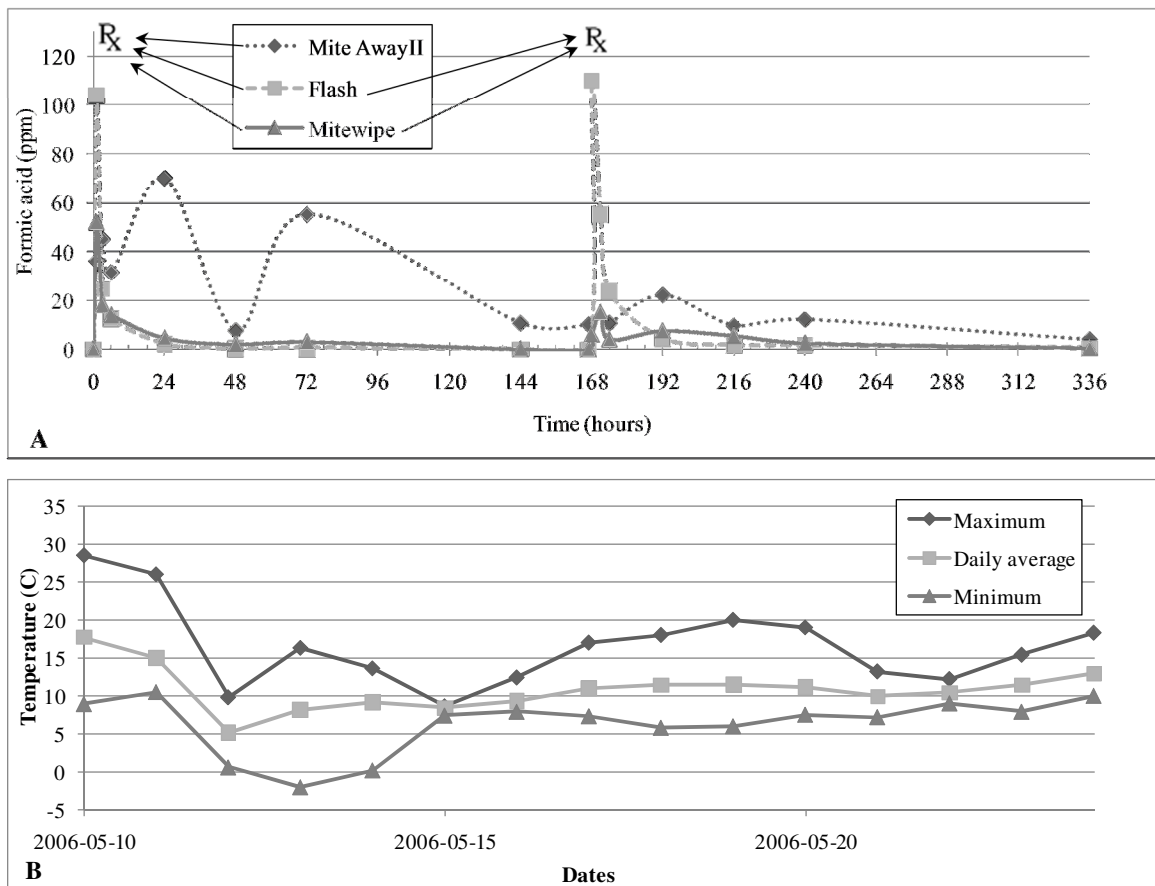


Figure 3-1 (A) Formic acid concentration in colonies during treatment period. The  $R_x$  symbol indicates an application of corresponding formic acid treatments. The MiteAwayII™ pads were placed in colonies at the beginning (Time = 0 hours) and were removed after 21 days. The Flash and MiteWipe treatments were applied twice at a 7 day interval (Time = 0 and 168 hours). (B) Ambient temperatures during the 15-day treatment period.

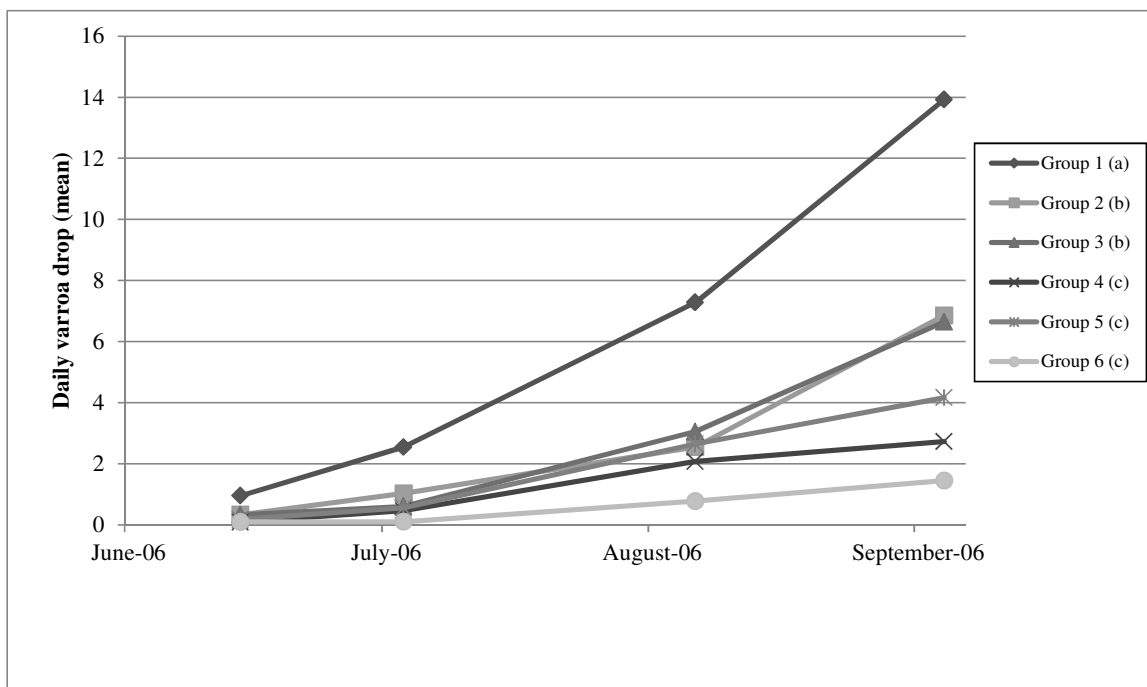


Figure 3-2 Daily average of varroa drop (measured over 7 days) in the different experimental groups during the summer period from June 13 until September 13. The spring treatments ended on June 8 and the control treatment (CheckMite™) started on September 15. Different letters following the group identification in the legend indicate significant differences of the daily varroa drop down on September 13th (LSD test:  $P < 0.05$ ).

**Chapitre 4    Impact of delaying fall *Varroa*  
*destructor* treatments and hive feeding on the winter  
survival of honey bee *Apis mellifera* colonies in  
Eastern Canada**

Pierre Giovenazzo and Pascal Dubreuil

Faculté de médecine vétérinaire, Université de Montréal, Québec, Canada



# **Comparaison de deux stratégies de conduite de rucher à l'automne en prévision de l'hivernage des colonies d'abeilles mellifères au Québec**

## **Présentations orales**

Manitoba Beekeepers association annual meeting (Winnipeg 2009)

Journée Champêtre apicole provinciale (CRSAD 2008)

## **Accepted Poster**

Apimondia (Montpellier 2009)

## **Abstract**

Three fall treatments for the control of *Varroa destructor* in association with colony sucrose feeding were tested in September (early strategy) and October (late strategy) to compare varroa control efficacy and colony wintering success. The treatments were as follows: C) control beekeepers strategy, feeding September + Apistan™ October + oxalic acid November trickling method (AO); E) early-strategy, feeding September + formic acid FA MiteAwayII™ September and OA November trickling method; L) late-strategy, feeding October + FA MiteAwayII™ October and OA trickling method November. Seventy-two colonies with two brood boxes were randomly distributed in the three groups. Colonies C and E were reduced to one brood box on August 28 and Colonies L were reduced to one brood box on October 10. Colonies were wintered indoors in an environmentally controlled room from November 17 2007 to April 15 2008.

Applying the late strategy (group L colonies) significantly reduced winter survival, number of frames with bees on April 10 and weight before and after wintering (November 9 2007 and April 10 2008). Average daily varroa drop on April 23 was similar in group E and L colonies (MiteAwayII™) colonies but significantly higher in group C colonies (Apistan™). Our results show that fall feeding and varroa treatments should be done as soon as the honey supers are removed from colonies. Delaying these operations can compromise wintering of the colonies.

## Introduction

In Québec, Canada, colony development and honey flow extend from April to September. After this period, beekeepers prepare colonies for winter, which involves the removal of honey supers, feeding colonies with a sucrose solution and application of treatments against varroosis (CRAAQ 2009). These are critical operations for the bees which build up their carbohydrate reserves in preparation for winter (Farrar 1965; Mattila et al. 2001; Mattila and Otis 2007; Varshneya et al. 2007; DeGrandi-Hoffman et al. 2008) and produce the last brood cycles giving the young bees that will pass winter. Physiology of these bees is different to that of summer bees: they have longer life spans and carry more reserves in their hypopharyngeal glands and fat bodies (Dadant and Sons 1992). Moreover, *V. destructor* populations peak at the end of the season (Martin and Kemp 1997) and high infestation levels have a significant impact on the health of these emerging bees (Ritter et al. 1984, Le Conte et al. 2010), this can seriously affect the health of wintering bees and thus compromise winter survival (Sammataro et al. 2000).

The timing and duration of fall feeding vary by region and size of the beekeeping operation. These factors have been studied by certain authors who demonstrated the importance of synchronizing varroa treatments with a particular period in the bee season. Delaplane and Hood (1997) observed that colonies from South-Eastern USA treated in late August had higher bee populations than colonies treated one month later in October. They also assessed the differences between colonies depending on their region (Georgia vs. South Carolina). A similar study

conducted by Strange and Sheppard in Washington state (Strange and Sheppard 2001) showed that colonies treated with fluvalinate-tau (Apistan™) in October had higher bee and brood populations in April of the following year than colonies that received the same treatment in August. These contradictory data demonstrate the importance of fall preparation of colonies in relation to the time of the year versus the region.

The main objective of this study was to compare three apiary management practices for the winter preparation of colonies in order to determine whether an early apiary management strategy promotes effective treatment against varroosis, successful overwintering (survival and strength of colonies the following spring) and minimizes the development of other parasites (*Acarapis woodi* and *Nosema sp.*)

## **Methodology**

### **Honey bee colonies**

Seventy-two colonies of the honey bee *A. mellifera* were selected in the last week of August 2007 from the stock of a commercial beekeeper in southern Quebec (Saint-Hyacinthe, Quebec, 45°37' N, 75°54' W). The initial colonies came from nucleus colonies (4 frames of brood covered with bees) created in June 2007 that were naturally infested with *V. destructor*. Queens in these colonies came from hybrid Italian stock obtained from a local queen breeder (Les Reines Chapleau Inc.).

Queens were bred from lines selected for hygienic behaviour, honey production, winter survival and gentleness. Each colony was comprised of a 9-frame Langstroth hive body fitted with a homemade wooden varroa screen bottom board. The selected colonies were of equivalent strength (6 to 7 frames of bees/brood) at the start of the trial (September 2007). All colonies were fall fed with a sucrose solution 2:1 w/v (20 litres/colony) delivered via a Miller-type feeder and were overwintered in a common environmentally controlled room (3–5°C and 30–40% RH) between November 17, 2007 and April 15, 2008.

### **Treatments and experimental protocol**

The 72 colonies were randomly distributed amongst the three groups (group C, E and L) and equally distributed between two apiaries (Table 4-1). Management of colonies in Group C was left to the discretion of the beekeeper; they were fed with a sucrose syrup (as indicated above) from September 10-24 2007 and the varroa treatment consisted of a synthetic pesticide, fluvalinate-tau (Apistan™) starting on October 16 and applied in accordance with the manufacturer's recommendations (two strips in the brood chamber for 42 days). This group received a second varroa treatment with oxalic acid (trickling method: 4% OA dihydrate w/v in a concentrated 50% sucrose solution w/v, 5 mL trickled onto the bees between each pair of combs in brood chamber occupied by bees) on November 9 2007.

The groups E and L colonies received the same type of end season treatment (feeding and varroa treatment) but starting on different dates: September 10 2007 for group C colonies and October 9 2007 for Group L colonies. Both groups were treated with formic acid (MiteAwayII™ pads, Nod Apiary Inc.): September 15 - October 5 2007 for group C colonies and October 16 - November 6 2007 for Group L colonies. Each MiteAwayII™ pad was placed on top of the frames in brood chambers (posterior portion of hives) under the Miller feeder. As recommended by the manufacturer, we used a 4 cm spacer rim to elevate the hive roof and placed the pad on 1.3 cm sticks to ensure adequate evaporation of acid in the hive. MiteAwayII™ pads remained in place for 21 consecutive days. The treatment was applied during feeding with sucrose syrup (Group E: September 14 to 28; Group L: October 8 to 24). A second varroa treatment was applied on November 9 using oxalic acid (as previously described for group C colonies).

## **Dependent variables**

### *Varroa population*

Fallen varroa mites were counted on sticky boards placed on bottom boards of hives. Sticky boards covered the entire bottom surface of the hives and were left in place for 7 consecutive days during the following periods: September 3-10 2007, November 2-9 2007 and April 16-23 2008.

### *Honey yield*

This was assessed only for colonies in Group L from September to October 2007. Hives were weighed individually by placing the entire colony (brood chamber and honey supers) on a platform scale (total capacity of 500 kg, minimum weight sensitivity of 0.1 kg).

### *Colony strength and overwintering survival*

For each colony, the size of the cluster of bees before and after wintering (November 9 2007 and April 8 2008) was measured by opening each hive and noting the number of frames occupied by the bee cluster around the brood as viewed from above the hive and also the number of frames as viewed from below. The index varies between 0 (dead colony) and 10 and is calculated using the following formula: (number of frames with bees and brood viewed from above + number of frames with bees and brood viewed from below) / 2.

### *Nosemosis and acariosis infestation*

These diseases were assessed by collecting bees from each of the hives in the experimental groups and from each of the apiaries in order to assess the presence of the pathogens *Nosema sp.* and *Acarapis woodi*. One sample per apiary comprised a mix of  $\pm 20$  worker bees from each colony in each experimental group in a 500 mL jar with 70% v/v ethanol. The abdomens (digestive tract) and tracheal openings (spiracles) of 60 bees from each sample were examined for the presence of *Nosema sp.* and *Acarapis woodi* using the methodology recommended by the Canadian Association of Professional Apiculturists (Pernal et al. 2007). Sampling was carried out in September 2007 and April 2008 (6 samples: one per experimental group in each apiary).

### **Ambient temperature**

Ambient temperature data from September to November was obtained from the nearest weather station (5 km) and average values for the daily minimum and maximum (24-hour basis) were registered.

### **Statistical tests**

Statistical tests were done using SAS software (version 9.2). All dependent



variables were tested for normality using the Wilk Shapiro test. Parametric variables were analysed using the General Linear Model (GLM) procedure. The various groups were modeled as a fixed effect, and the apiary was modeled as a random effect. The contrasts between the means of the experimental groups were obtained using the Least Significant Difference (LSD) method. If a colony experienced queen problems (laying dysfunction or mortality), it was considered as dead and eliminated from the protocol, but any data collected prior to this event was used in the statistical analysis.

## **Results**

Average colony strength in the three treatment groups was similar at the start of the experiment on September 7, 2007. No colony losses were observed in fall 2007 (Table 4-2). The following spring, the late-strategy group L colonies showed a 50% colony survival rate compared with 83% for the early-strategy group E and 75% for the group C. From the outset, average hive weight was higher in group L, for the second super was left in place until October for a honey harvest. The removal of this super on October 15 2007 indicated that group L colonies yielded an average of 0.4 kg of honey (calculated by subtracting average weight on September 7 from that of October 15). On November 9, mean hive weight in group L after feeding was lower than that of colonies fed earlier in September (groups C and E).

The average strength of colonies from the various groups was similar ( $P=0.4919$ ) on November 8 2007 (Table 4-2). However, in spring 2008 (April 10) the

colonies in group L were significantly weaker than those in groups C and E ( $P=0.0008$ ): group L colonies had an average of  $2.8 \pm 0.5$  frames of bees, whereas groups C and E colonies were of equivalent strength with  $5.7 \pm 0.6$  and  $4.8 \pm 0.4$  frames of bees respectively. A similar relation between the groups is observed with the variable hive weight on 23 April 2008 ( $P<0.0001$ ).

Varroa 2007 fall treatments in various groups reduced the number of mites the following spring (Table 3). Natural mite drop per day decreased from  $31.4 \pm 5.8$  to  $3.3 \pm 0.9$  (group C),  $25.9 \pm 4.1$  to  $1.5 \pm 0.3$  (group E) and  $24.0 \pm 5.5$  to  $1.1 \pm 0.2$  (groups L). Natural mite drop in April 2008 was significantly different between groups ( $P=0.0245$ ) with a higher value in group C colonies ( $P<0.05$ , LSD test). Our data indicates that varroa treatments in groups E and L reduced natural mite drop in November 2007 to similar values (group E  $5.0 \pm 0.9$  and  $6.5 \pm 1.1$ ;  $P>0.05$ , LSD test). Whereas, in group C colonies we measured a significantly higher mite drop,  $36.2 \pm 5.7$  ( $P<0.05$ , LSD test), and an increase from the initial September Varroa drop of  $31.4 \pm 5.8$  mites/day. This varroa drop was measured on the 3<sup>rd</sup> week of the Apistan strip treatment (full treatment duration is 6 weeks) suggesting a residual treatment effect.

