

COMPTE RENDU

Emploi d'huiles essentielles dans la lutte contre *Varroa destructor* en 2011 et 2012

Rédaction :

Alexandre Dangléant

Coordination :

Julien Vallon

Mai 2014

REMERCIEMENTS

L'ITSAP-Institut de l'abeille tient à remercier SupAgro Montpellier ainsi que les Associations régionales de développement apicole ayant participé aux essais coordonnés :



*Association de
Développement de
l'Apiculture en Aquitaine*



*Association de
Développement de
l'Apiculture
en Midi-Pyrénées*



*Association pour le
Développement de
l'Apiculture provençale*



*Association pour
le Développement de
l'Apiculture Rhônealpine*



*Association de
Développement de
l'Apiculture du Centre*



*Association de
Développement de
l'Apiculture professionnelle
en Languedoc-Roussillon*

SOMMAIRE

PARTIE I : EMPLOI D'HUILES ESSENTIELLES PAR NOURRISEMENT (ESSAI COORDONNÉ 2011)	7
1. Introduction	7
2. Protocole expérimental	7
A. Colonies mises en expérimentation	7
B. Confection et application des sirops de nourrissage.....	7
C. Traitement de contrôle.....	7
D. Observations.....	8
E. Calendrier de l'expérimentation.....	8
F. Evaluation des traitements	8
3. Analyse des chutes de varroas	9
A. Infestation	9
B. Efficacité	9
C. Varroas résiduels.....	10
D. Résumé des résultats issus des comptages de varroas.....	10
4. Effet des covariables sur l'efficacité	11
A. Recherche de liens entre infestation et efficacité	11
B. Effet de la durée de prise du sirop sur l'efficacité	11
C. Effet de la surface du couvain sur l'efficacité	12
D. Modélisation linéaire généralisée.....	12
5. Effets des traitements sur les colonies	13
A. Variation du poids des ruches	13
B. Mortalité des abeilles.....	14
6. Conclusion de l'expérimentation 2011	14
PARTIE II : EMPLOI D'HUILES ESSENTIELLES PAR DIFFUSEUR (ESSAI COORDONNÉ 2012)	15
1. Introduction	15
2. Protocole expérimental	15
A. Similitudes avec le protocole de 2011.....	15
B. Préparation des solutions d'huiles essentielles.....	15
C. Caractéristiques du diffuseur	15
D. Différences dans le traitement de données.....	16
3. Analyse des chutes de varroas	16
A. Infestation des colonies	16
B. Efficacité	17
C. Varroas résiduels.....	17
4. Effets des traitements sur les colonies	18
A. Variation du poids des ruches	18
B. Mortalité d'abeilles	18
5. Conclusion générale	19

PARTIE I : EMPLOI D'HUILES ESSENTIELLES PAR NOURRISEMENT (ESSAI COORDONNÉ 2011)

1. Introduction

L'ITSAP-Institut de l'abeille a sollicité l'Unité de services, d'analyses et d'expertises (USAE) de Montpellier SupAgro en vue de créer un partenariat et de réaliser une étude sur la base des résultats obtenus lors du projet « Essais d'acaricides synthétiques et naturels contre *Varroa destructor* Anderson & Trueman 2000, parasite des colonies d'abeilles domestiques ». Lors de cette étude, financée dans le cadre du programme communautaire apicole 2007-2010 et menée par Montpellier SupAgro (Marc-Edouard COLIN, Bertille PROVOST, Candice DESCHAMPS, Serge KREITER), l'USAE a révélé l'efficacité en action directe de deux huiles essentielles chémotypées (HECT) :

- l'huile obtenue à partir des sommités fleuries de l'origan d'Espagne (*Corydothymus capitatus*) dont le constituant principal est le carvacrol ;
- l'huile obtenue à partir du fruit de l'anis vert (*Pimpinella anisum*) dont le constituant principal est le trans-anéthole.

Dans le projet initial, les huiles essentielles sont délivrées à des essais *via* un sirop de nourrissage dans lequel elles sont diluées. À l'issue des discussions sur les conditions d'emploi des huiles essentielles, le groupe de travail inter-associations de développement apicole (ADA) animé par l'ITSAP-Institut de l'abeille s'est orienté vers le test de ces composés en traitement curatif de fin de saison en conservant le mode d'administration par nourrissage. Pour cela, trois ADA – l'ADAPRO LR (Languedoc-Roussillon), l'ADARA (Rhône-Alpes) et l'ADAPIC (Centre) – ont mis en œuvre cette expérimentation ayant pour objectif de tester l'effet de ces huiles essentielles sur la mortalité de *Varroa* en fin de saison et d'observer leurs effets sur des colonies d'*Apis mellifera*.

2. Protocole expérimental

A. Colonies mises en expérimentation

Chacune des deux HECT est testée sur un lot de cinq colonies d'abeilles. Les colonies choisies devaient répondre aux critères suivants : être populeuses, en bon état sanitaire hormis un niveau significatif d'infestation en varroas et avoir une reine en bonne dynamique de ponte.