Acariosis was not detected in the samples of fall and spring bees (Table 4-3). *Nosema sp.* spores were not detected in the samples of fall bees. However, spores were found in a sample of bees from Group E and in a sample of bees from Group L.

## Discussion

The study reports for the first time data for Quebec area on three apiary management strategies for winter preparation of honey bee colonies. Timing of the fall varroa treatments with FA (MiteAwayII™) did not influence treatment efficacy. But an important colony impact was measured in regards to the timing of fall feeding. Colonies fed in early September (groups C and E) had higher overwintering survival rates and were stronger the following spring when compared to late fed October colonies (group L).

Strange and Sheppard (2001) demonstrated that a single fall treatment (applied after honey removal) with fluvalinate medicated strips once a year is sufficient to control *V. destructor* population at levels below the damage threshold the northern state of Washington, USA. The presence a varroa fall treatment significantly increased colony brood area the following spring. Our study adds new information and shows that application of a fall varroa treatment and colony feeding should be done as soon as the honey supers are removed. Waiting until October results in weaker colonies the following spring. Our study also shows that delaying fall feeding to extend honey harvest resulted in an average gain of 0.4 kg of honey per colony in our region. This represents a negligible 0.8% increase of the annual honey harvest for the beekeeper (annual average of 50kg honey per colony, personal communication Miels Gauvin Inc.). Feeding in early September helps colonies to achieve a successfully wintering. Delaplane and Hood (1997) demonstrated the negative impact of delaying treatment in south eastern USA (Georgia and South Carolina): colonies

treated in October had reached varroa levels that were well over the injury threshold (over 100 mite drop per day) and an earlier treatment in August protected the honey bees against mite associated brood-pathology.

The significantly lower average weight of the late strategy colonies prior to wintering (November 8 2007) suggests that the early strategy promotes effective sugar syrup feeding by bees. Delaying or prolonging this operation increases the risks of encountering colder weather (Fig. 4-1) which reduces bee activity and prevents them from accumulating sufficient carbohydrate reserves for the winter. Owing to colder weather and rainfall when Group L was feeding, water seeped into the feeders and accumulated on top of the sugar syrup. This undoubtedly prevented the colonies from feeding properly.

Our study also shows that MiteAwayII™ varroa treatment can be applied during feeding. Despite the strong acid fumes given off by the pads soaked in formic acid, the bees entered the Miller-type feeder to access the sugar syrup. This treatment is effective against varroa mites when outdoor temperatures are not below 10°C (label recommendations, Nod Apiaries Ltd.). The MiteAwayII™ label states that ‘Outside daytime temperature highs should be between 10 – 26 °C at the time of application’, and that ‘pads [should be] removed from the hives in the event of a heat wave (if daily temperature highs exceed 28° C). Hive management operations of the late strategy colony were done when daily average ambient temperatures were near 10°C label recommendations (Fig. 4-1). This did not affect the MiteAwayII™ efficacy but lower temperatures this late in season could seriously compromised varroa control.

Primary recommendations from this study are that hive feeding and varroa control in fall are more successful when done as soon as possible after removal of honey supers at the end of summer. Delaying these operations jeopardize the honey bee colony preparation for wintering. Late strategy in October reduced fall sucrose uptake and colonies were significantly weaker the following spring.

## References

- CRAAQ, 2009. Gestion optimale des ruchers au Québec. Publication du Centre de référence en agriculture et agroalimentaire du Québec. 68p.
- Dadant and Sons, 1992, The hive and the honey bee. Dadant & Sons, Hamilton Illinois, USA. 739p.
- DeGrandi-Hoffman, G., G. Wardell, et al. 2008. Comparisons of pollen substitute diets for honey bees: consumption rates by colonies and effects on brood and adult populations. *Journal of Apicultural Research* **47**(4): 265-270.
- Delaplane, K. S. and W. M. Hood 1997. Effects of delayed acaricide treatment in honey bee colonies parasitized by *Varroa jacobsoni* and a late-season treatment threshold for the southeastern USA. *Journal of Apicultural Research* **36**(3-4): 125-132.
- Farrar, K. L. (1965). Overwintering in productive bee colonies From: REF ZH BIOL, 1966, No. 2E407. (Translation). *Pchelovodstvo* 10: 27-31.
- Le Conte, Y., M. Ellis, et al. 2010. *Varroa* mites and honey bee health: can *Varroa* explain part of the colony losses? *Apidologie* **41**(3): 353-363.
- Martin, S. J. and D. Kemp 1997. Average number of reproductive cycles performed by *Varroa jacobsoni* in honey bee (*Apis mellifera*) colonies. *Journal of Apicultural Research* **36**(3-4): 113-123.
- Mattila, H. R., J. L. Harris, et al. 2001. Timing of production of winter bees in honey bee (*Apis mellifera*) colonies. *Insectes Sociaux* **48**(2): 88-93.

- Mattila, H. R. and G. W. Otis 2007. Manipulating pollen supply in honey bee colonies during the fall does not affect the performance of winter bees. *Canadian Entomologist* **139**(4): 554-563.
- Pernal, Melathopoulos and van Haga 2007. Biology, Diagnosis and Control of *Nosema apis* and *Nosema ceranae*. Canadian association of professional apiculturist pamphlet. <http://www.capabees.com>.
- Ritter W. E. Leclerc et W. Koch, 1984. Observations des populations d'abeilles et de *Varroa* dans les colonies à différents niveaux d'infestation. *Apidologie*, 14, 389-400.
- Sammataro, D., U. Gerson, et al. 2000. Parasitic mites of honey bees: Life history, implications, and impact. *Annual Review of Entomology* **45**: 519-548.
- Strange, J. P. and W. S. Sheppard 2001. Optimum timing of miticide applications for control of *Varroa destructor* (Acari : Varroidae) in *Apis mellifera* (Hymenoptera : Apidae) in Washington State, USA. *Journal of Economic Entomology* **94**(6): 1324-1331.
- Varshneya, I., A. K. Pandey, et al. 2007. Effect of weather parameters on brood development of European honey bee, *Apis mellifera* Linn. in different seasons. *Journal of Entomological Research (New Delhi)* **31**(4): 347-354.

Table 4-1 Description of the various experimental groups (n = 24 colonies per group).

Group	Fall feeding and <i>Varroa</i> treatments
C	<p><u>Control; beekeeper's method</u></p> <p>Fall feeding: September 10 to 24, 2007, sucrose 2:1 w/v solution, 20 litres per colony via a Miller-type feeder.</p> <p>Varroa control: October 16 to November 27, Apistan™ strips (as per label instructions); November 9, oxalic acid, 1 application 40g/L in a sugar syrup (1:1 w/v), 5 mL trickled between frames with bees.</p>
E	<p><u>Early strategy</u></p> <p>Fall feeding: September 10 to 24, 2007, sucrose 2:1 w/v solution, 20 litres per colony via a Miller-type feeder.</p> <p>Varroa control: September 15 to October 5, MiteAwayII™ pads (as per label instructions); November 9, oxalic acid, 1 application 40g/L in a sugar syrup (1:1 w/v), 5 mL trickled between frames with bees.</p>
L	<p><u>Late strategy</u></p> <p>Fall feeding: October 8 to 22, 2007, sucrose 2:1 w/v solution, 20 litres per colony via a Miller-type feeder.</p> <p>Varroa control: October 16 to November 6, MiteAwayII™ pads (as per label instructions); November 9, oxalic acid, 1 application 40g/L in a sugar syrup (1:1 w/v), 5 mL trickled between frames with bees.</p>



Table 4-2 Impact of different fall strategies on honey bee colonies.

	Beekeepers strategy (C)	Early strategy (E)	Late strategy (L)
Number of live colonies (% of the initial number)			
- 10 September 2007	24 (100%)	24 (100%)	24 (100%)
- 8 November 2007	24 (100%)	24 (100%)	24 (100%)
- 10 April 2008	18 (75%)	20 (83%)	12 (50%)
Strength of live colonies (mean frames with bees and brood/colony $\pm$ ES)			
- 10 September 2007	8.8 $\pm$ 0.1a	8.8 $\pm$ 0.1a	8.7 $\pm$ 0.1a
- 8 November 2007	5.3 $\pm$ 0.4a	5.7 $\pm$ 0.3a	5.8 $\pm$ 0.3a
- 10 April 2008	5.7 $\pm$ 0.6 a	4.8 $\pm$ 0.4 a	2.8 $\pm$ 0.5b
Weight of live colonies (mean kg/colony $\pm$ ES)			
- 10 September 2007	58.7 $\pm$ 1.3a	60.3 $\pm$ 0.9a	97.8 $\pm$ 2.8 (2 supers)
- 15 October 2007	88.6 $\pm$ 1.7a	85.5 $\pm$ 2.2a	98.2 $\pm$ 3.0 (2 supers)
- 9 November 2007	75.0 $\pm$ 2.2a	73.3 $\pm$ 1.7a	65.8 $\pm$ 1.4b
- 23 April 2008	58.2 $\pm$ 1.8a	52.4 $\pm$ 1.5b	47.7 $\pm$ 1.2c

The initial queen is in an active colony and producing brood. September 10 represents the start of the experimental protocol. Means within a row followed by different letters are significantly different (ANOVA; LSD multiple comparison test, P<0.05)

Table 4-3 Varroa and Nosema infestation levels in the various groups.

	Control (C)	Early strategy (E)	Late strategy (L)
Varroosis, natural drop (mean mites/day $\pm$ ES)			
- 10 September, 2007	31.4 $\pm$ 5.8 <sup>a</sup>	25.9 $\pm$ 4.1 <sup>a</sup>	24.0 $\pm$ 5.5 <sup>a</sup>
- 9 November 2007	36.2 $\pm$ 5.7 <sup>a</sup>	5.0 $\pm$ 0.9 <sup>b</sup>	6.5 $\pm$ 1.1 <sup>b</sup>
- 23 April 2008	3.3 $\pm$ 0.9 <sup>a</sup>	1.5 $\pm$ 0.3 <sup>b</sup>	1.1 $\pm$ 0.2 <sup>b</sup>
Acariosis			
September 2007	absent	absent	absent
April 2008	absent	absent	absent
Nosemosis			
September 2007	absent	absent	ND absent
April 2008	absent	1 positive sample 4,200,000 spores/bees	1 positive sample 800,000 spores/bees

Means within a row followed by different letters are significantly different (ANOVA; LSD multiple comparison test, P<0.05). (ND: not detected).

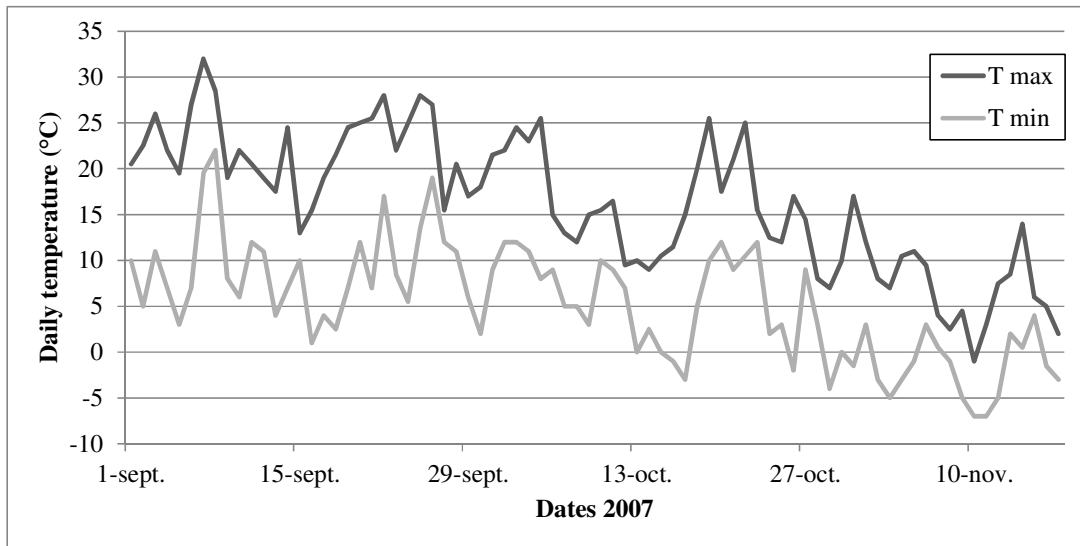


Figure 4-1 Ambient temperatures during fall colony management in various experimental groups.

## **Chapitre 5 Utilisation combinée d'acides organiques et de thymol pour le contrôle de *Varroa destructor* dans les colonies d'abeilles mellifères, *Apis mellifera*, au Québec**

Présentations orales

American beekeepers association annual meeting (Sacramento 2008)

OIE meeting (Freiburg 2009)

Congrès annuel de la Fédération des apiculteurs du Québec (Drummondville 2009)

ANERCEA (Limoges 2010)

Congrès de L'association des apiculteurs de la Colombie-Britannique (Vancouver 2011)

Congrès annuel de l'association des apiculteurs de l'Ontario (Lindsay 2012)

Eastern Apicultural Society of America (Burlington 2012)

## Résumé

L'apparition de varroas résistants aux pesticides de synthèse nous a amené à mettre au point des stratégies de lutte intégrée (SLI) faisant appel à une application sélective de différents types de pesticides associés à des seuils d'intervention. Au printemps 2006, 48 colonies de forces équivalentes ont été distribuées aléatoirement dans deux groupes : SLI-1 traitements d'acide formique (AF) en mai (MiteAwayII™), juillet (Mitewipe, tampon Dri-Loc™ imbibé de 35 mL AF à 65% v/v ), septembre (MiteAwayII™) et traitement d'acide oxalique (AO) (égouttement d'une solution 40 g AO par litre d'une solution de sucrose 1 :1, 5 mL entre chaque cadre avec des abeilles) une application en novembre; SLI-2 traitements AO (idem SLI-1) deux applications en mai, deux en juillet, une en novembre et un traitement thymol (Apiguard™) en septembre. Les traitements furent réalisés lorsque les niveaux d'infestation par *V. destructor* dépassaient le seuil périodique préétabli en fonction de la chute naturelle journalière de varroas : 2 varroas par jour en début mai, 9 varroas par jour à la fin juillet et 11 varroas par jour à la mi-septembre.

À la suite des traitements de la fin mai 2006, la chute journalière naturelle moyenne des varroas par colonie (calculée sur 5 à 7 jours consécutifs) a augmenté du 30 mai au 24 juillet à une valeur similaire dans les colonies SLI-1 et SLI-2. Les traitements à la fin juillet dans SLI-1 ont réduit la chute naturelle journalière moyenne de varroas au 1 septembre tandis que dans SLI-2 elle a augmenté significativement. Les traitements d'automne réalisés dans les groupes SLI-1 et SLI-2 ont réduit la chute

naturelle journalière de varroas à moins de 2 varroas avant l'hivernage (20 décembre 2006) et après l'hivernage (17 mai 2007) et elle est significativement inférieure dans SLI-2 à ces deux dates.

De mai à septembre, il n'y a eu aucune différence significative du nombre d'abeilles, de la quantité de couvain et de la production de miel entre les deux groupes n'a été notée. En novembre 2006 (après le premier traitement d'automne) et mai 2007 (après l'hivernage), les colonies du groupe SLI-1 étaient significativement plus peuplées que celles du groupe SLI-2. Les forts taux de parasitisme mesurés à la fin juillet 2006 et fin septembre dans les colonies SLI-2 et/ou à une réaction de toxicité au traitement à l'Apiguard™ seraient la cause de cet affaiblissement.

Des résidus d'AF sont présents dans les échantillons de miel provenant des colonies de la SLI-1. Les résidus d'AO sont entre 21 et 22 ppm dans le miel des deux groupes SLI-1 et SLI-2.

En conclusion, nous suggérons qu'une stratégie de lutte contre la varroase doit viser un traitement d'automne efficace afin d'éviter un traitement de printemps. Un traitement de mi saison efficace est possible avec de l'AF, par contre, des précautions doivent être prises afin d'éviter les résidus dans le miel.

## Introduction

L'acarien *Varroa destructor* est un parasite de l'abeille mellifère *Apis mellifera* qui provoque de nombreuses pertes de colonies à travers le monde (Le Conte et al. 2010). L'arrivée de ce parasite au Québec (Canada) date de 1997 (Boucher 2002) et les niveaux de parasitisme du cheptel ont été contrôlés efficacement pendant quelques années avec l'utilisation d'une pyréthrine de synthèse, homologuée à l'époque par l'Agence de réglementation pour la lutte antiparasitaire de Santé Canada, le Fluvalinate-tau: bandes d'Apistan™. L'utilisation répétée de ce produit a mené au développement de populations résistantes au Fluvalinate-tau au Canada (Boucher 2002) ainsi que dans plusieurs régions du monde (Eischen 1995; Faucon et al. 1995; Hillesheim et al. 1996; Colin et al. 1997; Floris et al. 2001; Macedo et al. 2002; Thompson et al. 2002; Elzen et al. 1999; Martin 2004; Gracia-Salinas et al. 2006; Lipinski and Szubstarski 2007). Dans ce contexte, il est devenu primordial d'offrir aux apiculteurs canadiens de nouveaux moyens de contrôle pour contenir l'action dévastatrice de la varroase.

Malgré l'origine récente de l'appellation «IPM-Integrated Pest Management» ou en français Stratégie de lutte intégrée la lutte stratégique contre les pestes agricoles a sûrement débuté avec l'agriculture et grandement évolué avec le développement de l'agriculture intensive (Smith 1978). Indépendamment de la problématique agricole en cause, lorsqu'il y a absence de pesticides de grande efficacité, l'approfondissement des connaissances sur la biologie de la peste et de son hôte prend toute son importance. Avec une meilleure compréhension de la relation écologique entre l'hôte

et son parasite, il est possible de développer une stratégie ‘multi tactiques’ qui utilise à la fois des moyens de contrôles biologiques et chimiques (Kogan 1998). Typiquement, une stratégie de lutte intégrée comprend trois points fondamentaux : 1) l'évaluation des niveaux d'infestation; 2) l'utilisation de seuils d'intervention et 3) l'utilisation complémentaire de différents moyens de contrôle.

Plusieurs travaux démontrent que la lutte intégrée est un moyen efficace pour contrer la progression du parasite (Imdorf et al. 1996; Sammataro et al. 2002; Rice et al. 2004; Delaplane et al. 2005; Harris 2007). Il existe plusieurs produits organiques disponibles mais seulement trois ont clairement été identifiés comme étant efficaces dans le cadre d'une lutte intégrée contre *Varroa destructor*: l'acide oxalique, l'acide formique et le thymol (Imdorf et al. 1996, Sammataro et al. 2000; Rademacher and Harz 2006; Rosenkranz et al. 2010).

À la base même de la lutte intégrée se trouve la connaissance de l'état de santé des colonies. Il faut impérativement que le processus de lutte intégrée soit accompagné d'un moyen de dépistage permettant l'évaluation du taux parasitisme par le varroa dans les colonies. Plusieurs travaux ont été réalisés dans le but de déterminer l'efficacité et la précision de différentes méthodes de dépistage (Fries et al. 1991; Floris 1997; Brodsgaard and Brodsgaard 1998; Calderone and Turcotte 1998; Calderone 1999; Wilkinson and Smith 2002; Calderone and Lin 2003; Branco et al. 2006; Hendrickson 2009) et d'établir des seuils de traitements (Delaplane and Hood 1999; Strange and Sheppard 2001; Elzen 2003; DeGrandi-Hoffman and Curry 2004; Currie and Gatién 2006). Ces notions permettent de cibler le moment des



traitements en les synchronisant avec les différentes étapes de la saison apicole (production de miel, préparation à l'hivernage, l'hivernage et le développement printanier).

Cette recherche a pour but de tester deux stratégies de lutte intégrée contre la varroase en se basant sur les seuils d'intervention (chute naturelle de varroas au début mai, à la fin juillet et la mi-septembre) qui furent déterminés lors de travaux préalables (Giovenazzo et Dubreuil 2011) et en utilisant des acaricides organiques (acide formique, acide oxalique et thymol).

## **Matériel et méthode**

### **Colonies et protocole**

Au printemps 2006, 48 colonies d'abeilles mellifères *Apis mellifera* de force équivalente appartenant au Centre de recherche en sciences animales de Deschambault (Deschambault, Québec, Canada) ont été utilisées pour ce protocole. Ces colonies étaient issues d'un mélange génétique de lignées Primorsky et de lignées d'abeilles locales italiennes (Les reines Chapleau Inc.) sélectionnées pour leur comportement hygiénique, leur capacité à l'hivernage et leur faible agressivité. Les colonies ont été élevées dans des ruches de type Langstroth de 9 cadres munies d'un plateau anti-varroa grillagé (Dadant & Sons Inc. #M01650). Ces colonies n'avaient pas reçu de traitement anti-varroa à l'automne 2005 et furent hivernées dans une salle

dont l'environnement était contrôlé (3-5°C et 30-40% HR). Le 5 mai 2006, les colonies ont été distribuées aléatoirement dans les groupes expérimentaux tel que décrit au Tableau 5-1 et placées en nombre égal dans deux ruchers expérimentaux à proximité du centre de recherche (46°39'4.77"N- 71°55'39.47"O) où elles ont reçu la même régie apicole (sauf pour les traitements anti-varroa) pendant une saison apicole 2006/2007. Les grandes lignes de la régie pour cette région du Québec sont : une récolte de miel de mai à septembre 2006; la réduction à une hausse à couvain et le nourrissage d'automne avec un sirop de sucrose 2 :1 p/v (20 litres par colonie) en septembre 2006; un hivernage dans une salle à environnement contrôlé (3-5°C et 30-40% HR) de novembre 2006 à avril 2007; une évaluation printanière en avril et mai 2007.

### **Les traitements anti-varroa et seuils d'intervention**

Les seuils d'intervention périodiques utilisés furent établis lors de travaux antérieurs pour la province de Québec soit : 2 varroas par jour en début mai, 9 varroas par jour à la fin juillet et 11 varroas par jour à la mi-septembre (Giovenazzo and Dubreuil 2011). Lorsque les niveaux d'infestation par *V. destructor* dépassent le seuil d'intervention périodique (moyenne pour les colonies du groupe), toutes les colonies appartenant à la stratégie de lutte intégrée étaient traitées selon le protocole rapporté au Tableau 1. Les traitements suivants ont été appliqués dans les colonies des différentes stratégies de lutte intégrée :

- *Acide oxalique par la méthode d'égouttement* : Une solution de 40 g d'acide oxalique par litre d'une solution à base de saccharose 1 :1 p/v est coulée librement entre chaque cadre avec abeilles (5 mL/cadre) dans chaque hausse à couvain.
- *Acide formique par la méthode Mitewipe* : Deux tampons Dri-Loc™ (10 x 15 cm) sont imbibés de 35 mL d'acide formique à 65% v/v et déposés sur les cadres de la deuxième chambre à couvain (supérieure).
- *Acide formique avec le produit commercial MiteAwayII™ (Nod Apiaries Ltd.)* : Un tampon est placé sur le dessus de la chambre à couvain pendant 21 jours. Selon les directives du fabricant nous avons surélevé le toit de la ruche de 4 cm en utilisant un cadre de bois et le tampon MiteAwayII™ est placé sur deux bâtons de 1.3 cm afin d'assurer l'évaporation optimale de l'acide dans la colonie.
- *Thymol avec le produit commercial Apiguard™ (Vita Europe Ltd.)* : Une masse de 50 g de la gélose d'Apiguard™ est étalée sur un morceau de papier ciré (10 x 20 cm) et placée au-dessus des cadres des ruches en traitement. Selon les recommandations sur l'étiquette, l'espace libre entre le gel et le couvercle de la ruche est d'au moins 5 mm afin d'assurer l'évaporation optimal du thymol.

## Les variables dépendantes

- *Populations de Varroa destructor* : La chute naturelle de varroas est comptée sur un carton collant couvrant toute la surface du plateau inférieure de la colonie (sous le grillage). Les cartons ont été mis en place pendant 5 à 7 jours consécutifs aux dates suivantes; 24 avril 2006 au 1 mai 2006, du 24 mai au 30 mai, du 26 juin au 4 juillet, du 23 juillet au 28 juillet, du 25 août au 1 septembre, du 24 octobre au 1 novembre, du 12 décembre au 20 décembre, du 11 mai 2007 au 18 mai 2007. La date à la fin du comptage est utilisée dans le manuscrit pour indiquer la période du dépistage.
- *Force de la colonie avant et après l'hivernage* : Nombre de cadres occupés par des abeilles et du couvain. La valeur varie entre 0 et 10 et elle est calculée selon la formule suivante : (nombre de cadres occupés par des abeilles et du couvain vu du haut + nombre de cadres occupés par des abeilles et du couvain vu du bas) / 2.
- *Population d'abeilles immatures durant l'été* : Surface occupée par le couvain (œufs + larves non operculées et operculées) évaluée en mesurant la longueur et la largeur de chaque surface de cadre avec des œufs et larves. La surface rectangulaire est multipliée par 0.8 pour compenser la forme elliptique de la ponte de la reine. Les mesures sont additionnées pour chaque colonie et un facteur de conversion de 25 cellules d'ouvrières par 6.25 cm<sup>2</sup> est utilisé pour obtenir le nombre total d'abeilles immatures dans la colonie.

- *Production de miel* : Les ruches sont pesées individuellement pendant la saison à chaque fois qu'une hausse à miel est ajoutée ou enlevée. La pesée est réalisée en plaçant la ruche sur une balance à plateau (capacité 500 kg, avec une sensibilité minimum de 0.1 kg). La production de miel est divisée en deux périodes : première miellée (mai à juillet) et la deuxième miellée (juillet à septembre).
- *Nosema sp. et Acarapis woodi* : Des abeilles butineuses ont été échantillonnées dans chacun des groupes expérimentaux (20 abeilles/colonies en septembre 2006 et en avril 2007) et fixés dans l'éthanol 70% v/v. Au laboratoire, les abdomens (tubes digestifs) et les trachées aériennes (spiracles) de 60 abeilles de chaque échantillon ont été vérifiés pour la présence de ces pathogènes en utilisant la méthodologie décrite par l'Association canadienne des apiculteurs professionnels (Pernal et al. 2007).
- *Résidus d'acide formique et d'acide oxalique dans le miel* : Deux échantillons de 50 g de miel ont été prélevés à la fin de la première miellée (20 juillet 2006) et à la fin de la deuxième miellée (9 septembre 2006) provenant des colonies des deux stratégies de lutte intégrée. Ces échantillons ont été conservés dans des récipients hermétiques au congélateur (-20°C) jusqu'au moment de leur analyse (février 2007). L'acide formique et l'acide oxalique ont été dosés après avoir réalisé une extraction avec de l'acide sulfurique 0,2 N. Ces acides organiques ont été séparés et quantifiés à l'aide d'un système de chromatographie liquide à haute performance (HPLC) Waters (Waters

corporation, Massachusetts, USA), équipé d'une colonne de séparation de marque AMINEX HPX-87H (7,8 mm DI X 30 cm) (Bio-Rad laboratories California USA). La phase mobile était constituée d'acide sulfurique 0,0025 N avec un débit de 0,4 mL/min et une température de 40°C. La détection des acides organiques a été faite avec un détecteur à indice de réfraction (Waters 410).

## **Analyses statistiques**

Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel SAS (version 9.2). Les variables ont été soumises à une analyse de variance avec la procédure GLM (Generalised Linear Model) en isolant la variable associée à l'emplacement des colonies au cours l'été 2006. Les colonies ayant eu un changement de reine au cours de la saison demeuraient dans le protocole si la productivité de la colonie ne semblait pas avoir été affectée, sinon la colonie était éliminée du protocole et seules les données recueillies avant l'évènement étaient conservées.

## Résultats

### Populations de *Varroa destructor*

Les chutes naturelles journalières moyennes de varroas le 30 mai, le 28 juillet et le 1 septembre (Figure 5-1) ont été supérieures aux seuils associés à ces périodes (2, 9, 11 varroas par jour respectivement) dans les colonies des groupes SLI-1 et SLI-2. Tous les traitements ont donc été réalisés selon le protocole (Tableau 5-1). Avant l'application du premier traitement fin mai, la chute naturelle journalière moyenne de varroas était similaire dans les colonies des groupes SLI-1 et SLI-2 ( $8,1 \pm 2,9$  vs  $5,7 \pm 1,4$ , moyenne  $\pm$  erreur standard;  $P=0.4683$ ). Entre fin mai et fin juillet et suite aux premiers traitements anti varroas, la chute naturelle journalière moyenne de varroas a augmenté à une valeur similaire dans SLI-1 et SLI-2 ( $17.8 \pm 2.9$  vs  $21.3 \pm 6.6$ ,  $P=0.5722$ ). À la suite des traitements de la fin juillet et avant les traitements de septembre, la chute naturelle journalière moyenne des varroas était significativement inférieure dans SLI-1 ( $11.8 \pm 1.6$  vs  $25.6 \pm 6.1$  pour SLI-2). À la suite des traitements de septembre et avant le dernier traitement de novembre la chute naturelle journalière moyenne des varroas a diminué à une valeur similaire dans SLI-1 et SLI-2 ( $1.6 \pm 0.3$  vs  $2.6 \pm 0.7$ ;  $P=0.1594$ ). Le dernier traitement d'AO a réduit la chute naturelle journalière de varroas sous le seuil d'intervention de 2 varroas et les valeurs moyennes sont significativement différentes entre SLI-1 et SLI-2 ( $1.4 \pm 0.2$  SLI-1 vs  $0.5 \pm 0.1$  SLI-2;  $P=0.0039$ ).

## **Colonies d'abeilles mellifères et production de miel**

Les 48 colonies expérimentales, sélectionnées le 25 avril 2006, étaient de force similaire dans les deux groupes expérimentaux (tableau 5-2) (N=24 colonies / groupe) ( $6.6 \pm 0.4$  cadres de couvain avec abeilles pour SLI-1 vs  $7.3 \pm 0.4$  pour SLI-2; moyenne  $\pm$  erreur standard;  $P=0.768$ ). Le 31 mai 2006, avant début des premiers traitements anti varroas, il y avait 45 colonies fonctionnelles avec une reine pondreuse et du couvain (N=23 pour SL-1 et N=22 pour SL-2) de force équivalente dans les deux groupes SLI-1 et SLI-2 ( $32\ 016 \pm 942$  cellules de couvain pour vs  $31\ 935 \pm 1\ 940$  pour SL-2;  $P=0.9662$ ; voir tableau 5-2). À la mi-juillet 2006, 4 colonies SLI-1 et 7 colonies SLI-2 avaient changé naturellement de reine. Le 25 août 2006, lors du retrait des hausses à miels, il y avait 23 colonies fonctionnelles SLI-1 et 21 colonies fonctionnelles SLI-2 de force moyenne équivalente ( $19\ 936 \pm 2\ 393$  cellules de couvain pour SLI-1 vs  $20\ 957 \pm 2\ 734$  pour SLI-2;  $P=0.9868$ ). Après le premier traitement anti varroa d'automne (1<sup>er</sup> novembre 2006) il y avait 19 colonies fonctionnelles SLI-1 et 15 SLI-2 de force moyenne significativement différentes ( $8.2 \pm 0.2$  cadres de couvain avec abeilles pour SLI-1 vs  $5.0 \pm 0.6$  pour SLI-2;  $P<0.0001$ ). La mortalité des colonies entre la fin août et le début novembre est associée à la mortalité de la reine. Après l'hivernage (le 23 avril 2007) il restait 13 colonies SLI-1 et 9 SLI-2 de force moyenne significativement différentes ( $7.1 \pm 0.4$  pour le groupe SLI-1 vs  $3,5 \pm 0.5$  dans SLI-2;  $P<0.0001$ ). Les colonies n'ayant pas survécu l'hiver renfermaient des réserves de nourriture mais plus de reines.



La production de miel de mai à septembre 2006 a été similaire dans les colonies des deux groupes SLI-1 et SLI-2 (moyenne de  $50.6 \pm 5.2$  kg de miel pour SLI-1 vs  $49,5 \pm 8.0$  pour SLI-2;  $P=0.8972$ ).

### **Résidus d'acide formique et d'acide oxalique dans le miel**

Il y a présence de résidus d'AF dans la miel des colonies SLI-1 dans les deux échantillons de la première miellée (330ppm et 317 ppm) et les deux échantillons de la deuxième miellée de (127 et 113 ppm) (voir tableau 5-3). L'AF n'a pas été détectée dans le miel des colonies SLI-2. Les niveaux d'AO sont demeurés entre 21 et 22 ppm dans tous les échantillons provenant des colonies des deux groupes SLI-1 et SLI-2.

### **Présence d'Acarapis woodi et de Nosema sp.**

Les analyses ne nous ont pas permis de déceler la présence d'acariose et ni la présence de nosérose.

## **Discussion**

Notre travail visait à vérifier l'utilisation du principe de lutte intégrée contre l'ectoparasite *V. destructor* dans les ruches du Québec avec des méthodes de contrôle

chimique. Nous avons appliqué différents acaricides organiques (thymol, acide oxalique et acide formique) en combinaison avec des seuils d'intervention déterminés pour le Québec (Giovenazzo et Dubreuil 2011). Les traitements ont été appliqués durant des périodes afin d'interférer le moins possible avec le développement des colonies, la production apicole et le risque de contamination: en mai avant la première miellée, à la fin juillet entre deux miellées, en septembre après la miellée et durant le nourrissage d'automne et en novembre avant l'hivernage. Les résultats démontrent que les deux stratégies de lutte intégrées à l'essai permettent de réduire les niveaux de varroase efficacement et de maintenir les chutes naturelles de varroas avant et après l'hivernage sous le seuil d'intervention de 2 varroas par jour. La varroase est toujours une infestation majeure de l'abeille mellifère à travers le monde (Le Conte et al. 2010) et nos résultats démontrent qu'un contrôle efficace de la varroase est possible en appliquant une stratégie fondée sur une combinaison de traitements chimiques organiques associée à l'utilisation de seuils d'intervention.

Les résultats montrent que les premiers traitements anti varroas de la fin mai 2006 (MiteAwayII™ dans SLI-1 et acide oxalique par égouttement dans SLI-2) ne permettent pas de réduire efficacement la chute naturelle journalière de varroas. Elle augmente de mai jusqu'à la fin juillet 2006. Ce résultat confirme nos travaux précédents (Giovenazzo et Dubreuil 2011) et suggèrent que la croissance de la population de varroas en début de saison est difficile à contrôler. La dynamique du développement des varroas est étroitement reliée au développement de la population d'abeilles dans une colonie (Fries et al. 1994; Martin 1998) et les femelles varroas

envahissent rapidement les cellules de couvain qui sont de plus en plus nombreuses au début de l'été. Les traitements réalisés durant cette période ne réussissent pas à atteindre ces varroas enfermés avec dans le couvain operculé. C'est pour cette raison que nous avons vérifié l'efficacité d'un traitement de longue durée avec l'AF (MiteAwayII™, 21 jours consécutifs) et une application double d'acide oxalique. Malgré l'étendu de ces traitements, ils n'ont pas démontré une efficacité permettant de faire fléchir la croissance des populations de varroas.