B. Confection et application des sirops de nourrissage

Les solutions mères d'huile essentielle d'anis vert et d'origan d'Espagne ont été acquises auprès de PRANARÔM International (Belgique). Afin de les intégrer aux sirops de nourrissage, ces solutions ont été émulsifiées par Marc-Edouard COLIN (Montpellier SupAgro) à hauteur de 20 g d'huile essentielle pour 20 g de lécithine de soja. Les solutions filles ainsi obtenues ont été réparties entre les ADA participantes, qui les ont ensuite mélangées à 20 L de sirop Butiforce® dilué à 50 %. Chaque colonie a reçu deux nourrissages de 2 L de sirop délivrés à une semaine d'intervalle (soit 4 g d'HECT au total).

C. Traitement de contrôle

Afin de procéder au calcul de l'efficacité de chaque huile essentielle, un traitement de contrôle a été réalisé au terme de la période de latence : chaque colonie a reçu deux cartons imprégnés d'une solution diluée de Tactic® (amitrazé), dosé à 7 % dans l'huile alimentaire, placés dans la grappe d'abeilles au niveau du couvain. Deux applications ont été effectuées à une semaine d'intervalle.

D. Observations

La consommation partielle ou complète du sirop de nourrissage par les colonies a été observée. En cas de consommation complète, le temps nécessaire à cette consommation a été relevé.

Les surfaces de couvain présent au sein des colonies ont été mesurées à la règle sur chaque face de chaque cadre de corps. Les proportions de couvain ouvert et de couvain fermé ont également été estimées. Enfin, des observations ont été réalisées concernant les arrêts de ponte et la présence de cellules royales.

La mortalité des abeilles devant les ruches a été estimée visuellement à chaque visite pour signaler une situation anormale. Le cas échéant, les abeilles mortes ont été nettoyées après observation.¹

Les comptages de chutes de varroas ont été réalisés à l'aide de langes graissés et placés sous les ruches dans un compartiment interdisant le nettoyage par les abeilles.

Enfin, les ruches ont été pesées avant le premier nourrissage (mise en place) et à la fin des comptages (démontage).

E. Calendrier de l'expérimentation

L'expérimentation a commencé en fin de saison apicole, et donc à une date propre à chaque région. En effet, la première application d'huile essentielle par nourrissage a été réalisée le 22 août 2011 en région Rhône-Alpes, le 12 août 2011 en région Centre, et le 25 septembre 2011 en Languedoc-Roussillon. Par la suite, ces jours ont servi à la datation relative des événements rythmant l'expérimentation, à partir donc de J0. Le déroulement de l'expérimentation peut ainsi être résumé par un calendrier valable pour toutes les régions (Tableau I).

Tableau I. Calendrier des actions de terrain.

	J0	J7	J14	J21	J28	J35	J42
Applications d'huile	X	X					
Traitement de contrôle				X	X		
Comptages des varroas		X	X	X	X	X	Si plus de 10 varroas/lange à J35
Pesée	X						Au démontage
Observations de la ponte	X	X		X	X		
Mesure de la surface de couvain	X						

F. Évaluation des traitements

L'évaluation des traitements se fait à l'aide de trois critères principaux : l'infestation, les varroas résiduels et l'efficacité. L'infestation fait référence à l'ensemble des chutes de varroas morts dénombrés sur les langes de chaque ruche tout au long de l'expérimentation. Cette somme permet en effet d'avoir une idée du nombre de varroas initialement présents dans les ruches. Étant donné la durée de l'expérimentation, il est entendu qu'il ne s'agit pas là d'une estimation précise, principalement en raison de la reproduction de varroa au cours de ces 42 jours. Les varroas résiduels correspondent aux varroas dont la chute a eu lieu après la première application du traitement de contrôle, et qui ont donc survécu dans les colonies à l'issue des traitements testés. Enfin, l'efficacité des traitements, exprimée en pourcentage, est donnée par le rapport entre les chutes de varroas avant le traitement de contrôle et l'infestation, comme indiqué dans la formule suivante :

$$\text{Efficacité} = \frac{\text{varroas hors contrôle}}{\text{Infestation}} \times 100$$

¹ Cela n'a été fait qu'en région Centre (ADAPIC)

Les efficacités obtenues pour chaque huile essentielle sont comparables au sein de chaque site, mais variable d'un site à l'autre avec des médianes d'environ 30 % d'efficacité en région Rhône-Alpes, 55 % en Languedoc-Roussillon et 70 % en région Centre. **De manière générale, ces efficacités peuvent être considérées comme nettement insuffisantes sur l'ensemble des colonies de l'essai par rapport aux traitements classiquement utilisés en fin de saison apicole (efficacité avoisinant les 95 %).**

C. Varroas résiduels

Le nombre de varroas résiduels est un critère clé pour juger de la pertinence d'un traitement. En effet, de ce nombre dépend la capacité de reproduction et donc de renouvellement de la population de varroas des colonies après le traitement. En conséquence, plus le nombre de varroas résiduels sera élevé, plus la pression qu'exercera le parasite sur les colonies lors de la saison suivante sera importante. Le tableau II présente les nombres moyens et minimums de varroas résiduels comptés par chaque ADA et pour chaque huile essentielle.

Tableau II. Moyennes et minima du nombre de varroas résiduels par ADA.