Un traitement d'été (fin juillet), entre deux miellées avec l'acide formique administré avec des tampons Mitewipe (SLI-1) a permis de réduire la chute naturelle de varroas presque sous le seuil de 11 varroas/jour fixé en septembre. Par contre, ce traitement s'accompagne d'une incorporation de résidus d'AF (environ 100 ppm) dans le miel de la deuxième récolte. Cette valeur est supérieure à la limite permise par l'Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire de Santé Canada qui est fixé à 1 ppm. Une application double d'AO (SLI-2) n'empêche pas plus la croissance de la chute naturelle de juillet à septembre.

Les traitements anti-varroa appliqués en automne dans les deux stratégies de lutte intégrée testés réduisent l'infestation et les colonies sortent de l'hivernage avec des taux de chute de varroas sous le seuil d'intervention fixé pour mai de 2 par jour. Ce niveau d'infestation ne nécessite donc pas de traitements printaniers. Par contre les colonies SLI-2 sortent de l'hivernage avec une force deux fois inférieure à celle mesurée dans les colonies SLI-1. Cet effet négatif semble auraient pu être causé par le haut taux de parasitisme mesuré en septembre ( $25.6 \pm 27.3$  varroas/jour) ou par une

réaction de toxicité au traitement à l'Apiguard™. Les colonies SLI-2 traitées avec l'Apiguard™ avaient en moyenne trois cadres de couvain de moins comparativement aux colonies SLI-1 traitées avec le MiteAwayII™ en novembre 2006 (après le traitement).

Notre comparaison de deux stratégies de lutte intégrée nous permet de conclure que l'objectif d'une stratégie de lutte contre la varroase doit viser une réussite du traitement d'automne. Un traitement d'automne efficace doit réduire les populations de varroas sous le seuil d'intervention de 2 varroas par jour dans les colonies avant et après l'hivernage afin d'éviter un traitement de printemps qui est peu efficace. Un traitement d'AF au printemps et en été mène à l'incorporation de résidus de cet acide dans le miel récolté.

Ce travail propose deux stratégies de lutte annuelle contre la varroase. Compte tenu que les niveaux de varroase et que l'efficacité des traitements peuvent varier annuellement nous conseillons fortement l'utilisation de ces stratégies avec prudence. Nous suggérons qu'elles doivent être utilisées avec suivi des populations de varroas pendant deux ou trois années supplémentaires afin de s'assurer de leur efficacité à long terme.

## Références

- Boucher C. 2002. Résistance au fluvalinate : les apiculteurs sont invités à être vigilants. Réseau d'alerte et d'avertissement Zoosaniatire RAIZO. No 27.
- Branco, M. R., N. A. C. Kidd, et R. S. Picard. (2006). A comparative evaluation of sampling methods for *Varroa destructor* (Acari : Varroidae) population estimation. *Apidologie* 37(4): 452-461.
- Brodsgaard, C. J. and H. F. Brodsgaard (1998). Monitoring method as a basis for need-based control of varroa mites (*Varroa jacobsoni*) infesting honey bee (*Apis mellifera*) colonies. *Alternatives to laboratory animals*. 26 (4,) pp. 397-419
- Calderone, N. W. and R. M. Turcotte (1998). Development of sampling methods for estimating levels of *Varroa jacobsoni* (Acari : Varroidae) infestation in colonies of *Apis mellifera* (Hymenoptera : Apidae). *Journal of Economic Entomology* 91(4): 851-863.
- Calderone, N. W. and S. Lin (2003). Rapid determination of the numbers of *Varroa destructor*, a parasitic mite of the honey bee, *Apis mellifera*, on sticky-board collection devices. *Apidologie* 34(1): 11-17.
- Colin, M. E., R. Vandame, P. Jourdan et S. di Pasquales (1997). Fluvalinate resistance of *Varroa jacobsoni* oudemans (Acari : Varroidae) in Mediterranean apiaries of France. *Apidologie* 28(6): 375-384.

- CRAAQ (2009). Gestion optimale du rucher. Centre de référence en agriculture et agroalimentaire du Québec. 75p.
- Currie, R. W. and P. Gatién (2006). Timing acaricide treatments to prevent *Varroa destructor* (Acari : Varroidae) from causing economic damage to honey bee colonies. *Canadian Entomologist* 138(2): 238-252.
- DeGrandi-Hoffman, G. and R. Curry (2004). A mathematical model of varroa mite (*Varroa destructor* Anderson and Trueman) and honeybee (*Apis mellifera* L.) population dynamics. *International Journal of Acarology* 30(3): 259-274.
- Delaplane, K. S. and W. M. Hood (1999). Economic threshold for *Varroa jacobsoni* Oud. in the southeastern USA. *Apidologie* 30(5): 383-395.
- Delaplane, K. S., J. A. Berry, J. A. Skinner, J. P. Parkman, and W. M. Hood (2005). Integrated pest management against *Varroa destructor* reduces colony mite levels and delays treatment threshold. *Journal of Apicultural Research* 44(4): 157-162.
- Eischen, F. (1995). Varroa Resistance to Fluvalinate. *American Bee Journal* 135(12): 815-816.
- Elzen, P. J. (2003). Beekeeping issues - Varroa control: Thresholds for treatment. *American Bee Journal* 143(6): 452-452.
- Elzen, P. J., F. A. Eischen, J. R. Baxter, G. W. Elzen and W. T. Wilson (1999). Detection of resistance in US *Varroa jacobsoni* Oud. (Mesostigmata : Varroidae) to the acaricide fluvalinate. *Apidologie* 30(1): 13-17.

- Faucon, J. P., P. Drajnudel, et C. Fléché (1995). Decrease in Apistan efficacy used against *Varroa* disease in the honeybee (*Apis mellifera*). *Apidologie* 26(4): 291-296.
- Floris, I. (1997). A sequential sampling technique for female adult mites of *Varroa jacobsoni* Oudemans in the sealed worker brood of *Apis mellifera ligustica* Spin. *Apidologie* 28(2): 63-70.
- Floris, I., P. Cabras, V. L. Garau, E. V. Minelli, A. Satta, J. Troullier . 2001). Persistence and effectiveness of pyrethroids in plastic strips against *Varroa jacobsoni* (Acari : Varroidae) and mite resistance in a mediterranean area. *Journal of Economic Entomology* 94(4): 806-810.
- Fries, I., A. Aarhus, H. Hansen, and S. Korpela. (1991). Comparison of diagnostic methods for detection of low infestation levels of *Varroa jacobsoni* in honeybee (*Apis mellifera*) colonies. *Experimental & Applied Acarology* 10(3-4): 279-287.
- Fries, I., S. Camazine and J. Sneyd (1994). Population dynamics of *Varroa jacobsoni*: A model and a review. *Bee World* 75(1): 5-28.
- Giovenazzo and Dubreuil 2011. Evaluation of spring organic treatments against *Varroa destructor* in honey bee *Apis mellifera* colonies in eastern Canada. *Experimental and Applied Acarology*. 55(1):65-76.
- Gracia-Salinas, M. J., M. Ferrer-Dufol, E. Latorre-Castro, C. Monero Manera, J. A. Castillo-Hernandez, J. Lucientes-Curd and M. A. Peribanez-Lopez. (2006). Detection of fluvalinate resistance in *Varroa destructor* in Spanish apiaries. *Journal of Apicultural Research* 45(3): 101-105.

- Harris, D. (2007). IPM for Varroa series. *American Bee Journal* 147(2): 97-97.
- Hendrickson, R. (2009). The Field Alcohol Wash Provides a Consistent Sampling Method for Determining Colony Varroa Mite Loads. *American Bee Journal* 149(1): 55-56.
- Hillesheim, E., W. Ritter and D. Bassans (1996). First data on resistance mechanisms of *Varroa jacobsoni* (OUD) against tau-fluvalinate. *Experimental & Applied Acarology* 20(5): 283-296.
- Imdorf, A., J. D. Charriere, C. Maquelin, V. Kilchenmann, and B. Bachofen. 1996. Alternative varroa control. *American Bee Journal* 136: 189-193.
- Kogan M., 1998. Integrated Pest Management. Historical Perspectives and Contemporary Developments. *Annual Review of Entomology*, 43:243-270.
- Le Conte, Y., M. Ellis and W. Ritter (2010). Varroa mites and honey bee health: can Varroa explain part of the colony losses? *Apidologie* 41(3): 353-363.
- Lipinski, Z. and J. Szubstarski (2007). Resistance of *Varroa destructor* to most commonly used synthetic acaricides. *Polish Journal of Veterinary Sciences* 10(4): 289-294.
- Macedo, P. A., M. D. Ellis and B. D. Siegfried (2002). Detection and quantification of fluvalinate resistance in varroa mites in Nebraska. *American Bee Journal* 142(7): 523-526.
- Martin, S. (1998). A population model for the ectoparasitic mite *Varroa jacobsoni* in honey bee (*Apis mellifera*) colonies. *Ecological Modelling* 109(3): 267-281.
- Martin, S. J. (2004). Acaricide (pyrethroid) resistance in *Varroa destructor*. *Bee World* 85(4): 67-69.



- Pernal, Melathopoulos and van Haga 2007. Biology, Diagnosis and Control of *Nosema apis* and *Nosema ceranae*. Canadian association of professional apiculturist pamphlet. <http://www.capabees.com>.
- Rademacher, E. and M. Harz (2006). Oxalic acid for the control of varroosis in honey bee colonies - a review. *Apidologie* 37(1): 98-120.
- Rice, N. D., M. L. Winston, and H. A. Higo (2004). Integrated Pest Management for the parasitic mite *Varroa destructor* (Anderson and Trueman) in colonies of honey bees (*Apis mellifera*). *American Bee Journal* 144(10): 791-795.
- Rosenkranz, P., P. Aumeier and B. Ziegelmann (2010). Biology and control of *Varroa destructor*. *Journal of Invertebrate Pathology* 103: S96-S119.
- Sammataro, D., N. Ostiguy and M. Frazier (2002). How to use an IPM sticky board to monitor varroa levels in honey bee colonies. *American Bee Journal* 142(5): 363-366.
- Sammataro, D., U. Gerson and G. Needham (2000). Parasitic mites of honey bees: Life history, implications, and impact. *Annual Review of Entomology* 45: 519-548.
- Smith R. F., 1978. History and complexity of integrated pest management. pp. 41- 53. In: *Pest control strategies*, E. H. Smith and D. Pimentel (eds.) Academic Press, N. Y. 334 pp
- Strange, J. P. and W. S. Sheppard (2001). Optimum timing of miticide applications for control of *Varroa destructor* (Acari : Varroidae) in *Apis mellifera* (Hymenoptera : Apidae) in Washington State, USA. *Journal of Economic Entomology* 94(6): 1324-1331.

Thompson, H. M., M. A. Brown, R. F. Ball and M.H. Bew (2002). First report of *Varroa destructor* resistance to pyrethroids in the UK. *Apidologie* 33(4): 357-366.

Wilkinson, D. and G. C. Smith (2002). Modeling the efficiency of sampling and trapping *Varroa destructor* in the drone brood of honey bees (*Apis mellifera*). *American Bee Journal* 142(3): 209-212.

Tableau. 5-1 Description des traitements anti varroas dans les deux stratégies de lutte intégrée (SLI 1 et SLI 2) à l'essai ainsi que les seuils d'intervention utilisés. Les produits acaricides utilisés dans la SLI 1 sont l'acide formique (AF) et l'acide oxalique (AO) et ceux pour la SLI 2 sont l'AO et le thymol. Les traitements pour chaque période ont été réalisés sur les colonies avec les seuils correspondant aux chutes naturelles de varroas par jour suivants : 2 varroas au début mai, 9 varroas à la fin juillet et 11 varroas à la mi-septembre.

Groupe	Période	Traitements
SLI 1	Fin mai 2006	AF : MiteAwayII™ pendant 21 jours (1 <sup>er</sup> juin au 21 juin).
	Fin juillet	AF : Mitewipe, 2 tampons de 35 mL AF 65% v/v placés sur le dessus des cadres de la deuxième hausse à couvain; 3 fois à 3 jours d'intervalle (4 aout, 7 aout et 10 aout)
	Mi-septembre	AF : MiteAwayII™ pendant 21 jours. (du 5 septembre au 26 septembre)
	Début novembre	AO : égouttement 40g AO/litre de solution sucrose 1 :1 p/v, 5 mL entre chaque cadre avec abeilles, 1 fois (4 novembre)
SLI 2	Début mai	AO : égouttement 40g AO/litre de solution sucrose 1 :1 p/v, 5 mL entre chaque cadre avec abeilles, 2 fois à 7 jours d'intervalle (1 <sup>er</sup> juin et 7 juin)
	Fin juillet	AO : égouttement 40g AO/litre de solution sucrose 1 :1 p/v, 5 mL entre chaque cadre avec abeilles, 2 fois à 7 jours d'intervalle (4 aout et 11 aout)
	Mi-septembre	Thymol, Apiguard™ (du 5 septembre au 26 septembre)
	Début novembre	AO : égouttement 40g AO/litre de solution sucrose 1 :1 p/v, 5 mL entre chaque cadre avec abeilles, 1 fois (4 novembre)

Tableau. 5-2 Impact des deux stratégies de lutte intégrée SLI-1 et SLI-2 sur les paramètres zootechniques des colonies d'abeilles. La description des deux stratégies de lutte intégrée est décrite dans le Tableau 5-2.

<b>Variabes</b>	<b>Stratégie de lutte intégrée 1</b>	<b>Stratégie de lutte intégrée 2</b>
Nombre de colonies actives		
25 avril 2006	24 (100%)	24 (100%)
31 mai 2006	23 (96%)	22 (92%)
25 aout 2006	23 (96%), 4 reines changées juillet	21 (88%), 7 reines changées juillet
1 <sup>er</sup> novembre 2006	19 (79%)	15 (63%)
23 avril 2007	13 (54%)	9 (38%)
Force des ruches ( $\mu \pm es$ ; mortes exclues)		
25 avril 2006 (cadres/abeilles)	6,6 $\pm$ 0,4 <sup>a</sup>	7,3 $\pm$ 0,4 <sup>a</sup>
31 mai (cellules avec couvain)	32016 $\pm$ 941 <sup>a</sup>	31935 $\pm$ 1940 <sup>a</sup>
25 aout (cellules avec couvain)	19936 $\pm$ 2393 <sup>a</sup>	20957 $\pm$ 2734 <sup>a</sup>
1 novembre (cadres/abeilles)	8,2 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>	5,0 $\pm$ 0,6 <sup>b</sup>
23 avril 2007(cadres/abeilles)	7,1 $\pm$ 0,4 <sup>a</sup>	3,5 $\pm$ 0,5 <sup>b</sup>
Production de miel (kg, $\mu \pm es$ )		
mai à septembre 2006	50,6 $\pm$ 5,2 <sup>a</sup>	49,5 $\pm$ 8,0 <sup>a</sup>

Les moyennes d'une même ligne avec des lettres différentes sont significativement différentes (test LSD : P<0.05)

Tableau. 5-3 Résidus d'acide formique et d'acide oxalique retrouvés dans le miel récolté des colonies dans les deux stratégies de lutte intégrées SLI-1 et SLI-2 au cours de la saison 2006. La description des deux stratégies de lutte intégrée est décrite dans le Tableau 5-2.

	Stratégie de lutte intégrée 1	Stratégie de lutte intégrée 2
Résidus dans le miel 2006 (ppm) (2 échantillons)		
Acide oxalique		
– 20 juillet	21,5 et 21,4	21,0 et 21,7
– 9 septembre	21,2 et 21,5	21,2 et 21,6
Acide formique		
– 20 juillet	330,0 et 316,9	Sous le seuil de détection
– 9 septembre	113,0 et 127,0	Sous le seuil de détection

Le seuil de détection pour l'acide oxalique et l'acide formique est de 1 ppm. Chaque échantillon de miel utilisé pour les analyses de résidus provient du mélange de tout le miel extrait pour toutes les colonies de chaque

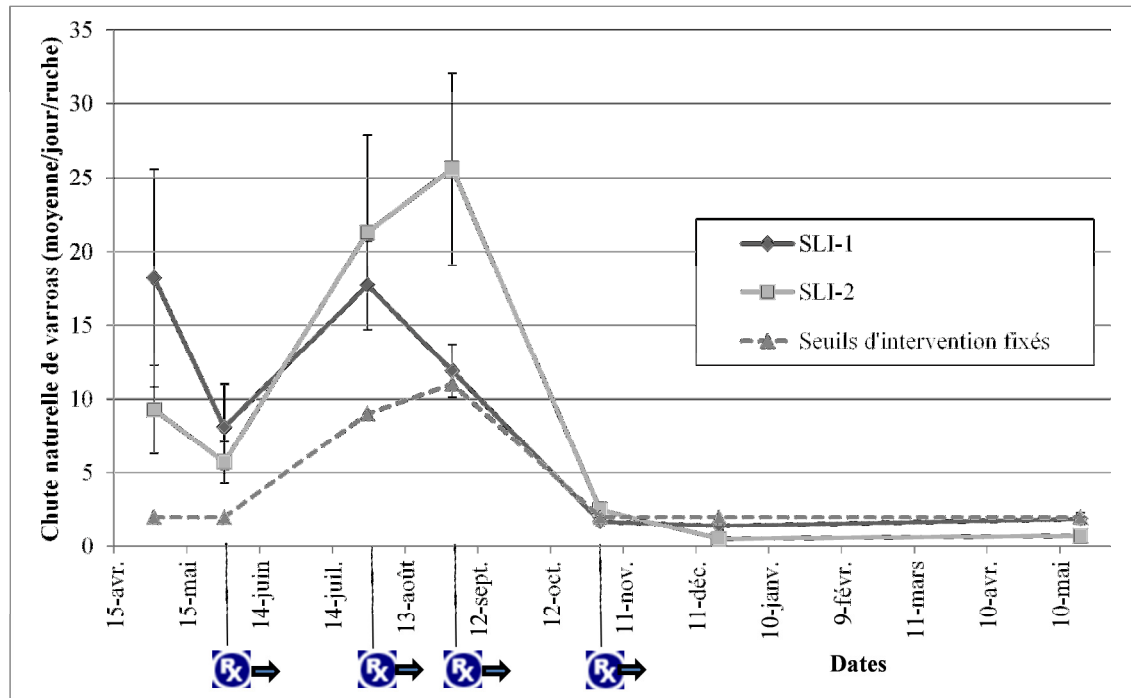


Figure. 5-1 Évolution de la chute de varroas naturelle journalière pour les deux stratégies de lutte intégrée SLI-1 et SLI-2 (voir Tableau 5-1 pour une description complète des traitements pour chaque stratégie de lutte intégrée) pendant un cycle d'apiculture de mai 2006 à mai 2007. Les traitements sont identifiés avec le signe  $R_x$  et ils ont débuté le 1<sup>er</sup> juin, 4 août, 5 septembre et 4 novembre 2006). Les chutes naturelles de varroas du 1 septembre 2006, 20 décembre 2006 et 17 mai 2007 sont significativement différentes ( $P < 0.05$ ).

## **Chapitre 6 Discussion et conclusions générales**

Ces travaux de recherche ont permis de réaliser les objectifs fixés au départ qui étaient de : 1) Comparer différentes méthodes de dépistage du parasite *Varroa destructor* dans une colonie d'abeilles mellifères; 2) Décrire la dynamique de la relation entre le parasite *V. destructor* et son hôte *Apis mellifera* au cours d'une saison apicole et proposer des seuils d'intervention; 3) Faire une évaluation de l'efficacité de différents acaricides contre *V. destructor* dans les ruchers du Québec à différentes périodes de l'année. Les produits acaricides testés sont deux acides organiques, l'acide oxalique et l'acide formique ainsi qu'une huile essentielle, le thymol; 4) Vérifier l'efficacité de différentes stratégies de lutte intégrée contre la varroase en appliquant les acaricides organiques et les seuils d'intervention déterminés dans le cadre de cette recherche.

*V. destructor* est actuellement considérée comme la plus importante peste apicole dans plusieurs pays (Dietemann et al. 2012). Récemment, les éditeurs du Journal of Apicultural Research ont publié un numéro spécial qui décrit la problématique des pertes d'abeilles dans tous les continents (volume 49 : #1). Dans cette revue, Neumann et Carreck (2012) concluent que les plus importantes pertes de colonies sont mesurées dans les pays de l'hémisphère nord et qu'elles coïncident avec la présence de *V. destructor*. On observe depuis 2007 des pertes moyennes de près de 30% aux USA et Canada, entre 1,8% à 53% en Europe, entre 10% 85% en Europe de l'est et 25% au Japon. Ces auteurs concluent que les plus faibles pertes de colonies sont situées dans les pays de l'hémisphère sud où *V. destructor* est absent (en Australie) et où il y a présence d'abeilles plus agressives, les abeilles africaines, *Apis*



*scutellata*, et les hybrides *A. mellifera* africanisées qui survivent sans traitement contre *V. destructor*. Ces observations informent les apiculteurs contemporains sur l'impact de la varroase dans le monde et ils doivent réaliser que l'éradication de la varroase n'est pas possible et qu'il faut investir beaucoup d'efforts afin d'éviter que les niveaux d'infestation atteignent des niveaux dommageables pour les colonies d'abeilles. Pour y arriver, les apiculteurs doivent suivre l'évolution saisonnière des populations de parasites et utiliser des moyens de contrôle efficaces ayant peu ou pas d'incidence sur les colonies et les produits de la ruche.

Les résultats de ce travail offrent aux apiculteurs du Québec les connaissances nécessaires à l'élaboration d'une stratégie de lutte intégrée contre la *V. destructor*. Elles sont rattachées aux trois facteurs fondamentaux d'une lutte intégrée : 1) l'évaluation de niveaux d'infestation; 2) l'utilisation de seuils d'intervention et 3) l'utilisation combinées de différents acaricides.

## **Évaluation des niveaux d'infestation**

Ce travail a vérifié l'utilisation de différentes méthodes de dépistage et d'évaluation des taux de parasitisme par *V. destructor* dans les colonies d'abeilles mellifères du Québec. Les résultats montrent que l'estimateur le plus précis du taux de parasitisme dans une colonie est la chute naturelle de varroas mesurée pendant 7 jours consécutifs. Ce résultat est en accord avec les travaux de recherche réalisés au

Canada (Devlin 2001), aux USA (Calderone 1999; Delaplane and Hood 1999; Ostiguy and Sammataro 2000; Sammataro et al. 2002; Calderone and Lin 2003; Harbo and Harris 2004) et en Europe (Imdrof et al. 1996; Boigenzahn and Willam 1999; Branco et al. 2006). Sammataro et al. (2002). Les chercheurs Delaplane and Hood (1999) ajoutent que la chute naturelle est l'estimateur ayant le plus haut indice de corrélation et que cet indice augmente lorsque le couvain est rare ou absent (en automne et hiver). La méthode d'estimation utilisant chute naturelle des varroas nécessite une modification de la base de la ruche (plateau grillagé) afin d'y introduire facilement un carton collant pouvant recueillir et piéger les varroas qui tombent au fond de la colonie. Il y a sur le marché une variété de plateaux grillagés disponibles pour les apiculteurs. Nos travaux utilisent un plateau grillagé commercial (<Plastic Varroa Stainless Steel Screen Bottom Board, Dadant & Sons Inc. #M01650) avec un carton collant couvrant toute la surface du fond de la ruche. Les varroas sur le carton sont comptés une fois par semaine et on calcule le nombre de varroas tombés par jour. Pendant ce dépistage aucune abeille n'est tuée et la ruche n'est pas ouverte ou dérangée. Les niveaux de la corrélation entre chute naturelle journalière et population totale de varroas dans la colonie mesurés en mai ( $r=0.50$   $P<0.01$ ), juillet ( $r=0.68$   $P<0.001$ ) et septembre ( $r=0.87$   $P<0.001$ ), permettent d'estimer les populations de varroas pendant la saison et de calculer des seuils d'intervention permettant aux apiculteurs de constater l'approche d'un risque pour les colonies et de réaliser un traitement.

## **L'utilisation de seuils d'intervention**

L'utilisation d'un acaricide doit être synchronisée avec la gestion saisonnière du rucher afin d'optimiser son efficacité et protéger l'intégrité des produits de la ruche. De plus, les apiculteurs ne doivent pas retarder un traitement et risquer de dépasser la limite de tolérance d'une colonie présentant une infestation croissante de la varroase. Les travaux de Martin (1998) décrivent la croissance des populations de varroas dans les colonies en Grande-Bretagne et montrent l'importance de réaliser un traitement avant l'atteinte d'un niveau critique (<Economic Threshold>). Par exemple, lorsque la population de varroas dans une colonie dépasse 300 en juin ou 2000 en septembre la réalisation du traitement anti varroa est impératif afin d'assurer la survie de la colonie l'année suivante. D'autres travaux réalisés en Suisse (Imdorf et al. 1996), aux USA (Hood and Delaplane 1997, 2001) et au Canada (Currie and Gatién 2006, Kozac et al. 2012) proposent à l'industrie apicole des seuils critiques d'intervention. Ces seuils sont présentés dans le Tableau 6-1 et correspondent à des valeurs de chute naturelle journalière. Ils représentent des niveaux d'infestation au-delà desquels l'effondrement d'une colonie est attendu à court terme et qu'aucun traitement acaricide ne garantisse la survie. Ces données montrent des variations importantes entre les différentes sources et la transposition de ces seuils au contexte de l'apiculture au Québec est donc très difficile.

Tableau. 6-1 Seuils critiques (<Economic Thresholds>) pour *Varroa destructor* dans le Canada, les États-Unis et l'Europe.

	Chute naturelle de varroas par jour					
	Mai	Juin	Juil.	Aout	Sept.	Oct.
<b>Canada</b>						
Ontario (Kozac et al. 2012)	9			12		
Saskatchewan (Currie and Gatien 2006)	1	1			18	
<b>États-Unis</b>						
Caroline du Nord (Hood and Delaplane 1997)					117	
<b>Europe</b>						
Grande-Bretagne (Martin 1998)	10	10		10	20	
Suisse (Imdorf et al. 1996; Charrière et Imdrof 2003)	3		5			1.5

Ces auteurs soulignent l'influence du climat et l'impact des infections concomitantes (telles que l'acariose ou la nosérose) sur les seuils. On peut conclure que leur détermination nécessite un suivi de santé complet des colonies et qu'ils sont associés à une région et une pratique apicole spécifique.

Les résultats issus de ce mémoire permettent l'élaboration de lignes directrices applicables dans le cadre d'une stratégie de lutte contre la varroase dans les ruchers du Québec. Nous proposons l'utilisation de seuils économiques d'intervention déterminés en fonction des performances zootechniques des colonies. Nos seuils sont

également associés à des moments stratégiques de la saison apicole : au printemps (début mai), la mi-été (fin juillet) et la fin d'été (début septembre). Ces seuils sont présentés au Tableau 6-2. Ils furent déterminés en utilisant deux éléments fondamentaux du principe de lutte intégrée (Pedigo 1986, Stern et al. 1959) : le dommage économique, le seuil économique. Le dommage économique survient lorsque l'impact d'une peste sur le rendement est équivalent au coût d'un traitement de contrôle. Le seuil économique est la densité minimale de la peste à laquelle survient le dommage économique. C'est une valeur pratique et l'atteinte de ce seuil justifie l'application d'un traitement. Il représente une densité d'infestation ainsi qu'un moment d'intervention. Voici la description de la détermination de ces valeurs pour la varroase :

*Dommage économique* : Afin de calculer le coût du traitement contre la varroase il faut tenir compte du temps/travail de l'apiculteur, la logistique ainsi que l'achat du produit antiparasitaire. Nous estimons que le coût total est d'environ \$10 CDN par colonie lorsqu'un produit varroacide recommandé est utilisé (Apistan™, CheckMite™, Apivar™ or Thymovar™: tous homologués par Santé Canada).

*Seuil économique* : Les seuils de mai et juillet sont déterminés en fonction d'une perte de profit basée sur la production de miel durant la saison. En prenant une valeur du miel à \$2 CDN la livre et en utilisant les équations des régressions linéaires de la figure 2-5 et 2-6 (chapitre 2), nous calculons les seuils économiques en intégrant une perte en miel équivalente au traitement anti varroa (5 livres de miel = \$10 CDN = dommage économique). Les seuils de mai et juillet sont donc respectivement de 2.2 et

29.3 varroas par jour en chute naturelle. Le seuil économique en septembre est évalué à partir de la force de la colonie après l'hivernage. En prenant une valeur basée sur le coût d'un nucléi de 4 cadres tôt le printemps (\$140 CDN - \$20 CDN pour la reine = \$30 par cadre d'abeilles) et en utilisant l'équation de régression linéaire de la figure 2-7, nous calculons le seuil économique en septembre en intégrant une perte d'abeilles équivalente au traitement anti varroa (0.33 cadres d'abeilles = \$10 CDN = dommage économique). Le seuil économique de septembre est donc de 14,7 varroas par jour en chute naturelle. Cette chute naturelle correspond à une population totale de 1164 varroa par colonie (selon l'équation de la figure 2-4). Afin d'intégrer une marge d'erreur dans ces valeurs nous proposons d'utiliser la variance qui n'est pas expliquée par le modèle. Cette variance est exprimée par  $1-R^2$  et nous l'avons utilisée comme marge d'erreur de la pente pour chaque régression linéaire. Les seuils économiques de mai, juillet et septembre peuvent donc être présentés sous forme d'écart avec une valeur minimum et maximum de chute naturelle de varroas par jour. Ils sont donc de [1.6 - 3.7] en mai, [10.2 - 55.6] en juillet et [8.7 - 47.1] en septembre.

Les seuils présentés au Tableau 6-1 sont associés à un risque de détérioration de l'ensemble de la santé d'une colonie tandis que nos seuils (Tableau 6-2) représentent des niveaux d'intervention et de prévention. Ils indiquent que la densité des varroas a atteint un niveau de dommage économique et que le traitement est une option rentable. À notre connaissance, c'est la première fois que des seuils d'intervention sont déterminés avec cet objectif dans le cadre d'une lutte intégrée contre

la varroase. Les travaux de recherches mentionnés précédemment indiquent que les niveaux de parasitisme sous un seuil critique sont tolérables par la colonie, mais que les apiculteurs devraient prévoir un traitement bien en deçà de ce type de seuil. C'est justement le rôle des seuils que nous proposons. Ils sont basés sur la notion d'action de traitement et de prévention. Ils sont donc plus sécuritaires et le besoin de traitement est moins pressant.

Tableau. 6-2 Seuils économiques des taux de parasitisme déterminés à partir d'une chute naturelle de varroas (varroas/jour, moyenne sur 7 jours consécutifs) au début mai, à la fin juillet et à la mi-septembre. La méthode de calcul est expliquée dans le texte.

Seuils d'intervention	
Printemps (début mai)	2 varroas/jour
Mi-été (fin juillet)	10 varroas/jour
Fin-été (mi-septembre)	9 varroa/jour

Tels que souligné précédemment, les seuils que nous proposons au Tableau 6-2 ne correspondent pas à des niveaux critiques de varroase, ils indiquent plutôt le niveau de varroase au-delà duquel la perte du rendement apicole (production de miel ou force de la colonie) dépasse le coût d'application d'un traitement anti-varroas. La comparaison de nos résultats avec ceux des autres auteurs (Tableau 6-1 vs Tableau 6-2) révèle certaines ressemblances avec les seuils établis en Suisse et au

Saskatchewan. Le seuil de 117 varroas par jour en août donné par Hood et Delaplane (1997) pour le sud-ouest des USA est beaucoup plus élevé que tous les autres. Les auteurs indiquent que leur seuil d'août correspond à un niveau de varroase au-delà duquel il y aura effondrement de la colonie et ces auteurs insistent qu'un traitement doit être appliqué bien avant d'atteindre ce niveau.

## **Efficacité des acaricides testés**

Des tests d'efficacité avec le thymol et les acides organiques (formique et oxalique) ont fait l'objet des chapitres 3, 4 et 5 de cette thèse. L'objectif de ces travaux était d'évaluer l'efficacité de ces pesticides dans les ruchers du Québec à différentes périodes de l'année. Les pesticides sélectionnés pour nos travaux correspondent aux pesticides organiques ayant démontré leur efficacité ailleurs dans le monde : le thymol, l'acide oxalique et l'acide formique (Rademacher and Harz 2006; Rosenkranz, Aumeier et al. 2010). Nos résultats confirment l'efficacité de ces trois acaricides dans les conditions apicoles du Québec. Par contre, les traitements anti varroas avec ces produits offrent un maximum d'efficacité lorsqu'ils sont appliqués à la fin de l'été (thymol et acide formique, voir Chapitre 4 et 5) et juste avant la mise en hivernage des colonies (acide oxalique). L'utilisation combinée de ces produits acaricides après la saison apicole estivale du Québec permet de réduire la chute naturelle sous 2 varroas par jour en novembre (avant l'hivernage des colonies), ne contamine pas le miel et assure que les colonies sortent de l'hiver avec force et en



santé (Chapitre 5). Nos travaux sur l'efficacité des traitements à l'acide formique et oxalique au printemps (Chapitre 3) montrent que ces acides provoquent la mort de plusieurs varroas mais ne parviennent pas à réduire les niveaux de chute naturelle de varroas sous 9 varroas en juillet. L'inefficacité des traitements anti varroas en présence de couvain permet d'expliquer ce résultat. Au début de la saison apicole la reine augmente sa ponte, offrant ainsi aux varroas une abondance de couvain où ils se reproduisent. Le couvain operculé protège les varroas de plusieurs acaricides notamment l'acide oxalique. C'est pourquoi nous avons mis à l'essai un traitement avec deux applications d'acide oxalique à 7 jours d'intervalle. Ce traitement s'est révélé prometteur comme traitement de printemps (Chapitre 3). À l'opposé, l'utilisation de l'acide formique au printemps n'est pas recommandable. Malgré le fait que l'acide formique diminue le taux de reproduction des varroas (il est toxique pour les jeunes varroas mâles présents dans le couvain operculé), cet acide provoque la mort d'abeilles ouvrières lors de l'application, réduit la quantité de couvain et la production de miel au cours de l'été suivant l'application du printemps.

En résumé, le Tableau 6-3 présente les recommandations de traitements issues de ce travail de ce travail et les compare avec celles d'autres provinces du Canada : Ontario, Saskatchewan,

Tableau. 6-3 Recommandations pour l'utilisation de l'acide formique (MiteAwayII™, MiteWipe et Flash), l'acide oxalique (égouttement) et le thymol

(Apigard™) durant la saison apicole active d'avril à novembre. (nr : non recommandé; pt : pas testé; r : recommandé).

	Mois							
	avril	mai	juin	juil.	août	sept.	oct.	nov.
<b>1. Acide formique 65%</b>								
MiteAwayII™	nr	nr	nr	nr	nr	r	nr	nr
MiteWipe 1 tampon 35 ml 3 applications	nr	nr	nr	r	r	nr	nr	nr
Flash 35 ml	nr	nr	nr	pt	pt	nr	nr	nr
<b>2. Acide oxalique, 40g/l en solution sucrée 1 :1</b>								
Égouttement 5 ml 1x	nr	nr	nr	nr	nr	nr	nr	r
Égouttement 5 ml 2x	r	r	r	nr	nr	nr	nr	nr
<b>3. Thymol</b>								
Apigard™	nr	nr	nr	nr	nr	r	nr	nr

## Limites de ce travail

Certain points restent à explorer à la suite de ce travail. Malgré plusieurs aspects originaux mis de l'avant par cette recherche, telles que l'utilisation de seuils d'intervention basés sur la production d'une colonie et l'évaluation de stratégies de lutte intégrée sur une saison apicole, il faut néanmoins mettre en perspective la mise à l'essai restreinte de ces nouvelles applications.