	Anis vert		Origan d'Espagne	
	Moyenne	Minimum	Moyenne	Minimum
ADAPIC	1 166	400	785	506
ADAPRO LR	878	747	1 319	648
ADARA	6 306	329	2 592	1 120

Il est souvent admis qu'un traitement efficace ne laisse pas plus de 50 varroas présents par colonie à son issue. Or, le nombre minimum ici obtenu est de 329 varroas sur les colonies recevant l'huile essentielle d'anis vert suivies par l'ADARA. **De manière générale, l'ensemble de ces valeurs moyennes et minimales indiquent qu'aucun des deux sirops de nourrissage supplémentés avec les huiles essentielles n'a permis de juguler convenablement l'infestation en varroas.**

D. Résumé des résultats issus des comptages de varroas

Le Tableau III offre un récapitulatif complet des résultats obtenus sur chaque lot en termes d'infestation, d'efficacité et de varroas résiduels.

Tableau III. : Moyennes des variables d'études obtenues par ADA.

	Anis vert			Origan d'Espagne		
	Infestation	Varroas résiduels	Efficacité	Infestation	Varroas résiduels	Efficacité
ADAPIC	3 254	1 166	64,8	3 151	785	73,7
ADAPRO LR	1 765	878	50,4	2 976	1 319	55,4
ADARA	8 745	6 306	38,3	3 481	2 592	25,7
Moyenne	4 588	2 783	51,2	3 203	1 565	51,6

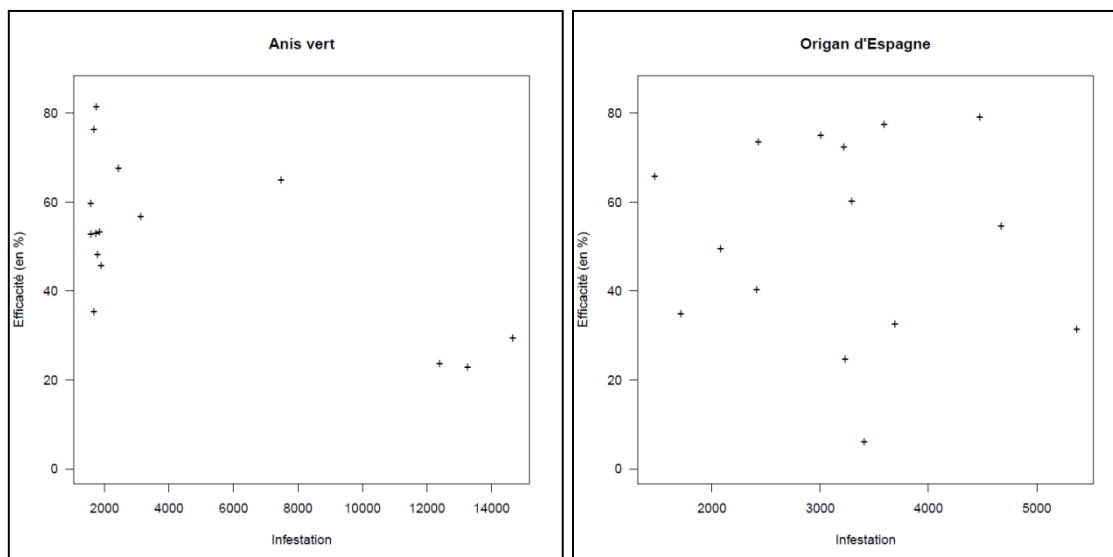
Il apparaît qu'en Rhône-Alpes, où l'infestation a été la plus élevée, les traitements ont eu l'efficacité la plus basse. Sur la base de ces résultats, il est difficile de discriminer une huile essentielle par rapport à l'autre, le classement des huiles entre elles varie en fonction des régions. Cependant, **avec la méthode d'application employée, l'efficacité de ces huiles essentielles se révèle systématiquement insuffisante pour qu'elles soient intégrées aux moyens de luttés contre *Varroa destructor* en fin de saison.**

4. Effet des covariables sur l'efficacité

A. Recherche de liens entre infestation et efficacité

Afin de relever l'existence éventuelle de liens entre efficacité et infestation, évoquée dans le paragraphe précédent, la mise en relation de ces deux paramètres pour chaque huile essentielle a été étudiée et réalisée par la figure 3.

Figure 3. Mise en relation de l'infestation (en abscisse) et de l'efficacité (en ordonnée).

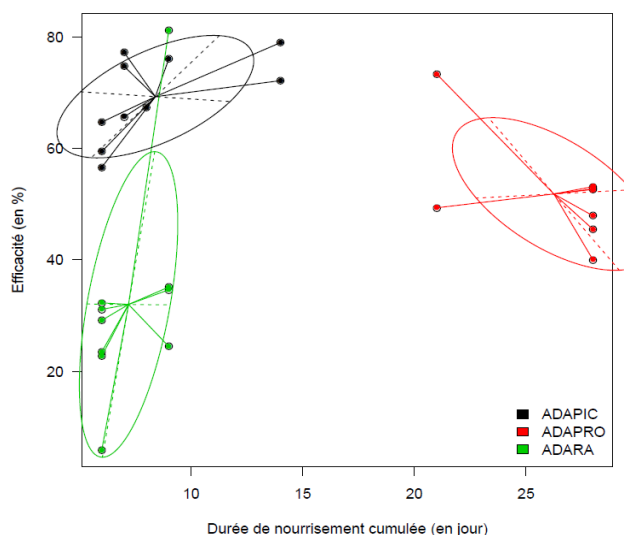


Sur le graphique de gauche, une large gamme d'efficacité (de 40 à 80 % environ) correspond à un même niveau d'infestation (environ 2 000 varroas), tandis que sur le graphique de droite, le nuage de point ne révèle aucune corrélation. Cette visualisation incite à réfuter l'existence de liens entre l'infestation et l'efficacité pour chacune de ces huiles essentielles. Cette affirmation est confirmée par des coefficients de corrélations faibles ($R^2 = 0,46$ pour l'anis vert et $0,004$ pour l'origan d'Espagne).