Une problématique soulevée par certains auteurs (Delaplane et Hood 1999, LeConte et al. 2010) est l'évolution des seuils d'intervention avec le temps. Il y a présentement plusieurs programmes d'élevage visant la tolérance/résistance des colonies d'abeilles

mellifères (Chapitre 1). Certaines races d'abeilles comme la <Primorski Russian> et la <Varroa Sensitive Hygiène> (USDA Honey bee research lab, Baton Rouge, Florida, USA), tolèrent un certain niveau de parasitisme avec peu ou pas d'effet sur leur productivité. De plus, ces races d'abeilles ont des comportements de défense qui réduisent significativement les taux d'infestations de varroas dans la colonie. La détermination des seuils d'intervention dans ce travail fut réalisée sur des lignées d'abeilles hybrides italiennes (*Apis mellifera mellifera*) provenant d'un éleveur du Québec. Il serait intéressant de réaliser de nouveaux essais afin de vérifier si l'utilisation de races d'abeilles tolérantes à la varroase modifie les seuils d'intervention et permettent de retarder les traitements ou même de simplement de ne plus faire de traitements anti varroa. Nous suggérons que l'évaluation de la tolérance de ces lignées envers *V. destructor* pourrait se faire efficacement dans le cadre d'un programme de sélection génétique.

La présence d'autres pathologies concomitantes est une problématique qu'il faut tenir compte dans l'utilisation des seuils d'intervention. Des travaux réalisés au Canada (Ostermann 2002) ont démontré que la présence du couvain plâtré ou de la nosérose en même temps que la varroase diminuait significativement la survie des colonies en comparaison avec une infestation unique à une de ces maladies. Durant les premières décennies de l'invasion de *Varroa* en Europe, les dépistages révélaient souvent plus de 7000 varroas dans les colonies fortement infestées (Ritter and Perschil, 1982; Fries et al. 1994). À cette époque, Ritter et al. (1984) avaient établi le seuil économique (au-delà duquel la colonie risque de la mort) dans les colonies en Allemagne à 200

varroas en chute naturelle journalière en juillet. Un tel niveau d'infestation est rare maintenant et les autorités apicoles Allemandes recommandent l'application d'un traitement anti varroa lorsque la chute naturelle journalière atteint 10 varroas. Des travaux récents en Allemagne démontrent qu'une infestation de 3000 varroas provoque l'effondrement de la colonie (Boecking and Genersch, 2008). Les interactions entre les virus et la varroase semblent fournir l'explication de l'effondrement des colonies car elles peuvent tolérer des niveaux de varroase plus élevés en absence de virus (Martin, 2001). Plusieurs virus infestent naturellement les colonies d'abeilles (Gauthier et al. 2007), et les interactions virus/abeilles influencent significativement les niveaux de varroase associés à l'effondrement des colonies. Les travaux de Sumpter and Martin (2004) proposent des modèles illustrant la dynamique de l'évolution des colonies d'abeilles en fonction de différents niveaux d'infestation virale.

Dans tous nos travaux de recherche, l'état de santé des colonies était surveillé régulièrement et toutes les colonies étaient exemptes de symptômes autres que ceux de la varroase. Donc toutes les recommandations sur les différents seuils d'intervention ainsi que propositions de traitement contre la varroase ont été obtenues avec des colonies matures infestées par les varroas et sans symptôme d'une autre infection concomitante. Nous tenons à souligner que les seuils proposés par ce travail doivent être utilisés à titre indicatif et que l'apiculteur doit être vigilant et demander un bilan de santé de ses ruchers s'il soupçonne la présence d'autres pathogènes. Dans

le cas échéant l'utilisation des seuils n'est pas valide et d'autres traitements sont prescrits.

## **La varroase et le futur**

Depuis environ 10 ans, la recherche sur la varroase s'oriente vers la relation physiopathologique entre *Varroa* et les virus. Plusieurs travaux démontrent que les varroas sont d'importants vecteurs viraux et qu'il y a une synergie de leur pathogénicité. Bayer Inc. entreprends actuellement des tests pour un traitement anti viral fondé sur le principe d'interférence de l'ARN. Il faut donc s'attendre à voir apparaitre sur le marché de nouveaux traitements visant le contrôle de plusieurs virus associés aux abeilles et transmis par les varroas. Toutefois, le contrôle efficace du vecteur est plus réaliste que le contrôle des virus. On sait déjà que les colonies d'abeilles *Apis cerana* survivent bien avec la présence du virus des ailes déformées et du Varroa car elles possèdent la capacité innée à maintenir de faibles taux de varroase à l'intérieure de la colonie (Sumpter and Martin 2004).

Les solutions à long terme pour le contrôle de la varroase viendront assurément d'une meilleure compréhension de la relation entre Varroa et son hôte. Une importante avancée est attendue du récent projet mené par le chercheur Jay Evans (USDA-Beltsville, USA) et financé par le Varroa Genome project. Le travail a débuté en 2010 et vise le séquençage des 565 millions paires de bases du génome de *V. destructor*

(Cornman et al. 2010). Ces nouvelles connaissances ouvriront la porte à plusieurs nouvelles options de traitements basées sur les gènes, en plus de déceler les points faibles des traitements actuels. Ils pourront peut-être mener à la découverte des moyens utilisés par *Varroa* pour retrouver son hôte. Les nouvelles méthodes moléculaires ont déjà fait l'objet d'essais forts encourageants chez les abeilles mellifères. Campbell et al. (2010) ont réussi à bloquer pendant plus de 72 heures l'expression génétique d'un gène de *V. destructor* en leur injectant (ou en les incubant) une solution contenant une séquence à double brin d'ARN-interférence (dsRNAi). Il faudra sûrement attendre encore plusieurs années avant que ces nouvelles méthodes génomiques puissent être utilisées en apiculture mais il y a là un potentiel de nouveaux traitements énorme.

En conclusion, ce travail montre que la varroase peut être contrôlée efficacement dans les colonies d'abeilles du Québec. Nous offrons aux apiculteurs de la province des outils de gestions basés sur plusieurs travaux scientifiques réalisés pendant plus de 4 années avec les colonies du centre de recherche en sciences animales de Deschambault. Nous préconisons une stratégie de lutte intégrée qui utilise des produits acaricides organiques (acide oxalique, acide formique et thymol) en association avec des seuils d'intervention identifiés au printemps, à l'été et à l'automne.

## Références

- Abotaka, S. M., and H. A. S. Eldin. 1992. Studies on the control of parasitic honey-  
bee mite *Varroa jacobsoni*. *Anzeiger Fur Schadlingskunde Pflanzenschutz  
Umweltschutz* 65: 72-75.
- Adamczyk S., Lázaro R., Pérez-Arquillué C., Conchello P., and A. Herrera 2005.  
Evaluation of residues of essential oil components in honey after different anti-  
varroa treatments, *Journal of Agric. Food Chem.* 53(26): 10085-10090.
- Akyol, E., and H. Yeninar. 2008. Controlling *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) in  
honeybee *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) colonies by using Thymovar  
(R) and BeeVital (R). *Italian Journal of Animal Science* 7: 237-242.
- Akyol, E., and H. Yeninar. 2009. Use of oxalic acid to control *Varroa destructor* in  
honeybee (*Apis mellifera* L.) colonies. *Turkish Journal of Veterinary & Animal  
Sciences* 33: 285-288.
- Amrine, J. W., and R. Noel. 2006. Formic acid fumigator for controlling varroa mites  
in honey bee hives. *International Journal of Acarology* 32: 115-124.
- Amrine, J. W., R. C. Noel, and D. Webb. 2007. Results of 50% formic acid  
fumigation of honey bee hives [*Apis mellifera ligustica* (Hymenoptera :  
Apidae)] to control varroa mites (Acari : Varroidae) in brood combs in Florida,  
USA. *International Journal of Acarology* 33: 99-109.
- Anderson, D. L., and J. W. H. Trueman. 2000. *Varroa jacobsoni* (Acari : Varroidae)  
is more than one species. *Experimental and Applied Acarology* 24: 165-189.

- Bacandritsos, N., I. Papanastasiou, C. Saitanis, A. Nanetti, and E. Roinioti. 2007. Efficacy of repeated trickle applications of oxalic acid in syrup for varroosis control in *Apis mellifera*: Influence of meteorological conditions and presence of brood. *Veterinary Parasitology* 148: 174-178.
- Bahreini, R., G. Tahmasebi, J. Nowzari, and M. Talebi. 2004. A study of the efficacy of formic acid in controlling *Varroa destructor* and its correlation with temperature in Iran. *Journal of Apicultural Research* 43: 158-161.
- Ball B V and Allen M F 1988. The prevalence of pathogens in honey bee (*Apis mellifera*) colonies infested with the parasitic mite *Varroa jacobsoni*. *Annals of Applied Biology* 113: 237-244
- Bautz, R. A., and J. R. Coggins. 1992. Scanning electron-microscopy of female *Varroa jacobsoni* (arthropoda, acarina), ectoparasite of the honeybee *Apis mellifera*. *Transactions of the American Microscopical Society* 111: 28-35.
- Bienefeld K., Ehrhardt K., Reinhardt F. 2008. Noticeable success in honey bee selection after the introduction of genetic evaluation by BLUP, *Am. Bee J.* 148, 739–742.
- Bogdanov S., Imdorf, A., Kilchenmann V. 1998. Residues in wax and honey after Apilife VAR treatment. *Apidologie* 29:513-524
- Bogdanov S., Kilchenmann V., Fluri P, Büchler U. and P. Lavanchy 1999. Influence of organic acids and components of essential oils on honey taste. *Swiss Bee Research Centre publication*. 6p.
- Bolli, H. K., S. Bogdanov, A. Imdorf, and P. Fluri. 1993. Action of formic-acid on *Varroa jacobsoni* and the honeybee (*Apis mellifera* L). *Apidologie* 24: 51-57.



- Boot, W. J., J. Beetsma, and J. N. M. Calis. 1994. Behavior of varroa mites invading honey bee brood cells. *Experimental & Applied Acarology* 18: 371-379.
- Boot, W. J., J. Schoenmaker, J. N. M. Calis, and J. Beetsma. 1995b. Invasion of *Varroa jacobsoni* into drone brood cells of the honey-bee, *Apis mellifera*. *Apidologie* 26: 109-118.
- Boot, W. J., R. G. Driessen, J. N. M. Calis, and J. Beetsma. 1995a. Further observations on the correlation between attractiveness of honey-bee brood cells to *Varroa jacobsoni* and the distance from larva to cell rim. *Entomologia Experimentalis Et Applicata* 76: 223-232.
- Boucher C. 2002. Résistance au fluvalinate : les apiculteurs sont invités à être vigilants. Réseau d'alerte et d'avertissement Zoosanitaire RAIZO. No 27.
- Boucher C. et F. Desjardins, 2003. Bilan de la saison apicole 2002. Bulletin zoo sanitaire RAIZO 38, p. 1-3.
- Boucher C., 2000. Bilan de la saison apicole 1999. Bulletin zoo sanitaire RAIZO 22, p. 1-3.
- Bourgeois, A. L. and T. E. Rinderer (2009). Genetic Characterization of Russian Honey Bee Stock Selected for Improved Resistance to *Varroa destructor*. *Journal of Economic Entomology* 102(3): 1233-1238.
- Bracey, S., and F. Fischer. 1989. Initial results of the field treatment of honey bee colonies infested with *Varroa jacobsoni* using formic-acid in hot climates. *American Bee Journal* 129: 735-737.

- Branco, M. R., N. A. C. Kidd, et al. (2006). A comparative evaluation of sampling methods for *Varroa destructor* (Acari : Varroidae) population estimation. *Apidologie* 37(4): 452-461.
- Brodsgaard, C. J. and H. F. Brodsgaard (1998). Monitoring method as a basis for need-based control of varroa mites (*Varroa jacobsoni*) infesting honey bee (*Apis mellifera*) colonies, Frame.
- Büchler R. 1990. Possibilities for selecting increased Varroa tolerance in central European honey bees of different origins, *Apidologie* 21, 365-367
- Büchler R., S. Berg and Y. Le Conte 2010. Breeding for resistance to Varroa destructor in Europe. *Apidologie* 41(3) 393-408
- Buchler, R. (2000). Design and success of a German breeding program for Varroa tolerance. *American Bee Journal* 140(8): 662-665.
- Buchler, R. 1994. Varroa tolerance in honey bees - Occurrence, characters and breeding. *Bee World* 75: 54-70.
- Calderon, R. A., R. A. Ortiz, H. G. Arce, J. W. van Veen, and J. Quan. 2000. Effectiveness of formic acid on varroa mortality in capped brood cells of Africanized honey bees. *Journal of Apicultural Research* 39: 177-179.
- Calderone, N. W. 1999a. Evaluating subsampling methods for estimating numbers of *Varroa jacobsoni* mites (Acari : Varroidae) collected on sticky-boards. *Journal of Economic Entomology* 92: 1057-1061.
- Calderone, N. W. 1999b. Evaluation of formic acid and a thymol-based blend of natural products for the fall control of *Varroa jacobsoni* (Acari : Varroidae) in

- colonies of *Apis mellifera* (Hymenoptera : Apidae). Journal of Economic Entomology 92: 253-260.
- Calderone, N. W. 2000. Effective fall treatment of *Varroa jacobsoni* (acari : varroidae) with a new formulation of formic acid in colonies of *Apis mellifera* (hymenoptera : apidae) in the northeastern United States. Journal of Economic Entomology 93: 1065-1075.
- Calderone, N. W. 2010. Evaluation of Mite-Away-II (TM) for fall control of *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) in colonies of the honey bee *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) in the northeastern USA. Experimental and Applied Acarology 50: 123-132.
- Calderone, N. W. and S. Lin (2003). Rapid determination of the numbers of *Varroa destructor*, a parasitic mite of the honey bee, *Apis mellifera*, on sticky-board collection devices. Apidologie 34(1): 11-17.
- Calderone, N. W., and M. E. Nasr. 1999. Evaluation of a formic acid formulation for the fall control of *Varroa jacobsoni* (Acari : Varroidae) in colonies of the honey bee *Apis mellifera* (Hymenoptera : Apidae) in a temperate climate. Journal of Economic Entomology 92: 526-533.
- Calderone, N. W., and R. M. Turcotte. 1998. Development of sampling methods for estimating levels of *Varroa jacobsoni* (Acari : Varroidae) infestation in colonies of *Apis mellifera* (Hymenoptera : Apidae). Journal of Economic Entomology 91: 851-863.
- Calis, J. N. M., I. Fries, and S. C. Ryrie. 1999. Population modelling of *Varroa jacobsoni* Oud. Apidologie 30: 111-124.

- Calis, J. N. M., W. J. Boot, J. Beetsma, J. van den Eijnde, A. de Ruijter, and J. J. M. van der Steen. 1998. Control of varroa by combining trapping in honey bee worker brood with formic acid treatment of the capped brood outside the colony: putting knowledge on brood cell invasion into practice. *Journal of Apicultural Research* 37: 205-215.
- Calls, J., W. J. Boot, and J. Beetsma. 1996. Reproductive success of the Varroa mite in honeybee worker brood with differential development times. *Proceedings of the Section Experimental and Applied Entomology of the Netherlands Entomological Society (N.E.V.)*, Vol 7, 1996: 89-94
- Charrière J. D. et Imdorf A. 2003. Méthode de lutte alternative contre Varroa. Publications Centre Suisse de recherche apicole. Liebefeld. 6p.
- Charriere J. D., and A. Imdorf. 2002. Oxalic acid treatment by trickling against *Varrao destructor*: recommendations for use in central Europe and under temperate climate conditions. *Bee World* 83: 51-60.
- Charrière J. D., Imdorf A., Bachofen B., Tschan A. 2003. The removal of capped drone brood: an effective means of reducing the infestation of varroa in honey bee colonies. *Bee World* 84:117-124
- Charriere, J. D., A. Imdorf, and V. Kilchenmann. 1993. Mesure des concentrations d'acide formique dans l'air d'une ruche lors de son utilisation contre *Varroa jacobsoni*. *Journal Suisse d'apiculture*. 10: 1-2.
- Chen, C.-T., P.-S. Wu, Y.-W. Chen, and C.-C. Chen. 2009. The Control of *Varrao destructor* Using Thymol in Honeybee Colonies. *Formosan Entomologist* 29: 153-164.

- Chen, Y. P. and SIEDE R 2007. Honey bee viruses. *Advances in Virus Research* 70:33-80.
- Chen, Y.-W., and P.-L. Chen. 2008. The Control of *Varroa destructor* Using Oxalic Acid Syrup in Brood-right Honeybee Colonies. *Formosan Entomologist* 28: 31-41.
- Colin M. E., R. Vandame, P. Jourdan, and S. di Pasquale (1997). Fluvalinate resistance of *Varroa jacobsoni* oudemans (Acari : Varroidae) in Mediterranean apiaries of France. *Apidologie* 28(6): 375-384.
- Collins, A.M., Pettis, J.S., Wilbanks, R., Feldlaufer, M.F. 2006. Survival and function of queens reared in beeswax containing coumaphos. *American Bee Journal*. 146(4):341-344.
- CRAAQ, 2009. Gestion optimal des ruchers au Québec. Publication du Centre de référence en agriculture et agroalimentaire du Québec. 68p.
- Cornman R. S., M. C. Schatz, J. S. Johnston, Yan-Ping Chen, J. Pettis, G. Hunt, L. Bourgeois, C. Elsik, D. Anderson, C. M. Grozinger and J. D Evans (2010). Genomic survey of the ectoparasitic mite *Varroa destructor*, a major pest of the honey bee *Apis mellifera*. *BMC Genomics*. 11: 602.
- Currie, R. W., and G. H. Tahmasbi. 2008. The ability of high- and low-grooming lines of honey bees to remove the parasitic mite *Varroa destructor* is affected by environmental conditions. *Canadian Journal of Zoology-Revue Canadienne De Zoologie* 86: 1059-1067.