B. Effet de la durée de prise du sirop sur l'efficacité

La durée de prise du sirop permet d'avoir une idée de la vitesse d'assimilation des huiles essentielles par les abeilles. Comme cette durée est variable d'une ruche à l'autre, il est intéressant de regarder si un lien existe entre le temps mis par une colonie à consommer le sirop et l'efficacité du traitement appliqué sur celle-ci au terme de l'expérience (figure 4).

Figure 4 : Efficacité en fonction du temps de consommation du sirop de nourrissage cumulée sur les deux applications. Les ellipses regroupent les résultats par site et sont centrées sur les valeurs moyennes de ces regroupements.

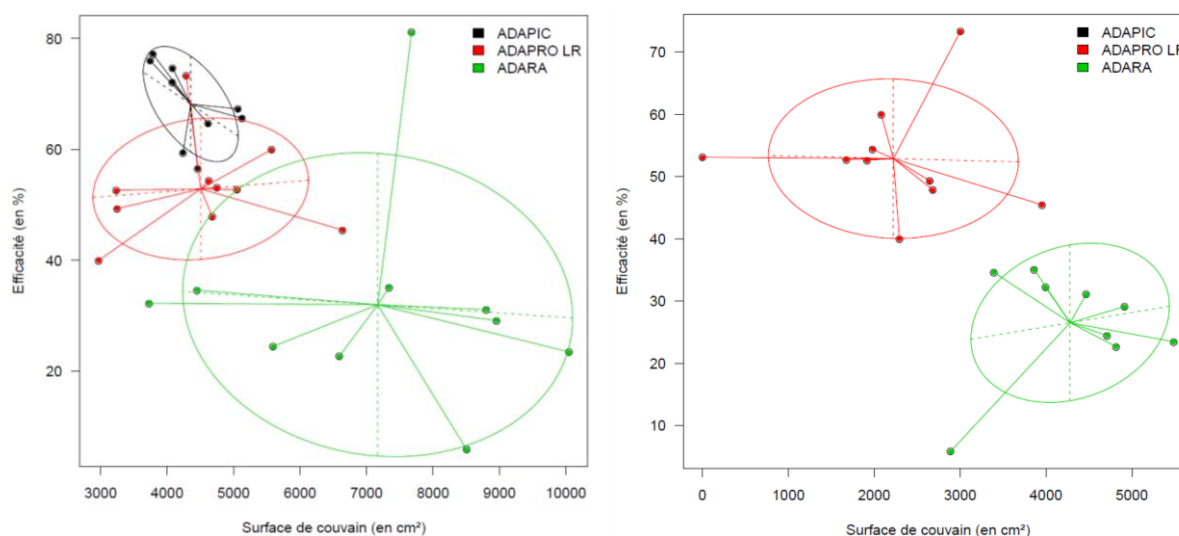


La durée cumulée de nourrissage n'a vraisemblablement aucun impact sur l'efficacité des traitements testés. En effet, dans la majorité des cas, le sirop a été consommé en moins de dix jours par des colonies chez lesquelles l'amplitude d'efficacité varie de 6 % à 81 %. D'autre part, les efficacités obtenues sur les colonies de l'ADAPRO LR et qui sont les seules à avoir mis plus de vingt jours à consommer le sirop, se trouvent dans une gamme de valeurs intermédiaires (soit de 40 % à 73 %).

C. Effet de la surface du couvain sur l'efficacité

Les surfaces de couvain avant et après le premier nourrissage sont des paramètres susceptibles d'influencer l'efficacité des traitements.

Figure 5. Efficacité en fonction de la surface totale de couvain avant (à gauche) et après (à droite) le premier nourrissage.



Il apparaît que pour une valeur de surface donnée, une large gamme d'efficacité est représentée. À l'inverse, les colonies suivies par l'ADARA présentent une large gamme de surface de couvain pour une efficacité comprise entre 30 et 40 % environ. Ces deux constats peuvent suffire à rejeter l'existence de liens entre ces deux variables. La même démarche a été réalisée en distinguant le couvain ouvert du couvain fermé et a abouti au même résultat infructueux.

D. Modélisation linéaire généralisée

Une autre approche pour appréhender les liens entre une variable réponse, comme le nombre de varroas résiduels par exemple, et des variables explicatives, comme la durée de nourrissage, le lieu d'étude, ou encore la surface de couvain lors de la première application d'un traitement, consiste à réaliser un modèle linéaire généralisé. L'avantage de cette approche est d'intégrer dans une même analyse de nombreux paramètres. Un tel modèle est généralement caractérisé par une valeur d'indice (le plus souvent nommé AIC pour "Akaike Information Criterion") renseignant sur son adéquation avec la variable réponse, et permettant ainsi de juger du « gain » apporté par une variable explicative par rapport aux autres. Dans le cas présent, le modèle repose sur une loi de poisson caractérisée par une sur-dispersion importante de la variable réponse (p.valeur < 0.01 au test de dispersion à l'aide du logiciel R, package "AER"), ce qui interdit le calcul de cet indice. Cependant, en considérant les fluctuations de la variance résiduelle du modèle, c'est-à-dire les variations non expliquées, il est possible de tester l'intérêt d'une variable pour un modèle dans un premier temps (Tableau IV), puis de voir si et comment elle va influencer la réponse (Tableau V).

Tableau IV. Participation de chaque variable explicative à la diminution de la variance résiduelle (deviance).

	Deviance	Scaled dev.	Pr (>Chi)	
<none>	1224,9			
ADA	3144,4	26,2527	2,995e-07	***
Hulle utilisée	1236,2	0,1536	0,69509	
Durée de prise du sirop	1680,6	6,2322	0,01254	*
Couvain fermé (J0)	1359,0	1,8338	0,17568	
Couvain ouvert (J0)	1319,9	1,2990	0,25439	

Signif. Codes : 0 '***' 0,001 '**' 0,01 '*' 0,05 '.' 0,1 ' ' 1

L'appartenance des colonies à l'une ou l'autre des ADA et la durée de prise de sirop sont les seules variables qui contribuent significativement à l'ajustement du modèle. Ceci confirme les commentaires fait auparavant quant aux faibles différences existantes entre l'efficacité des deux huiles essentielles, ce paramètre étant rejeté. Par principe de parcimonie (qui préconise de favoriser le modèle le plus simple), seules ces deux variables sont conservées. Les résultats issus de ce modèle simplifié sont résumés ci-dessous.

Tableau V. Résultats obtenus en modélisant le nombre de varroas résiduels en fonction de l'ADA considérée et du temps mis par la colonie à consommer le sirop de nourrissage.

	Estimate	Std. Error	t value	Pr (> t)	
ADAPIC	-1,00886	0,17773	-5,676	7,59e-06	***
ADAPRO LR	0,82984	0,35292	2,351	0,0273	*
ADARA	0,82898	0,10351	8,009	3,10e-08	***
Durée de prise du sirop	-0,02153	0,01866	-1,154	0,2600	

Signif. Codes : 0 '***' 0,001 '**' 0,01 '*' 0,05 '.' 0,1 ' ' 1

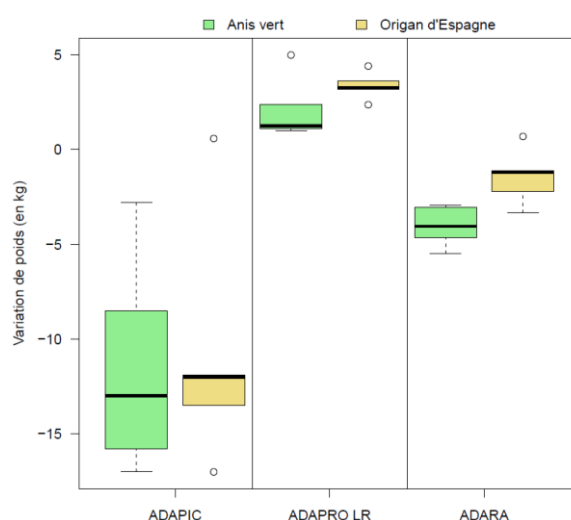
Finalement, la durée de consommation du sirop ne semble pas avoir d'impact sur le nombre de varroas résiduels et, par extension, sur l'efficacité. **Ainsi, cette modélisation confirme la prédominance de l'appartenance des ruches à l'une ou l'autre des ADA dans l'explication du nombre de varroas résiduels par colonie.**

5. Effets des traitements sur les colonies

A. Variation du poids des ruches

L'effet des traitements sur les colonies peut être appréhendé dans un premier lieu par la variation de poids de chaque ruche.

Figure 6. Variation du poids des ruches regroupées par ADA.



Sur la figure 6, l'ADAPIC semble s'individualiser par une importante diminution du poids des ruches en comparaison des autres sites. Au contraire, l'ADAPRO LR est le seul site où ce poids est à la hausse entre le début et la fin de l'expérimentation. Si l'anis vert semble entraîner une diminution plus marquée en comparaison de l'origan d'Espagne sur l'ADAPRO LR et l'ADARA, cette différence n'est significative qu'en Languedoc-Roussillon (test des rangs de Wilcoxon, au seuil de 5 %), ce qui ne suffit pas à conclure à un effet marqué.

B. Mortalité des abeilles

Concernant la mortalité des abeilles pendant et en fin de traitement, seules les colonies de l'ADAPIC ont été observées et quantifiées. Pour l'origan d'Espagne, jusqu'à 50 abeilles mortes ont été comptées sur une colonie, pour un total de 120 pour l'ensemble de ce lot, contre 1220 au total pour le lot anis vert, deux colonies étant à 300 et à 500 ouvrières mortes. Il est donc possible que l'anis vert soit davantage préjudiciable aux abeilles en comparaison à l'origan d'Espagne. Cet impact aurait néanmoins besoin d'être plus amplement étudié étant donné le peu de colonies utilisées.

6. Conclusion de l'expérimentation 2011

En résumé, l'effet varroacide des huiles essentielles chémotypées d'anis vert et d'origan d'Espagne administrées dans le sirop de nourrissage en fin de saison s'est révélé insuffisant pour qu'elles représentent des alternatives viables dans la lutte contre le varroa. En effet, leur efficacité moyenne avoisine les 50 %, ce qui est loin des 95 % attendus pour un traitement adapté à la fin de saison.