- Currie, R. W., and P. Gatién. 2006. Timing acaricide treatments to prevent *Varroa destructor* (Acari : Varroidae) from causing economic damage to honey bee colonies. *Canadian Entomologist* 138: 238-252.
- Dadant and Sons, 1992, *The hive and the honey bee*. Dadant & Sons, Hamilton Illinois, USA. 739p.
- Daniels, R. S., A. Hamid, R. E. L. Rogers, and K. MacKenzie. 1999. Membrane-barrier delivery of formic acid, a chemical used for mite control on honey bees (*Apis mellifera*). *Journal of Apicultural Research* 38: 63-69.
- De Guzman, L. I., T. E. Rinderer, and J. A. Stelzer. 1997. DNA evidence of the origin of *Varroa jacobsoni* Oudemans in the Americas. *Biochemical Genetics* 35: 327-335.
- DeGrandi-Hoffman, G. and R. Curry (2004). A mathematical model of varroa mite (*Varroa destructor* Anderson and Trueman) and honeybee (*Apis mellifera* L.) population dynamics. *International Journal of Acarology* 30(3): 259-274.
- DeGrandi-Hoffman, G., G. Wardell, et al. (2008). Comparisons of pollen substitute diets for honey bees: consumption rates by colonies and effects on brood and adult populations. *Journal of Apicultural Research* 47(4): 265-270.
- Dejong, D., D. D. Roma, and L. S. Goncalves. 1982b. A comparative-analysis of shaking solutions for the detection of *Varroa jacobsoni* on adult honeybees .1. *Apidologie* 13: 297-306.
- Dejong, D., P. H. Dejong, and L. S. Goncalves. 1982a. Weight-loss and other damage to developing worker honeybees from infestation with *Varroa jacobsoni*. *Journal of Apicultural Research* 21: 165-167.

- Delaplane, K. S. 1997a. Practical science - research helping beekeepers - 3. Varroa. Bee World 78(4): 155-164.
- Delaplane, K. S. 1997b. Varroa - How and when to treat. American Bee Journal 137: 571-573.
- Delaplane, K. S. and W. M. Hood (1997). Effects of delayed acaricide treatment in honey bee colonies parasitized by *Varroa jacobsoni* and a late-season treatment threshold for the southeastern USA. Journal of Apicultural Research 36(3-4): 125-132.
- Delaplane, K. S., and W. M. Hood. 1999. Economic threshold for *Varroa jacobsoni* Oud. in the southeastern USA. Apidologie 30: 383-395.
- Delaplane, K. S., J. A. Berry, et al. (2005). Integrated pest management against *Varroa destructor* reduces colony mite levels and delays treatment threshold. Journal of Apicultural Research 44(4): 157-162.
- Delaplane, K. S., J. A. Berry, J. A. Skinner, J. P. Parkman, and W. M. Hood. 2005. Integrated pest management against *Varroa destructor* reduces colony mite levels and delays treatment threshold. Journal of Apicultural Research 44: 157-162.
- Deruijter, A. 1987. Reproduction of *Varroa jacobsoni* during successive brood cycles of the honeybee. Apidologie 18: 321-326.
- Devlin M. S. 2001. Comparative analyses of sampling methods for *Varroa* mites (*Varroa destructor*) on Honey bees (*Apis mellifera*). M. Sc. Thesis. Simon Fraser University. 52pp.

- Dietemann V., J. Pflugfelder, D. Anderson, J-D. Charrière, N. Chejanovsky, B. Dainat, J. de Miranda, K. Delaplane, F-X Dillier, S. Fuch, P. Gallmann, L. Gauthier, A. Imdorf, N. Koeniger, J. Kralj, W. Meikle, J. Pettis, P. Rosenkranz, D. Sammataro, D. Smith, O. Yañez and P. Neumann. 2012. *Varroa destructor*: research avenues towards sustainable control. Journal of Apicultural Research 51(1): 125-132.
- Dombrowski, D. and R. De Voe (2007). Emergency Care of Invertebrates. Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice 10(2): 621-645.
- Donzé G. and P.M. Guerin 1994. Behavioural attributes and parental care of Varroa mites parasiting honeybee. Behavioural Ecology and Sociology. 34: 305-319.
- Donzé G., M. Herrmann, B. Bachofen and P.M. Guerin 1996. Effect of mating frequency and brood cell infestation rate on the reproductive success of the honeybee parasite *Varroa jacobsoni*. Ecology and Entomology. 21: 17-26
- Duay, P. 2002. Relation between the level of preimaginal infestation by the broodmite *Varrao destructor* and adult life expectancy in drone honeybees (Hymenoptera : Apidae : *Apis mellifera*). Entomologia Generalis 26: 213-218.
- Duay, P., D. De Jong, and W. Engels. 2003. Weight loss in drone pupae (*Apis mellifera*) multiply infested by *Varrao destructor* mites. Apidologie 34: 61-65.
- Eguaras, M., M. A. Palacio, C. Faverin, M. Basualdo, M. L. Del Hoyo, G. Velis, and E. Bedascarrasbure. 2003. Efficacy of formic acid in gel for Varroa control in *Apis mellifera* L.: importance of the dispenser position inside the hive. Veterinary Parasitology 111: 241-245.



- Eischen, F. (1995). Varroa Resistance to Fluvalinate. American Bee Journal 135(12): 815-816.
- Eischen, F. A. 1998. Trials (and tribulations) with formic acid for varroa control. American Bee Journal 138: 734-735.
- Elzen, P. and D. Westervelt 2004. A scientific note on reversion of fluvalinate resistance to a degree of susceptibility in *Varrao destructor*. Apidologie 35(5): 519-520.
- Elzen, P. J. 2003a. Beekeeping issues - Varroa control: Thresholds for treatment. American Bee Journal 143(6): 452-452.
- Elzen, P. J. 2003b. Suitability of formic acid to control *Varrao destructor* (Mesostigmata : Varroidae) and safety to *Apis mellifera* (Hymenoptera : Apidae) in the southwestern U.S. Southwestern Entomologist 28: 261-266.
- Elzen, P. J., D. Westervelt, and R. Lucas. 2004. Formic acid treatment for control of *Varrao destructor* (Mesostigmata : Varroidae) and safety to *Apis mellifera* (Hymenoptera : Apidae) under southern United States conditions. Journal of Economic Entomology 97: 1509-1512.
- Elzen, P. J., F. A. Eischen, et al. (1998). Fluvalinate resistance in *Varroa jacobsoni* from several geographic locations. American Bee Journal 138(9): 674-676.
- Elzen, P. J., F. A. Eischen, et al. (1999). Detection of resistance in US *Varroa jacobsoni* Oud. (Mesostigmata : Varroidae) to the acaricide fluvalinate. Apidologie 30(1): 13-17.
- Elzen, P. J., J. R. Baxter, F. A. Eischen, and W. T. Wilson. 1999. Pesticide resistance in Varroa mites: Theory and practice. American Bee Journal 139: 195-196.

- Emsen, B., E. Guzman-Novoa, and P. G. Kelly. 2007. The effect of three methods of application on the efficacy of thymol and oxalic acid for the fall control of the honey bee parasitic mite *Varroa destructor* in a northern climate. *American Bee Journal* 147: 535-539.
- Farrar, K. L. (1965). Overwintering in productive bee colonies From: REF ZH BIOL, 1966, No. 2E407. (Translation). *Pchelovodstvo* 10: 27-31.
- Faucon, J. P., P. Drajnudel, et al. (1995). Decrease in Apistan efficacy used against *Varroa* in the honey bee. *Apidologie* 26(4): 291-296.
- Feldlaufer, M. F., J. S. Pettis, J. P. Kochansky, and H. Shimanuki. 1997. A gel formulation of formic acid for the control of parasitic mites of honey bees. *American Bee Journal* 137: 661-663.
- Floris, I. 1997. A sequential sampling technique for female adult mites of *Varroa jacobsoni* Oudemans in the sealed worker brood of *Apis mellifera ligustica* Spin. *Apidologie* 28: 63-70.
- Floris, I., A. Satta, P. Cabras, V. L. Garau, and A. Angioni. 2004. Comparison between two thymol formulations in the control of *Varroa destructor*: Effectiveness, persistence, and residues. *Journal of Economic Entomology* 97: 187-191.
- Floris, I., P. Cabras, V. L. Garau, E. V. Minelli, A. Satta, J. Troullier . (2001). Persistence and effectiveness of pyrethroids in plastic strips against *Varroa jacobsoni* (Acari : Varroidae) and mite resistance in a mediterranean area. *Journal of Economic Entomology* 94(4): 806-810.

- Frazier, M. T., J. Finley, et al. (2000). A sequential sampling scheme for detecting infestation levels of tracheal mites (Heterostigmata : Tarsonemidae) in honey bee (Hymenoptera : Apidae) colonies. *Journal of Economic Entomology* 93(3): 551-558.
- Fries, I. 1989. Short-interval treatments with formic acid for the control of *Varroa jacobsoni* in honey bees (*Apis mellifera*) colonies in cold climates. *Swedish Journal of Agricultural Research* 19: 213-216.
- Fries, I. 1991. Treatment of sealed honey bee brood with formic acid for the control of *Varroa jacobsoni*. I. *American Bee Journal* 131: 313-314.
- Fries, I., A. Aarhus, H. Hansen, and S. Korpela. 1991a. Development of early infestations by the mite varroa-jacobsoni in honeybee (*Apis mellifera*) colonies in cold climates. *Experimental & Applied Acarology* 11: 205-214.
- Fries, I., A. Aarhus, H. Hansen, and S. Korpela. 1991b. Comparison of diagnostic methods for detection of low infestation levels of *Varroa jacobsoni* in honeybee (*Apis mellifera*) colonies. *Experimental & Applied Acarology* 10: 279-287.
- Fries, I., A. Imdorf, and P. Rosenkranz. 2006. Survival of mite infested (*Varroa destructor*) honey bee (*Apis mellifera*) colonies in a Nordic climate. *Apidologie* 37: 564-570.
- Fries, I., and P. Rosenkranz. 1996. Number of reproductive cycles of *Varroa jacobsoni* in honey-bee (*Apis mellifera*) colonies. *Experimental & Applied Acarology* 20: 103-112.

- Fries, I., H. Hansen, A. Imdorf, and P. Rosenkranz. 2003. Swarming in honey bees (*Apis mellifera*) and *Varroa destructor* population development in Sweden. *Apidologie* 34: 389-397.
- Fries, I., S. Camazine and J. Sneyd. (1994). Population dynamics of *Varroa jacobsoni* - a model and a review. *Bee World* 75(1): 5-28.
- Fuchs, S. 1985. Quantitative diagnosis of the infestation of bees hives by *Varroa jacobsoni* Oud - and distribution of the parasitic mite within the hives. *Apidologie* 16: 343-367.
- Fuchs, S. 1990. Preference for drone brood cells by *Varroa jacobsoni* Oud in colonies of *Apis mellifera* carnica. *Apidologie* 21: 193-199.
- Gauthier L., Tentcheva D., Tournaire M., Dainat B., Cousserans F., Colin M.E., Bergoin M. 2007. Viral load estimation in asymptomatic honey bee colonies using the quantitative RT-PCR technique, *Apidologie* 38, 426–435.
- Giovenazzo and Dubreuil 2011. Evaluation of spring organic treatments against *Varroa destructor* in honey bee *Apis mellifera* colonies in eastern Canada. *Experimental and Applied Acarology*. 55(1):65-76.
- Giovenazzo and Dubreuil 2012. Treatment thresholds for the control of the honey bee mite *Varroa destructor* in eastern Canada. *Journal of economic entomology*. Submitted manuscript March 2012.
- Giovenazzo P et P. Dubreuil, 2009. Méthodes alternatives de contrôle des populations de *Varroa destructor* et d'*Acarapis woodi* dans les ruches du Québec. Projet CDAQ. Rapport final.

- Giovenazzo P. et É. Houle, 2004. Efficacité de l'Apiguard contre *Varroa destructor*, parasite de l'abeille domestique *Apis mellifera*. Rapport de recherche. Centre de recherche en sciences animales de Deschambault.
- Giovenazzo P. et P. Dubreuil, 2004. Évaluation de l'acide oxalique et de l'acide formique en traitement du *Varroa destructor* pendant la période estivale. Projet ConcertAction. Rapport final MAPAQ.
- Giovenazzo P., J. Marceau et S. Dubé 1999. Essais préliminaires sur le traitement de colonies d'abeilles *Apis mellifera* infestées par le parasite *Varroa jacobsoni* en chambres d'hivernage. L'Abeille. 19(3) : 14-17.
- Gracia-Salinas, M. J., M. Ferrer-Dufol, E. Latorre-Castro, C. Monero Manera, J. A. Castillo-Hernandez, J. Lucientes-Curd and M. A. Peribanez-Lopez (2006). Detection of fluvalinate resistance in *Varroa destructor* in Spanish apiaries. Journal of Apicultural Research 45(3): 101-105.
- Greatti, M., N. Milani, et al. (1992). Reinfestation of an acaricide treated apiary by *Varroa jacobsoni*. Experimental & Applied Acarology 16(4): 279-286.
- Gregorc, A. 2005. Efficacy of oxalic acid and apiguard against varroa mites in honeybee (*Apis mellifera*) colonies. Acta Veterinaria Brno 74: 441-447.
- Gregorc, A., and I. Planinc. 2001. Acaricidal effect of oxalic acid in honeybee (*Apis mellifera*) colonies. Apidologie 32: 333-340.
- Gregorc, A., and I. Planinc. 2005. The control of *Varroa destructor* in honey bee colonies using the thymol-based acaricide - Apiguard. American Bee Journal 145: 672-675.

- Gregoric, A., and I. Planinc. 2002. The control of *Varrao destructor* using oxalic acid. *Veterinary Journal* 163: 306-310.
- Harbo, J. R. and J. W. Harris (1999). Selecting honey bees for resistance to *Varroa jacobsoni*. *Apidologie* 30(2-3): 183-196.
- Harbo, J. R. and J. W. Harris (2005). Suppressed mite reproduction explained by the behaviour of adult bees. *Journal of Apicultural Research* 44(1): 21-23.
- Harris, J. 2007. Bees with *Varroa* Sensitive Hygiene preferentially remove mite infested pupae aged < five days post capping. *Journal of Apicultural Research* 46: 134-139
- Harris, D. 2007. IPM for *Varroa* series. *American Bee Journal* 147: 97-97.
- Hendrickson, R. (2009). The Field Alcohol Wash Provides a Consistent Sampling Method for Determining Colony *Varroa* Mite Loads. *American Bee Journal* 149(1): 55-56.
- Hillesheim, E., W. Ritter and D. Bassans (1996). First data on resistance mechanisms of *Varroa jacobsoni* (OUD) against tau-fluvalinate. *Experimental & Applied Acarology* 20(5): 283-296.
- Hoffmann J.A., J.M. Reichhart and C. Hetru (1996). Innate immunity in higher insects. *Current Opinion in Immunology* 8: 8-13
- Hoffmann J.A., Kafatos F.C., Janeway C.A., Ezekowitz R.A.B. (1999). Phylogenetic perspectives in innate immunity. *Science* 284 1313-1318
- Hoffmann, J.A. (1995). Innate Immunity of Insects. *Current Opinion in Immunology* 7 : 4-10

- Hood W. M. and K. S. Delaplane 2001. Treatment thresholds for Varroa mites. pp. 229-239. In T.C. Webster and K.S Delaplane (eds.). Mites of the honey bee. Dadant & Sons, Hamilton, IL.
- Hoppe, H., W. Ritter, & E. W.-C. Stephen 1989. The control of parasitic bee mites: *Varroa jacobsoni*, *Acarapis woodi*, and *Tropilaelaps clarae* with formic acid. Am. Bee J.129:739–742.
- Ifantidis, M. D. 1983. Ontogenesis of the mite *Varroa jacobsoni* in worker and drone honeybee brood cells. Journal of Apicultural Research 22: 200-206.
- Imdorf A., Bogdanov S., Ibanez Ochoa R., Calderone N.W. 1999. Use of essential oils for the control of *Varroa jacobsoni* (Oud.) in honey bee colonies, Apidologie 30: 209-228
- Imdorf, A., J. D. Charriere, C. Maquelin, V. Kilchenmann, and B. Bachofen. 1996. Alternative varroa control. American Bee Journal 136: 189-193.
- Imdorf, A., Ruoff K. et P. Fluri 2010. Le développement des colonies chez l'abeille mellifère. Éditions Station de recherche Agroscope Liebefeld-Posieux ALP Schwarzenburgstrasse. 67p.
- Imdorf, A., V. Kilchenmann, S. Bogdanov, B. Bachofen, and C. Beretta. 1995. Toxic effects of thymol, camphor, menthol and eucalyptol on *Varroa jacobsoni* Oud and *Apis mellifera* L in a laboratory test. Apidologie 26: 27-31.
- Koeniger, N., G. Koeniger, and N. H. P. Wijayagunasekara. 1981. Observations on the adaptation of *Varroa jacobsoni* to its natural host *Apis cerana* in Sri-Lanka. Apidologie 12: 37-40.