Ni la durée de consommation du sirop de nourrissage par les colonies, ni les surfaces de couvain, ni même l'infestation n'ont permis de comprendre les défauts et les variations de l'efficacité.

Au niveau des effets sur les ruches, l'anis vert semble avoir entraîné une mortalité anormale sur les ouvrières. Étant donné le faible nombre de colonies suivies pour ces observations (soit 5), cet effet demande à être confirmé.

Malgré ces résultats décevants, les efficacités obtenues à l'ADAPIC (environ 70 %) ont encouragé le groupe de travail à continuer les essais, en remaniant toutefois la modalité d'emploi.

PARTIE II : EMPLOI D'HUILES ESSENTIELLES PAR DIFFUSEUR (ESSAI COORDONNÉ 2012)

1. Introduction

Dans la continuité de l'étude précédente, une deuxième expérimentation a été réalisée à la fin de la saison apicole 2012 afin de tester une autre méthode d'application des mêmes huiles essentielles basée sur l'emploi de diffuseurs.

2. Protocole expérimental

A. Similitudes avec le protocole de 2011

Le protocole de cette expérimentation est calqué sur celui de 2011 concernant : le choix des colonies mises en expérimentation ; le traitement de contrôle ; les observations ; le calendrier des interventions (déroulement similaire de J0 à J42).

Outre la modalité d'application des huiles essentielles et l'ajout d'un lot de colonies sur lequel un placebo a été appliqué, seules les ADA participantes ont changé. Cet essai a en effet été mené en coordination entre l'ITSAP-Institut de l'abeille et l'ADAPRO LR (Languedoc-Roussillon), l'ADAM (Midi-Pyrénées), l'ADAAQ (Aquitaine), ADARA (Rhône-Alpes) et l'ADAPI (PACA). Comme précédemment, 5 colonies par lot (anis vert, origan d'Espagne et placebo) ont été mises en test, pour un total de 15 colonies par ADA. Comme l'année précédente, chaque ADA a fait coïncider le début de l'expérimentation avec la fin de saison apicole dans sa région. Ainsi, l'essai commun de 2012 s'est déroulé du 17/08/2011 au 25/09/2011 à l'ADARA, du 23/08/2011 au 27/09/2011 à l'ADAAQ, du 14/09/2011 au 19/10/2011 à l'ADAPI, du 21/09/2011 au 26/10/2011 à l'ADAM et du 10/09/2011 au 15/10/2011 à l'ADAPRO LR (la durée supérieure de l'essai pour cette ADA se justifie par des chutes très importantes de varroas comptés lors du dernier comptage à J42).

En conséquence, seule la méthode d'application par diffuseur est donc décrite dans cette partie. Pour le reste, le lecteur peut se référer au protocole expérimental de la partie I.

B. Préparation des solutions d'huiles essentielles

Les huiles essentielles d'anis vert et d'origan d'Espagne ont été mélangées à un dispersant du commerce, le Polysorbate 20®. Pour cela, 100 g de chacune de ces huiles ont été dilués dans une solution contenant 500 ml de Polysorbate 20® et 500 ml d'eau minérale. La solution ainsi obtenue avait une concentration de 1 g/L et 15 ml ont été appliqués à deux reprises à une semaine d'intervalle sur le diffuseur.

C. Caractéristiques du diffuseur

Les diffuseurs ont été réalisés à partir de morceaux de mousse de polyuréthane Oasis® découpés aux dimensions de 3,75 x 5,5 x 6 mm. Un morceau par colonie est placé sur les têtes de cadre au centre de la ruche et a été imbibé de 15 ml de la solution d'huile essentielle diluée à chaque application. Au total, 30 ml de solution ont été appliqués, ce qui représente une quantité totale de 3 g d'huile essentielle délivrés pour chaque colonie. Pour le lot témoin, le placebo consiste à appliquer de l'eau.

D. Différences dans le traitement de données

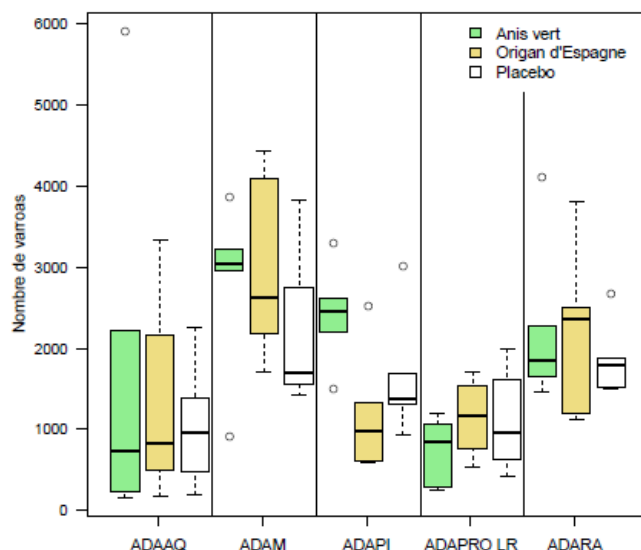
Comme cela sera démontré par la suite, les efficacités obtenues avec ce mode d'application des huiles essentielles sont très faibles. À tel point que la démarche entreprise dans la partie 0 relative à l'essai commun de 2011 ne présente pas beaucoup d'intérêt pour cet essai de 2012. En effet, le but était alors de rechercher un lien entre des pertes d'efficacités et différents paramètres relatifs aux conditions dans lesquels le nourrissage était réalisé, comme l'étendue de la surface de couvain au sein des colonies ou encore le temps que chaque colonie a mis pour consommer le sirop de nourrissage dans lequel les huiles essentielles étaient diluées. Ici, l'efficacité ne s'est jamais révélée importante, le maximum atteint étant 60 % sur le lot placebo. Dès lors, cette démarche n'a plus de fondement et il faut simplement considérer que les huiles essentielles chémotypées d'anis vert et d'origan d'Espagne appliquées par ces diffuseurs n'ont pas ou peu d'effet sur varroa, quelles que soient les conditions d'emploi.

3. Analyse des chutes de varroas

A. Infestation des colonies

La figure 7 présente l'infestation des colonies regroupées en fonction de l'appartenance des ruches aux différentes ADA et en fonction du lot considéré.

Figure 7. Infestation par ADA.

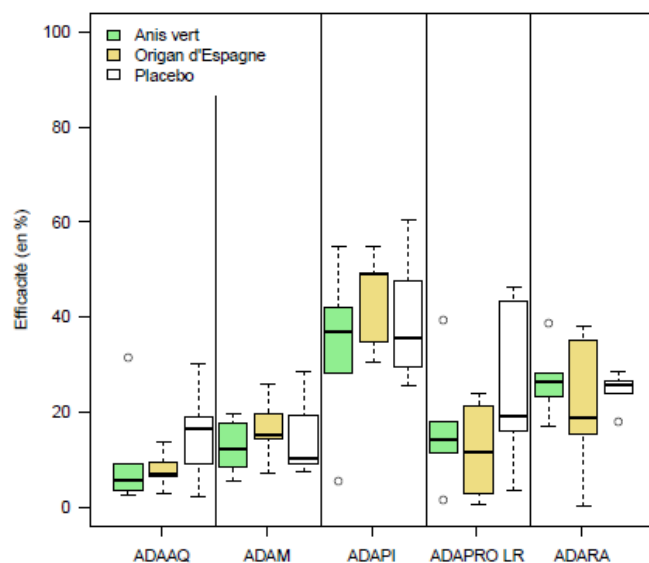


L'infestation correspond ici au total des chutes de varroas comptés du début à la fin de l'étude, incluant donc la reproduction de la population de varroas. Cette démarche repose sur l'hypothèse que la mortalité d'adultes varroas capables de se reproduire entraînée par le traitement diminue l'infestation. Or, les infestations obtenues sur les colonies des lots anis vert et origan d'Espagne ne sont jamais nettement inférieures à celles des colonies recevant le placebo. Donc les huiles essentielles n'ont pas eu l'effet escompté sur *V. destructor*. Du reste, des différences importantes apparaissent d'une région à l'autre, notamment à l'ADAM où l'infestation est supérieure.

B. Efficacité

Les efficacités obtenues par lot et sur chaque site sont résumées sur la figure 8.

Figure 8. Efficacité par ADA.



L'efficacité des huiles essentielles appliquées par diffuseur se révèle souvent inférieure à celle de l'eau (placebo). Dans les ruchers de l'ADAPI, les efficacités sont supérieures à celles obtenues sur les autres sites, mais, comme dans les autres régions, l'effet des huiles essentielles reste non discriminable par rapport à celui du placebo.

C. Varroas résiduels

Les varroas résiduels, dénombrés lors des comptages réalisés après le traitement de contrôle, demeurent le principal critère de jugement du succès de traitement. Le Tableau VI présente le nombre moyen de ces varroas résiduels obtenus sur chacun des lots de chaque ADA.

Tableau VI. Moyennes du nombre de varroas résiduels obtenues par ADA.

	Anis vert		Origan d'Espagne		Placebo	
	Moyenne	Minimum	Moyenne	Minimum	Moyenne	Minimum
ADAAQ	1 451	156	1 270	169	862	156
ADAM	2 400	863	2 497	1 470	1 853	1 307
ADAPI	1 564	1 108	682	275	1 032	492
ADAPRO LR	635	151	1 052	408	814	241
ADARA	1 664	1 012	1 628	970	1 426	1 080

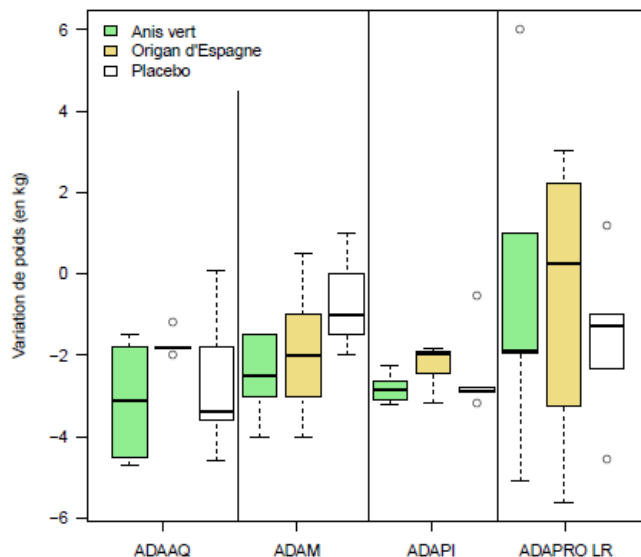
En lien avec les faibles efficacités, le nombre de varroas résiduels est systématiquement élevé, avec un minimum de 682 varroas comptés pour les colonies traitées avec l'origan d'Espagne à l'ADAPI et un maximum de 2 400 pour celles traitées avec l'anis vert à l'ADAM. **Là encore, les huiles essentielles administrées par diffuseur montrent leur incapacité à diminuer suffisamment la population de varroas au sein de chaque colonie.**