- Kogan M., 1998. Integrated Pest Management. Historical Perspectives and Contemporary Developments. *Annual Review of Entomology*, 43:243-270.
- Korpela, S., A. Aarhus, et al. 1992. *Varroa jacobsoni* Oud. in cold climates: Population growth, winter mortality and influence on the survival of honey bee colonies. *Journal of Apicultural Research* 31(3-4): 157-164.
- Kozac P., L. Eccles, J. Tam, M. Kemper, D. Rawn, E. Guzman and P. Kelly. 2012. Varroa-mite sampling and monitoring infestation levels. OMAFRA Infosheet. Ontario Ministry of agriculture, food and rural affairs.
- Kralj, J. and S. Fuchs 2006 Parasitic *Varroa destructor* mites influence flight duration and homing ability of infested *Apis mellifera* foragers. *Apidologie* 37: 577-587.
- Krantz, G. W., and D.E. Walter 2009. A Manual of Acarology. Third Edition. Texas Tech University Press; Lubbock, Texas, 807 pp
- Kulincevic, J. M., T. E. Rinderer, et al. 1992. 5 year of bidirectional genetic selection for honey bees resistant and susceptible to Vaorra Jacobsoni. *Apidologie* 23(5): 443-452.
- Le Conte Y. et F. Jéanne, 1991. La varroatose. *Bul. Tech. Apic.* 18 (2), 1423-1428.
- Le Conte, Y., M. Ellis and W. Ritter (2010). Varroa mites and honey bee health: can Varroa explain part of the colony losses? *Apidologie* 41(3): 353-363.
- Lecointre G, Le Guyader H. (2001) Classification phylogénétique du vivant, 3ème ed. Belin. 560pp.
- Lee, S-J., Umamo K, Shibamoto T, and Lee K 2005. Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. *Food Chemistry* 91 (1): 131–137



- Lipinski, Z. and J. Szubstarski (2007). Resistance of *Varroa destructor* to most commonly used synthetic acaricides. Polish Journal of Veterinary Sciences 10(4): 289-294.
- Lodesani, M., and M. Costa. 2005. Limits of chemotherapy in beekeeping: development of resistance and the problem of residues. Bee World 86: 102-109.
- Macedo, P. A., M. D. Ellis and B. D. Siegfried (2002). Detection and quantification of fluvalinate resistance in varroa mites in Nebraska. American Bee Journal 142(7): 523-526.
- Martin, S. J. 1994. Ontogeny of the mite *Varroa jacobsoni* Oud in worker brood of the honeybee *Apis mellifera* L under natural conditions. Experimental & Applied Acarology 18: 87-100.
- Martin, S. J. 1995a. Ontogeny of the mite *Varroa jacobsoni* Oud in drone brood of the honeybee *Apis mellifera* L under natural conditions. Experimental & Applied Acarology 19: 199-210.
- Martin, S. J. 1995b. Reproduction of *Varroa jacobsoni* in cells of *Apis mellifera* containing one or more mother mites and the distribution of these cells. Journal of Apicultural Research 34: 187-196.
- Martin, S. J. 1998. A population model for the ectoparasitic mite *Varroa jacobsoni* in honey bee (*Apis mellifera*) colonies. Ecological Modelling 109(3): 267-281.
- Martin, S. J. 2001. The role of Varroa and viral pathogens in the collapse of honeybee colonies: a modelling approach. Journal of Applied Ecology 38: 1082-1093.
- Martin, S. J. 2004. Acaricide (pyrethroid) resistance in *Varroa destructor*. Bee World 85(4): 67-69.

- Martin, S. J., and D. Kemp. 1997. Average number of reproductive cycles performed by *Varroa jacobsoni* in honey bee (*Apis mellifera*) colonies. *Journal of Apicultural Research* 36: 113-123.
- Mattila, H. R. and G. W. Otis (2007). Manipulating pollen supply in honey bee colonies during the fall does not affect the performance of winter bees. *Canadian Entomologist* 139(4): 554-563.
- Mattila, H. R., and G. W. Otis. 1999. Trials of Apiguard, a thymol-based miticide. Part 1. Efficacy for control of parasitic mites and residues in honey. *American Bee Journal* 139: 947-952.
- Mattila, H. R., G. W. Otis, J. Daley, and T. Schulz. 2000. Trials of Apiguard, a thymol-based miticide Part 2. Non-target effects on honey bees. *American Bee Journal* 140: 68-70.
- Mattila, H. R., J. L. Harris, et al. (2001). Timing of production of winter bees in honey bee (*Apis mellifera*) colonies. *Insectes Sociaux* 48(2): 88-93.
- Melathopoulos, A. P., and J. Gates. 2003. Comparison of two thymol-based acaricides, API LIFE VAR (R) and Apiguard (TM), for the control of Varroa mites. *American Bee Journal* 143: 489-493.
- Milani, N. 1999. The resistance of *Varroa jacobsoni* Oud. to acaricides. *Apidologie* 30: 229-234.
- Moritz, R. F. A. (1994). Selection for varroa resistance in honey bees. *Parasitology Today* 10(6): 236-238.
- Mozes-Koch, R., Y. Slabezki, H. Efrat, H. Kalev, Y. Kamer, B. A. Yakobson, and A. Dag. 2000. First detection in Israel of fluvalinate resistance in the varroa mite

- using bioassay and biochemical methods. *Experimental and Applied Acarology* 24: 35-43.
- Mutinelli, F., A. Baggio, F. Capolongo, R. Piro, L. Prandin, and L. Biasion. 1997. A scientific note on oxalic acid by topical application for the control of varroosis. *Apidologie* 28: 461-462.
- Nanetti A., Büchler R., Charrière J.D., Fries I., Helland S., Imdorf A., Korpela S., Kristiansen P. 2003. Oxalic acid treatments for varroa control (review), *Apiacta* 38: 81-87.
- Neumann P., N. L. Carreck. (2010). Honey bee colony losses. *Journal*
- Nozal, M. J., J. L. Bernal, L. A. Gomez, M. Higes, and A. Meana. 2003. Determination of oxalic acid and other organic acids in honey and in some anatomic structures of bees. *Apidologie* 34: 181-188.
- Ostermann, D. J. 2002. Interactions of varroa, *Varroa destructor* Anderson and Trueman, with chalkbrood, *Ascosphaera apis* (Maassen ex Claussen) Olive & Spiltoir, and nosema, *Nosema apis* Zander, in honey bee, *Apis mellifera* L., colonies treated with formic acid and the influence of hive and ambient conditions on formic acid concentration in the hive. M.S. thesis. University of Manitoba Winnipeg, Manitoba, Canada.
- Ostermann, D. J., and R. W. Currie. 2004. Effect of formic acid formulations on honey bee (Hymenoptera : Apidae) colonies and influence of colony and ambient conditions on formic acid concentration in the hive. *Journal of Economic Entomology* 97: 1500-1508.

- Ostiguy, N., and D. Sammataro. 2000. A simplified technique for counting *Varroa jacobsoni* Oud. on sticky boards. *Apidologie* 31: 707-716.
- Palmeri, V., O. Campolo, and L. Zappala. 2007. Evaluation of two methods for applying Apiguard™ in an area with continuous nectar flows and brood rearing. *Journal of Apicultural Research* 46: 105-109.
- Pedigo, L. P., S. H. Hutchins, and L. G. Higley. 1986. Economic injury levels in theory and practice. *Annu. Rev. Entomol.* 31:341-368.
- Pernal, Melathopoulos and van Haga 2007. Biology, Diagnosis and Control of *Nosema apis* and *Nosema ceranae*. Canadian association of professional apiculturist pamphlet. <http://www.capabees.com>.
- Pettis, J. S., and T. Jadczyk. 2005. Detecting coumaphos resistance in *Varroa* mites. *American Bee Journal* 145: 967-970.
- Rademacher, E., and M. Harz. 2006a. Oxalic acid for the control of varroosis in honey bee colonies - a review. *Apidologie* 37: 98-120.
- Rademacher, E., and M. Harz. 2006b. Effectiveness of oxalic acid for controlling the varroa mite. *American Bee Journal* 146: 614-617.
- Rath, W. 1999. Co-adaptation of *Apis cerana* Fabr. and *Varroa jacobsoni* Oud. *Apidologie* 30: 97-110.
- Reich, S. E., S. Fuchs, et al. (1998). Geometric approximation of the infestation of honey bee brood cells by *Varroa jacobsoni* and implications for the estimation of brood infestation, for population models and for the proportion of non-sibling matings. *Journal of Apicultural Research* 37(2): 115-123.

- Rice, N. D., M. L. Winston, and H. A. Higo. 2004. Integrated Pest Management for the parasitic mite *Varroa destructor* (Anderson and Trueman) in colonies of honey bees (*Apis mellifera*). *American Bee Journal* 144: 791-795.
- Rinderer, T. E., W. H. Jeffrey, J. H. Gregory and L. I. De Guzman 2010. Breeding for resistance to *Varroa destructor* in North America. *Apidologie* 41 (3): 409-424.
- Rinderer, T. E., L. I. de Guzman, et al. (2001). Resistance to the parasitic mite *Varroa destructor* in honey bees from far-eastern Russia. *Apidologie* 32(4): 381-394.
- Ritter W. E. Leclerc et W. Koch, 1984. Observations des populations d'abeilles et de *Varroa* dans les colonies à différents niveaux d'infestation. *Apidologie*, 14, 389–400.
- Ritter W., F. Perschil (1982) Controlling *Varroa* Disease with Folbex Va Neu. *Apidologie* 13, 323–324
- Ritter, W., and F. Ruttner. 1981. Development of *Varroa jacobsoni* populations in Hessen. *Apidologie* 12: 73-75.
- Robaux P., 1986. *Varroa* et Varroatose. Editions OPIDA. 238pp.
- Rodriguez-Dehaibes, S. R., G. Otero-Colina, V. P. Sedas, and J. A. V. Jimenez. 2005. Resistance to amitraz and flumethrin in *Varroa destructor* populations from Veracruz, Mexico. *Journal of Apicultural Research* 44: 124-125.
- Rosenkranz, P. 1985. Temperature preference of *Varroa jacobsoni* and distribution of the parasite within the brood nest of *Apis mellifera*. *Apidologie* 16: 213-214.
- Rosenkranz, P., and W. Engels. 1994. Genetic and environmental-influences on the duration of preimaginal worker development in eastern (*Apis cerana*) and

- western (*Apis mellifera*) honey-bees in relation to varroatosis. *Revista Brasileira De Genetica* 17: 383-391.
- Rosenkranz, P., P. Aumeier, and B. Ziegelmann. 2010. Biology and control of *Varroa destructor*. *Journal of Invertebrate Pathology* 103: S96-S119.
- Sammataro, D., G. D. Hoffman, G. Wardell, J. Finley, and N. Ostiguy. 2004. Testing of a combination of control tactics to manage *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) population levels in honey bee (Hymenoptera: Apidae). *International Journal of Acarology* 30: 71-76.
- Sammataro, D., N. Ostiguy and M. Frazier (2002). How to use an IPM sticky board to monitor varroa levels in honey bee colonies. *American Bee Journal* 142(5): 363-366.
- Sammataro, D., P. Untalan, F. Guerrero, and J. Finley. 2005. The resistance of varroa mites (Acari : Varroidae) to acaricides and the presence of esterase. *International Journal of Acarology* 31: 67-74.
- Sammataro, D., U. Gerson, and G. Needham. 2000. Parasitic mites of honey bees: Life history, implications, and impact. *Annual Review of Entomology* 45: 519-548.
- Santé Canada 2010. Projet de décision d'homologation: Le thymol. Publications Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire. PRD 2010-18.
- Satta, A., I. Floris, M. Eguaras, P. Cabras, V. L. Garau, and M. Melis. 2005. Formic acid-based treatments for control of *Varroa destructor* in a Mediterranean area. *Journal of Economic Entomology* 98: 267-273.

- Schulz, A. E. 1984. Reproduction and population-dynamics of the parasitic mite *Varroa jacobsoni* Oud - and its dependence on the brood cycle of its host, *Apis mellifera*. *Apidologie* 15: 401-419.
- Shen, M. Q., L. W. Cui, N. Ostiguy, and D. Cox-Foster. 2005. Intricate transmission routes and interactions between picorna-like viruses (Kashmir bee virus and sacbrood virus) with the honeybee host and the parasitic varroa mite. *Journal of General Virology* 86: 2281-2289.
- Shimanuki, H., N. W. Calderone, and D. A. Knox. 1994. Parasitic mite syndrome - The symptoms. *American Bee Journal* 134: 827-828.
- Skinner, J. A., J. P. Parkman, and M. D. Studer. 2001. Evaluation of honey bee miticides, including temporal and thermal effects on formic acid gel vapours, in the central south-eastern USA. *Journal of Apicultural Research* 40: 81-89.
- Smith R. F., 1978. History and complexity of integrated pest management. pp. 41- 53. In: *Pest control strategies*, E. H. Smith and D. Pimentel (eds.) Academic Press, N. Y. 334 pp
- Stern, V. M., R. F. Smith, R. van den Bosch, and K. S. Hagen. 1959. The integrated control concept. *Hilgardia* 29:81-101.
- Strange, J. P. and W. S. Sheppard (2001). Optimum timing of miticide applications for control of *Varrao destructor* (Acari : Varroidae) in *Apis mellifera* (Hymenoptera : Apidae) in Washington State, USA. *Journal of Economic Entomology* 94(6): 1324-1331.
- Sumpter D. and S. J. Martin (2004) The Dynamics of virus epidemics in varroa infested honey bee colonies. *Journal of Animal Ecology* 73:51-63.

- Szabo T. I. 1998. Progress report on selective breeding of honey bees for resistance to parasitic mites. *American Bee Journal* 138(6): 464-466. *Canadian Beekeeping* 20(5): 103-104.
- Szabo T.I. 1999. Selective breeding of honey bee colonies for resistance to *Varroa jacobsoni* and the effects of management techniques on *Varroa* infestation levels. *American Bee Journal* 139(7):537-540.
- Thompson, H. M., M. A. Brow, R. F. Ball and M.H. Bew (2002). First report of *Varroa destructor* resistance to pyrethroids in the UK. *Apidologie* 33(4): 357-366.
- Tremblay H., 2006. Bilan de la saison apicole 2006. Bulletin zoo sanitaire RAIZO
- Trouiller, J. 1998. Monitoring *Varroa jacobsoni* resistance to pyrethroids in western Europe. *Apidologie* 29: 537-546.
- Underwood R. M. and R. W. Currie 2009. Indoor winter fumigation with formic acid for control of *Acarapis woodi* (Acari: Tarsonemidae) and nosema disease, *Nosema sp.* *J Econ Entomol.* 102(5):1729-36.
- Underwood, R. M., and R. W. Currie. 2003. The effects of temperature and dose of formic acid on treatment efficacy against *Varroa destructor* (Acari : Varroidae), a parasite of *Apis mellifera* (Hymenoptera : Apidae). *Experimental and Applied Acarology* 29: 303-313.
- Underwood, R. M., and R. W. Currie. 2004. Indoor winter fumigation of *Apis mellifera* (Hymenoptera : Apidae) colonies infested with *Varroa destructor* (Acari : Varroidae) with formic acid is a potential control alternative in northern climates. *Journal of Economic Entomology* 97: 177-186.



- Underwood, R. M., and R. W. Currie. 2005. Effect of concentration and exposure time on treatment efficacy against varroa mites (Acari : Varroidae) during indoor winter fumigation of honey bees (Hymenoptera : Apidae) with formic acid. *Journal of Economic Entomology* 98: 1802-1809.
- Underwood, R. M., and R. W. Currie. 2007. Effects of release pattern and room ventilation on survival of varroa mites and queens during indoor winter fumigation of honey bee colonies with formic acid. *Canadian Entomologist* 139: 881-893.
- Underwood, R. M., and R. W. Currie. 2008. Indoor winter fumigation with formic acid does not have a long-term impact on honeybee (Hymenoptera : Apidae) queen performance. *Journal of Apicultural Research* 47: 108-112.
- Vanengelsdorp, D., R. M. Underwood, and D. L. Cox-Foster. 2008. Short-term fumigation of honey bee (Hymenoptera : Apidae) colonies with formic and acetic acids for the control of *Varroa destructor* (Acari : Varroidae). *Journal of Economic Entomology* 101: 256-264.
- Varshneya, I., A. K. Pandey, et al. (2007). Effect of weather parameters on brood development of European honey bee, *Apis mellifera* Linn. in different seasons. *Journal of Entomological Research (New Delhi)* 31(4): 347-354.
- Wantuch, H. A., and D. R. Tarpy. 2009. Removal of Drone Brood From *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) Colonies to Control *Varroa destructor* (Acari: Varroidae) and Retain Adult Drones. *Journal of Economic Entomology* 102: 2033-2040.

- Webster T.C. 2001. Detection and measurement of Varroa populations, pp. 163-178.  
In T.C. Webster and K.S Delaplane (eds.). Mites of the honey bee. Dadant & Sons, Hamilton, IL.
- Westcott, L. C., and M. L. Winston. 1999. Chemical acaricides in *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) colonies; do they cause nonlethal effects? Canadian Entomologist 131: 363-371.
- Wilde, J., K. Romaniuk, M. Siuda, and B. Bak. 2003. Evaluation of the attractiveness of broods of select subspecies of honeybee for *Varroa destructor* females. Medycyna Weterynaryjna 59: 726-727.
- Wilkinson, D., and G. C. Smith. 2002. Modeling the efficiency of sampling and trapping *Varroa destructor* in the drone brood of honey bees (*Apis mellifera*). American Bee Journal 142: 209-212.
- Zimmer 1999. L'abeille Buckfast en questions.  
<http://perso.fundp.ac.be/~jvandyck/homage/artcl/zimmchap1.html>.