4. Effets des traitements sur les colonies

A. Variation du poids des ruches

La figure 9 présente les variations de poids mesurées sur chaque lot de chaque ADA. Les pesées de fin d'expérimentation n'ont pas été réalisées par l'ADARA. Ce site n'est donc pas représenté ici.

Figure 9. Variation du poids des ruches par ADA.



Bien peu de différences dans la variation du poids des ruches apparaissent entre les traitements au sein de chaque site. L'ADAPRO LR peut éventuellement se démarquer par une variabilité plus importante pour les traitements à base d'anis vert et d'origan comparativement aux autres sites. Les comparaisons deux à deux des huiles essentielles avec le placebo ne se sont pas révélées significatives (test des rangs de Wilcoxon, au seuil de 5 %). **En conséquence, l'application de ces huiles essentielles par diffuseur n'entraîne pas de consommation accrue des réserves des colonies dans nos conditions expérimentales.**

B. Mortalité d'abeilles

Pour cet essai, les observations de mortalité d'abeille n'imposaient pas de quantification. Ces observations devaient en effet être notées « R.A.S. » pour « Rien à signaler », « + », « ++ » ou « +++ » selon l'importance de la mortalité (Tableau VII).

Tableau VII. Nombre de colonies par catégorie de mortalités d'abeilles.

	Anis vert	Origan d'Espagne	Placebo
R.A.S.	21	21	23
+	1	0	0
++	1	3	0
+++	2	0	0

Seules sept colonies présentaient une mortalité anormale d'abeilles, à part quasiment égales entre les deux traitements (4 pour l'anis vert et 3 pour l'origan d'Espagne). Il convient de préciser que ces colonies proviennent uniquement de l'ADAAQ et de l'ADAM. Enfin, deux colonies « ++ » relevées sur l'ADAAQ étant positionnées côte-à-côte, il n'est pas exclu qu'une seule ruche soit concernée.

Bien que cela n'ait pas été imposé par le protocole, l'ADAM a fourni une quantification des mortalités observées sur ses colonies. Ces données ont été utilisées à titre indicatif pour apporter des précisions sur les catégories de mortalité anormales employées. Ainsi, l'observation « + » correspond à un nombre moyen

d'abeilles mortes de 514 environ, « ++ » correspond à 702 et enfin « +++ » à 1 998 cadavres. Plus précisément, cette dernière observation n'a été réalisée que deux fois et correspond à respectivement 1 264 et 2 732 abeilles mortes.

Malgré ces nombres, il reste délicat de conclure à un effet délétère des huiles essentielles sur les ouvrières car seules deux ADA sont concernées par ces mortalités anormales et leur cause peut donc être extérieure aux traitements. Néanmoins, l'huile essentielle d'anis vert semble davantage préjudiciable aux abeilles, ici comme sur les colonies de l'ADAPIC en 2011. De plus, l'efficacité insignifiante de ces traitements n'incite guère à prendre de risques concernant leur impact sur les colonies. En dernier lieu, un seul arrêt de ponte a été constaté sur une colonie issue d'un placebo sur l'ADAM.

5. Conclusion générale

Les résultats de ces deux années d'expérimentation menées dans 6 régions sur plus de 100 colonies au total ont montré que les huiles essentielles chémotypées d'anis vert et d'origan d'Espagne appliquées par sirop de nourrissage et par diffuseur n'ont pas révélé une efficacité suffisante contre *Varroa destructor*. La capacité des applications testées à lutter contre cet acarien s'est révélée être nettement inférieure à celle couramment obtenue avec des moyens de lutte actuellement mis sur le marché (à base de tau-fluvalinate, amitraze ou thymol) ou en développement (à base d'acide formique, par exemple).

Lorsque nous avons pu tester l'effet des variables liées aux colonies (taux d'infestation, importance du couvain) ou celles liées à l'application (durée), elles n'ont pas révélé d'influence sur l'efficacité des huiles essentielles. Ainsi, nous n'identifions pas à ce jour de leviers pour améliorer à l'avenir les conditions d'emploi de ces substances.

Enfin, les colonies traitées avec l'huile essentielle issue d'anis vert ont connu les mortalités d'ouvrières les plus élevées lors des deux années. Cette tendance suggérant un effet délétère de l'huile essentielle d'anis vert reste à confirmer avec des effectifs de colonies suivies plus importants.

Le pouvoir varroacide des huiles essentielles d'origan d'Espagne et d'anis vert rapporté en condition de laboratoire n'a pas été confirmé lors de leur application en conditions plus réalistes. Les perspectives nous semblent restreintes pour ces traitements au vu de nos résultats. L'augmentation des quantités d'huiles appliquées pourrait être envisagée à l'avenir, mais leur prix élevé demeure un frein pour l'emploi à grande échelle.